

DOI:10.3971/j.issn.1000-8578.2009.11.009

TPX2 和 Aurora A 在食管鳞癌中的蛋白表达及其临床病理意义

刘红春¹, 刘玉含¹, 李晟磊², 高冬玲², 张 岚², 庞 霞², 郑湘予², 张云汉²

Expression of TPX2 and Aurora A in Esophageal Squamous Carcinoma and Their Significance in Clinical Pathology

LIU Hong-chun¹, LIU Yu-han¹, LI Seng-lei², GAO Dong-ling², ZHANG Lan², PANG Xia², ZHENG Xiang-yu², ZHANG Yun-han²

1. College of Basic Medical Sciences, Zhengzhou University; Department of Medical Laboratory, The First Affiliated Hospital Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, China; 2. Department of Pathology, College of Basic Medical Sciences, Zhengzhou University

Corresponding Author: ZHANG Yun-han, E-mail: yhzhang@zzu.edu.cn

Abstract: Objective To study the expression of TPX2 and Aurora A and their significance in squamous cell carcinoma of the esophageal (SCCE). **Methods** Immunohistochemical staining was used to detect the expressions of TPX2 in 62 cases of esophageal squamous cell carcinoma specimens, 31 cases of adjacent atypical hyperplasia epithelium and 62 cases of normal esophageal epithelium. Reverse transcription-polymerase chain reaction analysis for TPX2 and Aurora A was also performed using tumor tissues from 30 patients with the normal mucos epithelium of esophagus, lesion precancerous and esophageal carcinoma.

Results Immunohistochemical study showed that the expression rates of TPX2 protein increased by normal esophageal epithelium specimens adjacent atypical hyperplasia epithelium and turns in carcinoma, which were 4.8% (3/62), 51.6% (16/31) and 85.5% (53/62) respectively. There was a significant statistic difference among the three groups ($P < 0.05$). The expression of TPX2 protein was very correlated with the histological grade, infiltrative depth and lymphatic metastasis in esophageal squamous cell carcinoma ($P < 0.01$). The expression of TPX2 also correlated with lymph node and infiltration. And there was a significant difference between the experimental groups and control group ($P < 0.01$). The expression rates of Aurora A protein increased by normal esophageal epithelium specimens adjacent atypical hyperplasia epithelium and turns in carcinoma, which were 3.2% (2/62), 45.2% (14/31), 71.0% (44/62) respectively. There was a significant statistic difference among the three groups ($P < 0.01$). The expression of Aurora A protein was correlated with the histological grade, infiltrative depth and lymphatic metastasis in esophageal squamous cell carcinoma ($P < 0.01$). **Conclusion**

Expression of TPX2 and Aurora A may be a risk factor of lymph node in esophageal carcinoma. Combined examining of TPX2 and Aurora A can become one of molecular index in the early diagnosis and for the prognostic judgement of esophageal squamous cell carcinoma.

Key words: Esophageal squamous carcinoma; Immunohistochemical; TPX2; Aurora A

摘要: 目的 探讨 TPX2 在食管鳞癌及其癌前病变中的表达和意义。**方法** 采用 SP 免疫组织化学方法检测 TPX2 和 Aurora A 蛋白在 62 例食管鳞癌、31 例不典型增生组织及 62 例正常食管黏膜中的表达水平。**结果** 免疫组织化学结果显示, TPX2 蛋白在正常黏膜、癌旁不典型增生和癌组织的表达率依次增高, 分别为 4.8% (3/62), 51.6% (16/31) 和 85.5% (53/62), 三组间比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。TPX2 的蛋白表达水平与食管癌的淋巴结转移和浸润深度密切相关, 组间比较差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。Aurora A 蛋白在正常黏膜、癌旁不典型增生和癌组织的表达率依次增高, 分别为 3.2% (2/62), 45.2% (14/31) 和 71.0% (44/62), 三组间比较差异有统计学意义 ($P < 0.01$), 且表达水平与食管癌的组织学分期、浸润和转移相关。**结论** TPX2、Aurora A 基因蛋白的表达可能是食管鳞癌淋巴结转移的危险因素, 两者的联合检测可望成为食管鳞癌的早期诊断指标, 是判断预后的指标之一。

关键词: 食管鳞癌; 免疫组织化学; TPX2; Aurora A

中图分类号: R735.1 **文献标识码:** A

文章编号: 1000-8578(2009)11-0932-04

收稿日期: 2008-05-30; **修回日期:** 2008-12-09

作者单位: 1. 450052 郑州大学第一附属医院检验科
郑州大学基础医学院; 2. 郑州大学基础医学院病理教研室

通信作者: 张云汉, E-mail: yhzhang@zzu.edu.cn

作者简介: 刘红春 (1963-), 女, 博士在读, 教授, 主要从事肿瘤病理研究

0 引言

TPX2 是一个受细胞周期严格调控的核增殖蛋白,参与细胞有丝分裂的纺锤体微管功能^[1-2]。Aurora A 是一个与中心体相关的癌基因,主要参与细胞有丝分裂的调控,TPX2 是 Aurora A 靶向到纺锤体装置所必需的。而 Aurora A 可能调控纺锤体装配中 TPX2 的功能,TPX2、Aurora A 高表达与异倍体和基因组的不稳定密切相关,有证据表明 TPX2、Aurora A 的过表达可以使细胞向恶性转化^[3-4]。但有关 TPX2 在食管鳞癌组织中的表达研究迄今尚未见到报道。为了探讨 TPX2 和 Aurora A 在食管鳞癌发生发展过程中的变化及其与临床病理特征的关系,本研究采用免疫组织化学方法对 62 例食管鳞癌组织、31 例癌旁不典型增生及 62 例正常食管黏膜组织中 TPX2、Aurora A 蛋白表达情况进行检测,以期探讨 TPX2 和 Aurora A 在食管鳞癌发生发展中的作用及其意义。

1 资料和方法

1.1 临床资料

收集 2006 年 2 月~2006 年 3 月安阳市肿瘤医院食管癌新鲜手术切除标本 62 例,所有病例术前均无化疗、放疗及免疫治疗史。其中男 36 例,女 26 例,年龄 38~74 岁,平均年龄(60.6±9.5)岁。全部病例经病理证实均为鳞状细胞癌。其中组织学分级 I 级 15 例,II 级 25 例,III 级 22 例;伴淋巴结转移者 20 例,无淋巴结转移者 42 例。浸润深度分三组,浸达浅肌层者 7 例,浸达深肌层者 14 例,浸达纤维膜者 41 例。全部样品分别在癌灶、癌旁 3 cm 以内及远端正常黏膜组织三处取材,癌旁样品经病理证实 31 例为中-重度不典型增生。全部样品均经 40 g/L 多聚甲醛液固定,常规组织脱水、石蜡包埋,4~6 μm 连续切片。用于免疫组织化学染色。

1.2 试剂

TPX2 兔抗人多克隆抗体,由德国 Mattaj Lab. Ulrike Bauer 馈赠。Aurora A 单克隆抗体为 Santa Cruz 公司产品,SP 免疫组织化学试剂盒购于北京中山生物技术有限公司。TPX2 与 Aurora A 抗体

稀释倍数分别为 1:500 和 1:100,DAB 显色,苏木精复染。用已知 TPX2 和 Aurora A 阳性的宫颈癌做阳性对照,用 PBS 代替一抗作阴性对照。

1.3 TPX2、Aurora A 蛋白的免疫组织化学染色及其结果判定

采用 SP 法,TPX2 抗体稀释度为 1:500,TPX2 阳性细胞定位于细胞核,呈棕黄色颗粒。其染色强度评定标准以阳性细胞核占全部细胞核的百分率界定,无核染色为-;核染色≤10%为+,11%~30%为++,31%~50%为+++,>50%为++++;>10%(++以上)被判为阳性表达。Aurora A 阳性表现为胞质中出现棕黄色颗粒。随机选取 4 个高倍视野,每个视野计数 200 个细胞,阳性细胞≤0 为-,<25%为±,25%~50%为+,>50%为++。

1.4 统计学方法

应用 SPSS 11.0 统计学软件行 χ^2 检验,检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 TPX2、Aurora A 蛋白在食管鳞癌、癌旁不典型增生及正常食管黏膜的表达

TPX2 阳性物质位于细胞核内,呈棕黄色颗粒见图 1;TPX2 在正常食管黏膜、癌前不典型增生及食管鳞癌中的表达率依次增高。组间比较差异有统计学意义($P<0.01$),见表 1。Aurora A 阳性物质定位于细胞质内,呈棕黄色颗粒。阳性细胞多分布在细胞增生活跃处。Aurora A 在正常食管黏膜、癌前不典型增生及食管鳞癌中表达率也依次增高,见图 2、表 1。

2.2 TPX2、Aurora A 蛋白表达与食管鳞癌临床病理学参数的关系

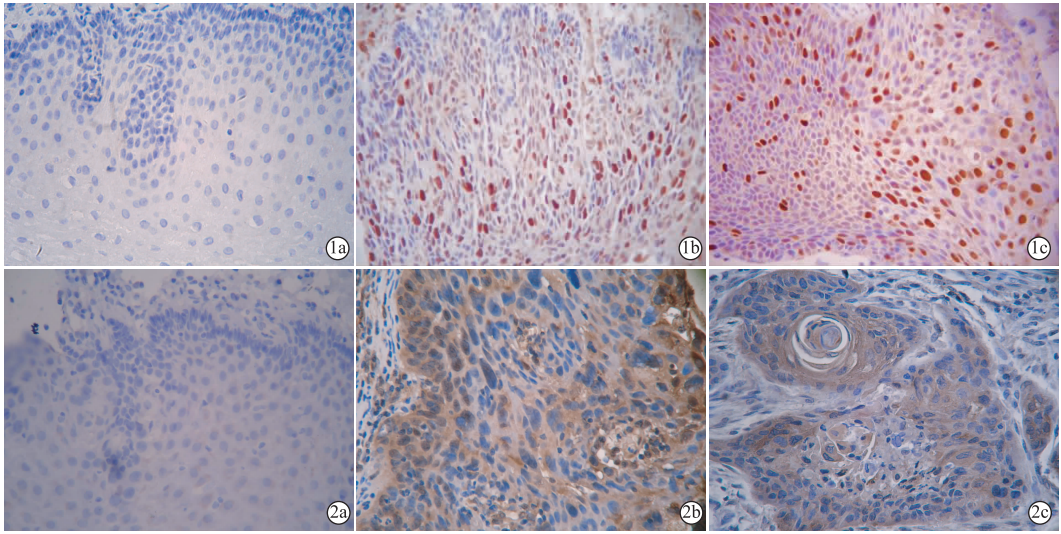
TPX2、Aurora A 蛋白表达与食管鳞癌临床病理学参数的关系,见表 2。

表 2 显示,TPX2 的阳性率与病理组织学分级关系不密切, $P>0.05$;而 Aurora A 的表达随着食管癌分化程度的降低而升高,在低分化鳞癌中明显高于高分化鳞癌($P<0.05$);伴有淋巴结转移的食管癌 TPX2 和 Aurora A 的阳性率明显高于无转移

表 1 食管鳞癌组织、不典型增生组织及正常黏膜组织中 TPX2、Aurora A 的蛋白表达

Table 1 Expressions of TPX2 and Aurora A proteins in the esophageal squamous cell carcinoma, atypical hyperplasia and normal esophageal epithelium

Item	n	TPX2 protein		Positive rate	P	Aurora A protein		Positive rate	P
		-	+			-	+		
Normal esophageal epithelium	62	59	3	4.8%		60	2	3.2%	
Atypical hyperplasia	31	15	16	51.6%	<0.01	17	14	45.2%	<0.01
Esophageal squamouscell carcinoma	62	9	53	85.5%		18	44	71.0%	



Expression of TPX2 in the normal esophageal epithelium (1a); in atypical hyperplasia (1b); in esophageal squamous cell carcinoma (1c); Expression of Aurora A in the normal Esophageal epithelium (2a); in atypical hyperplasia (2b); in esophageal squamous cell carcinoma (2c)

图 1 TPX2 在 3 组不同食管组织中的蛋白表达 (SP×200) 图 2 Aurora A 在 3 组食管样品中的蛋白表达 (SP×200)

Figure 1 Expression of TPX2 protein in three different esophageal groups (SP×200)

Figure 2 Expression of Aurora A protein in three different esophageal groups (SP×200)

表 2 TPX2 和 Aurora A 蛋白表达与食管鳞癌临床病理学参数的关系

Table 2 Relationship between the expressions of TPX2 and Aurora A proteins and clinicopathological characteristic of esophageal squamous cell carcinoma

	n	TPX2			χ^2	P	Aurora A			χ^2	P
		Negative example	Positive example	Positive ratio			Negative positive	Positive example	Positive ratio		
Grade											
Well-differentiated	15	8	7	46.7%	0.529	0.768	6	9	60.0%	8.12	0.017
Moderately differentiated	25	16	9	36.0%			10	16	64.0%		
Poorly differentiated	22	22	8	36.4%			1	21	95.5%		
Infiltration depth					18.500	0.002				23.82	0.001
Fibrous tunic	41	5	36	87.8%			6	35	85.4%		
Superficial muscular layer	7	6	1	14.3%			3	4	57.1%		
Deepmuscular layer	14	3	11	78.6%				12	2	14.3%	
Lymph node metastasis					5.526	0.019				8.403	0.004
Positive	20	7	13	65.0%			6	14	70.0%		
Negative	42	28	14	33.3%				29	13	30.9%	

组, ($P < 0.05$); TPX2、Aurora A 的表达与肿瘤浸润深度有密切关系 ($P < 0.01$)。

2.3 TPX2、Aurora A 蛋白表达的相关性分析

表 3 显示, 食管鳞癌组织中 TPX2、Aurora A 蛋白表达呈正相关关系。

3 讨论

TPX2 基因为一个分子量为 100kD 的核增殖相关蛋白, 位于人类染色体 20q 11.2, 其表达受细胞周期的严格调控, 只在 $G_1 \sim S$ 交界期可被检测到, 在细胞分裂完成后消失。在 S 和 G_2 期, 人 TPX2 分

表 3 食管鳞癌组织中 TPX2 和 Aurora A 蛋白表达的相关性分析

Table 3 The correlation between expressions of TPX2 and Aurora A proteins in esophageal squamous cell carcinoma

TPX2	Aurora A		Total	γ	P
	Positive	Negative			
Positive	42	11	53	0.043	0.001
Negative	2	7	9		
Total	44	18	62		

布在细胞核, 而在分裂期细胞其与有丝分裂的纺锤体紧密结合, 使动力蛋白 XkIp2 靶向附着于纺锤体

微管,从而保证正常的纺锤体极性^[5-6]。TPX2 在人体组织,特别是肿瘤中的过表达导致了中心体扩增,异倍体形成,提示过量的 TPX2 可能抑制正常核分裂的完成并干扰其自身激活的生理途径,因此,TPX2 的异常表达可能在癌变和恶性肿瘤进展中发挥作用。

Aurora A 是新近发现与肿瘤发生相关的癌基因。它是调解中心体、微管功能的丝/苏氨酸激酶,在中心体调节、纺锤体形成、染色体分离、胞质分裂及有丝分裂的正常进行中发挥至关重要的作用。Aurora A 参与 G₂~M 期的监测点调控,当 Aurora A 过表达将会影响 DNA 损伤所诱导的 G₂~M 期监测点的活化。它的过表达可以使有丝分裂纺锤体监测点失控,引起中心体扩增,染色体的不稳定,非整倍体的形成导致肿瘤的发生^[7]。目前的研究表明 Aurora A 在众多肿瘤中存在 DNA 扩增, RNA 基因蛋白水平增高^[8-10],且与肿瘤恶性程度(临床分期、侵袭、转移)相关^[11]。

有学者采用免疫组织化学技术对乳腺癌、肺癌、子宫内膜癌、神经母细胞瘤的组织切片进行了研究,结果提示病变中的 TPX2 的表达对疾病生物学行为有预测价值,并可作为形态学改变和预后评价指标^[12-14]。本研究用免疫组织化学法通过对食管鳞癌组织样品进行 TPX2、Aurora A 分析,结果显示:TPX2、Aurora A 蛋白表达水平在食管癌发展过程中呈增加趋势,且二者在食管鳞癌组织中的蛋白表达呈正相关关系,在肿瘤组织中明显高于正常组织中,癌前病变开始呈现高表达,正常食管黏膜呈低水平表达。TPX、Aurora A 的表达在非典型增生和浸润癌中的表达与正常黏膜上皮的表达相比差异有统计学意义,提示 TPX2、Aurora A 过表达可能是食管鳞癌发生发展过程中的早期事件;TPX2、Aurora A 表达与癌的浸润深度和淋巴结转移显著相关。提示 TPX2、Aurora A 过表达对食管鳞癌患者预后的判断有重要参考价值,可作为判断预后的一项指标,有利于我们进一步地了解食管癌的生物行为,为食管癌的早期诊断和治疗提供一个新的途径。

参考文献:

- [1] Wittmann T, Wilm M, Karsenti E, et al. TPX2, a novel xenopus MAP involved in spindle pole organization [J]. *J Cell Biol*, 2000, 149(7): 1405-1418.
- [2] Trioseimann N, Armstrong S, Rauw J, et al. Ran modulates spindle assembly by regulating a subset of TPX2 and Kid activities including Aurora - A activation [J]. *J Cell Sci*, 2003, 116 (Pt23): 4791-4798.
- [3] Tong T, Zhong R, Kong J, et al. Overexpression of Aurora-A contributes to malignant development of human esophageal squamous cell carcinoma [J]. *Clin Cancer Res*, 2004, 10(21): 7304-7310.
- [4] 钟亚莉, 童彤, 王晓霞, 等. Aurora-A 高表达对人食管癌细胞生物学性状影响 [J]. *河南肿瘤学杂志*, 2005, 18(2): 77-79.
- [5] Kufer TA, Sillje HH, Korner R, et al. Human TPX2 is required for targeting Aurora-A kinase to the spindle [J]. *J Cell Biol*, 2002, 158(4): 617-623.
- [6] Gruss OJ, Wittmann M, Yokoyama H, et al. Chromosome-induced microtubule assembly mediated by TPX2 is required for spindle formation in HeLa cells [J]. *Nat Cell Biol*, 2002, 4(11): 871-879.
- [7] Okamura H, Katabuchi H. Pathophysiological dynamics of human ovarian surface epithelial cells in epithelial ovarian carcinogenesis [J]. *Int Rev Cytol*, 2005, 242: 1-54.
- [8] Jeng YM, Peng SY, Lin CY, et al. Overexpression and amplification of Aurora-A in hepatocellular carcinoma [J]. *Clin Cancer Res*, 2004, 10(6): 2065-2071.
- [9] Li D, Zhu J, Firozi PF, et al. Overexpression of oncogenic STK15P BTAK/Aurora A kinase in human pancreatic cancer [J]. *Clin Cancer Res*, 2003, 9(3): 991-997.
- [10] Gritsko TM, Coppola D, Paciga JE, et al. Activation and overexpression of centrosome kinase BTAK/Aurora-A in human ovarian cancer [J]. *Clin Cancer Res*, 2003, 9(4): 1420-1429.
- [11] Sen S, Zhou H, Zhang RD, et al. Amplification/overexpression of a Mitotic kinase gene in human bladder cancer [J]. *J Nat Cancer Inst*, 2002, 94 (17): 1320-1329.
- [12] Rudolph P, Alm P, Olsson H, et al. Concurrent overexpression of p53 and c-erbB-2 correlates with accelerated cycling and concomitant poor prognosis in node-negative breast cancer [J]. *J Clin Oncol*, 2001, 32(3): 311-319.
- [13] Krams M, Heidebrecht HJ, Hero B, et al. Repp86 expression and outcome in patients with neuroblastoma [J]. *J Clin Oncol*, 2003, 21(9): 1810-1818.
- [14] Ma Y, Lin D, Sun W, et al. Expression of targeting protein for xklp2 associated with both malignant transformation of respiratory epithelium and progression of squamous cell lung cancer [J]. *J Clin Cancer Res*, 2006, 12(4): 1121-1127.

[编辑:刘红武;校对:黄园玲]