

研究论文

过表达TPX2对人宫颈癌Hela细胞增殖和周期的影响及机制

常海平* 杨彩荣 宋淑芳 任杰 郑健 张龙

(内蒙古医科大学附属医院妇产科, 呼和浩特 010050)

摘要 该文的目的是研究过表达Xklp2靶蛋白(targeting protein for Xklp2, TPX2)对人宫颈癌Hela细胞体外增殖和细胞周期的影响及相关机制。构建TPX2过表达慢病毒载体(LV11-TPX2)及阴性对照(LV11-NC), 选取稳定感染过表达慢病毒载体(LV11-TPX2)的Hela细胞作为实验组, 将稳定感染(LV11-NC)的Hela细胞作为阴性对照组。未感染病毒的人宫颈癌Hela细胞作为空白对照组(CON)。CCK-8法及克隆形成实验检测各组Hela细胞体外增殖能力, FCM法检测各组Hela细胞的细胞周期分布变化。Western blot检测TPX2通路中Aurora A、eg5、P53蛋白质及增殖和细胞周期相关蛋白Ki67、CyclinB2、PCNA的水平。结果显示: 与空白对照组及阴性对照组比较, LV11-TPX2感染组Hela细胞增殖能力明显增强($P < 0.05$); LV11-TPX2组形成的克隆数目明显多于阴性对照组及空白对照组($P < 0.05$)。LV11-TPX2组S期及G₂/M期细胞所占比例明显增加($P < 0.05$)。LV11-TPX2感染组Hela细胞中Aurora A、eg5、Ki67、CyclinB2、PCNA蛋白质水平明显上调($P < 0.05$), P53蛋白质明显下调($P < 0.05$)。以上结果表明, TPX2基因过表达能促进宫颈癌细胞的增殖, S期及G₂/M期细胞所占比例明显增加, 可能与其下调P53蛋白质水平及上调Aurora A、eg5、Ki67、CyclinB2、PCNA蛋白水平有关。

关键词 宫颈癌; TPX2; 过表达; 细胞增殖; 细胞周期

The Effect of Overexpression of TPX2 Gene on Proliferation and Cell Cycle in Human Cervical Cancer Hela Cells and Its Mechanism

Chang Haiping*, Yang Cairong, Song Shufang, Ren Jie, Zheng Jian, Zhang Long

(The Department of Obstetrics and Gynecology, the Affiliated Hospital of Inner Mongolia Medical College, Hohhot 010050, China)

Abstract This article aimed to investigate the effects of TPX2 overexpression on proliferation and cell cycle of cervical cancer Hela cells, and explore its possible mechanism. Lentiviral vectors carrying TPX2 was successfully constructed. Hela cells were stably infected Lentiviral vectors (LV11-TPX2) as the experimental group. Hela cells were stably infected Lentiviral vectors (LV11-NC) as negative control group. Hela cells non-infected Lentiviral vectors as the blank control group (CON). The proliferation and cell cycle distribution were determined by CCK-8 and colony formation assay and FCM, respectively. The levels of Aurora A, eg5, P53, Ki67,

收稿日期: 2017-10-09 接受日期: 2017-12-19

国家自然科学基金(批准号: 81360385)资助的课题

*通讯作者。Tel: 0471-6636648, E-mail: haipingchang@163.com

Received: October 9, 2017 Accepted: December 19, 2017

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.81360385)

*Corresponding author. Tel: +86-471-6636648, E-mail: haipingchang@163.com

网络出版时间: 2018-01-31 18:10:54

URL: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20180131.1810.002.html>

CyclinB2 and PCNA proteins were detected by Western blot. The result showed that compared with blank control group and negative control group, the proliferative ability of HeLa cells in LV11-TPX2 group detected by CCK-8 was significantly increased (both, $P < 0.05$), and the number of clones in LV11-TPX2 group is more than that in negative control group and blank control group detected by colony formation assay (both, $P < 0.05$). The percentages of G₂ and S phase cells are significantly increased in LV11-TPX2 group detected by FCM (both, $P < 0.05$). The level of P53 was down-regulated. The levels of Aurora A, eg5, Ki67, CyclinB2 and PCNA were up-regulated in LV11-TPX2 group detected by Western blot (all, $P < 0.05$). In conclusion, overexpression *TPX2* gene can promote the proliferation of cervical cancer cells, increase the percentage of G₂ and S phase cells in the cell cycle, which may be related to down-regulation of P53 protein level and up-regulation Aurora A, eg5, Ki67, CyclinB2, PCNA protein levels in HeLa cells.

Keywords cervical cancer; TPX2; overexpression; cell proliferation; cell cycle

Xklp2靶蛋白(targeting protein for Xklp2, TPX2)是一种受细胞周期严格调控的微管相关蛋白,对细胞有丝分裂过程中纺锤体的形成及稳定性的维持具有极其重要作用^[1]。TPX2的异常表达可干扰细胞有丝分裂、降低染色体的稳定性,进而影响细胞凋亡及细胞周期调控机制,导致细胞中心体扩增、DNA异倍体及多倍体的形成,最终使细胞异常增殖及恶性转化,引起肿瘤的形成及转移。体内外实验证实,TPX2的表达异常与人类恶性肿瘤的发生发展密切相关^[2]。本课题组前期研究证实,TPX2在宫颈癌细胞中表达水平的改变可影响宫颈癌细胞的功能^[3]。为进一步研究TPX2在宫颈癌发生发展中的作用,本研究前期实验构建了TPX2基因慢病毒表达质粒,并筛选出TPX2基因过表达的人宫颈癌Hela细胞稳定细胞株^[4],以此来探讨过表达TPX2对人宫颈癌Hela细胞体外增殖和细胞周期的影响及相关机制,为深入研究TPX2基因对宫颈癌细胞的作用及相关机制奠定基础。

1 材料与方 法

1.1 主要试剂及细胞

DMEM培养液购自美国Gibco公司;胰蛋白酶、胎牛血清购自美国Hyclone公司;CCK-8试剂盒购自日本同仁化学研究所;碘化丙啶(PI)染色试剂盒购自美国BD公司;RIPA裂解液和BCA蛋白质检测试剂盒均购自美国Abcam公司;HRP-conjugated goat anti-Rabbit IgG购自美国Jackson公司; β -actin、Aurora A、eg5、P53、Ki67、CyclinB2、PCNA抗体均购自Abcam公司;PVDF Transfer Membrane购自美国Millipore公司;人宫颈癌Hela细胞株为本实验室保存。

1.2 TPX2基因过表达慢病毒载体的构建及实验分组

设计并合成TPX2基因的上下游引物,PCR方法得到TPX2序列片段,将扩增回收好的含目的基因的片段重组克隆到线性化的慢病毒穿梭质粒LV11中,将构成的质粒转化DH5 α 感受态细胞,提取阳性克隆质粒进行酶切鉴定及测序。酶切及测序结果显示正确后,将重组质粒及辅助质粒转染293T细胞进行病毒包装,检测其滴度。将成功包装的过表达慢病毒载体(LV11-TPX2)及阴性对照(LV11-NC)分别感染人宫颈癌细胞Hela, G418筛选得到TPX2基因过表达稳转细胞株。实时荧光定量PCR和Western blot分别检测TPX2 mRNA和蛋白质水平^[4]。选取稳定感染过表达慢病毒载体(LV11-TPX2)并有效过表达TPX2的Hela细胞作为实验组,将稳定感染LV11-NC的Hela细胞为阴性对照组。未感染病毒的人宫颈癌Hela细胞作为空白对照组(CON)。将上述三种细胞用含10%胎牛血清的DMEM培养基,置于37 °C、5% CO₂及饱和湿度的细胞培养箱中培养。当细胞汇合度约为70%时,用0.25%胰蛋白酶消化并传代。

1.3 CCK-8法检测各组Hela细胞的增殖情况

将空白对照组(CON)、阴性对照组(LV11-NC)及过表达组(LV11-TPX2)细胞分别接种于96孔板中,每组设置5个复孔,同时设置调零孔(仅加培养液)。第2 d移除培养液,用PBS漂洗后,加入100 μ L完全培养基,再向各孔避光加入CCK-8试剂10 μ L, 37 °C、5% CO₂避光培养1 h,酶标仪450 nm波长测其吸光度(D)值,得到0 h数据。将各孔以100 μ L新鲜的培养基换液,37 °C、5% CO₂培养,培养至24、48、72、96 h,加入CCK-8试剂10 μ L, 37 °C、5% CO₂避光培养1 h,

酶标仪450 nm波长测其吸光度(D)值, 得到24、48、72、96 h的 D 值。以时间为横坐标, D 值为纵坐标, 绘制细胞生长曲线。

1.4 克隆形成实验检测各组Hela细胞的克隆形成情况

各组Hela细胞接种6孔板, 混匀后于37 °C、5% CO₂的培养箱中培养72 h, 将6孔板中各组细胞吸弃培养液, 用PBS漂洗细胞2次。加入胰蛋白酶-EDTA, 在孔内铺展均匀后, 小心吸去胰蛋白酶溶液, 37 °C放置1~2 min。再向各孔加入2 mL含5% FBS的DMEM培养液, 吹打使细胞形成单细胞悬液。血球计数板计数, 并每组取约500个细胞种入6 cm培养皿中。用5% FBS的DMEM培养液向6 cm皿中补足至3 mL, 并将培养皿放在37 °C、5% CO₂的培养箱中培养10 d。吸弃各组培养基, 用PBS漂洗3次。移入4%多聚甲醛2 mL/皿, 室温固定20 min; 去固定液, 待培养皿自然风干; 再向培养皿中加入结晶紫染液, 作用30 min; PBS清洗2次后拍照计数各组克隆形成情况。

1.5 FCM法检测各组Hela细胞的细胞周期分布情况

运用流式细胞术(flow cytometry, FCM)检测各组Hela细胞的细胞周期分布情况。将各组细胞培养72 h后, 常规胰蛋白酶消化, 完全培养基终止消化并离心收集, PBS清洗1次, 1×Buffer A洗1次, 收集并调整细胞浓度至 1×10^6 /mL。细胞固定: 加入细胞9倍体积的70%乙醇, 于-20 °C固定至少12 h。细胞标记: 离心收集细胞, 用1×Buffer A洗细胞除去乙醇, 再将细胞重悬于500 μ L 1×Buffer A中; 向细胞悬液中加入RNase A, 使其终浓度为0.25 mg/mL, 于37 °C反应30 min, 加入5 μ L PI工作液, 室温避光染色30 min。转至流式检测管, 上机检测, PI用488 nm氩离子激光器激发, 由630带通滤光片接收, 通过FSC/SSC散点图收集细胞, 采用设门技术排除黏连细胞和碎片。最后利用Flowjo软件处理, 得到细胞周期各期的比例结果。

1.6 Western blot检测TPX2通路中相关蛋白质Aurora A、eg5、P53及增殖和周期相关蛋白质Ki67、CyclinB2、PCNA的水平

向收集的各组细胞沉淀中加入细胞裂解液, 10 000 r/min离心10 min。取30 μ L上清, 加入10 μ L 4×SDS loading buffer, 100 °C加热处理10 min。12 000 r/min离心1 min, 取上清上样。BCA蛋白质试剂盒测

定样品蛋白质含量。样品使用8% SDS-PAGE分离, 每孔上样量为20 μ L。电泳条件为: 80 V 30 min, 120 V 70 min。转膜至PVDF膜, 电压为80 V, 用时90 min。Blocking buffer封闭转印膜1 h。加入稀释好的一抗, 4 °C孵育过夜。用1×PBST洗涤3次, 每次10 min。加入稀释好的二抗, 室温孵育1 h。用1×PBST洗涤3次, 每次10 min。用ECL底物进行化学发光检测, 并对X光片曝光。经显影定影处理后, 胶片用扫描仪扫描, 并使用Gel-Pro analyzer软件进行灰度分析定量。

1.7 统计学分析

应用SPSS 15.0软件进行统计学分析, 实验数据均采用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示, 组间比较采用One-Way ANOVA分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 LV11-TPX2感染Hela细胞后TPX2基因mRNA和蛋白质水平

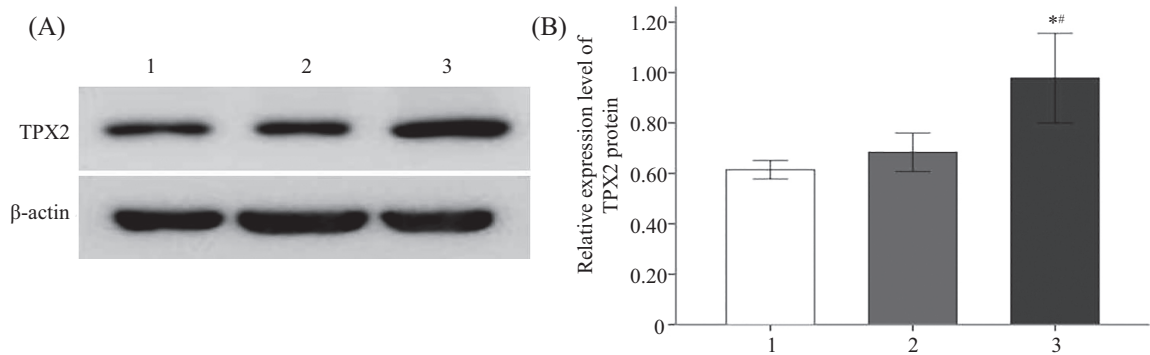
荧光定量PCR检测结果表明, 空白对照组(CON)、阴性对照组(LV11-NC)及实验组(LV11-TPX2)感染组Hela细胞中TPX2基因mRNA水平分别为 1.00 ± 0.01 、 1.05 ± 0.02 及 2.92 ± 0.25 。空白对照组与阴性对照组比较, 差异无统计学意义($P > 0.05$), LV11-TPX2感染组明显高于空白对照组及阴性对照组($P < 0.05$)。Western blot结果显示, 空白对照组、阴性对照组及LV11-TPX2感染组Hela细胞中TPX2蛋白质水平分别为 0.61 ± 0.03 、 0.68 ± 0.07 及 0.98 ± 0.15 。空白对照组与阴性对照组比较, 差异无统计学意义($P > 0.05$)。LV11-TPX2感染组明显高于空白对照组及阴性对照组($P < 0.05$, 图1)^[4]。

2.2 TPX2基因过表达可促进人宫颈癌Hela细胞增殖

应用CCK-8法测定空白对照组(CON)、阴性对照组(LV11-NC)及实验组(LV11-TPX2)细胞的增殖情况。结果显示, 实验组(LV11-TPX2)细胞的 D 值明显高于阴性对照组(LV11-NC)及空白对照组(CON)细胞($P < 0.05$); 阴性对照组(LV-NC)和空白对照组(CON)组间比较无统计学差异($P > 0.05$, 图2)。以上结果表明, 重组慢病毒LV11-NC感染Hela细胞可促进细胞增殖。

2.3 TPX2基因过表达对Hela细胞克隆形成能力的影响

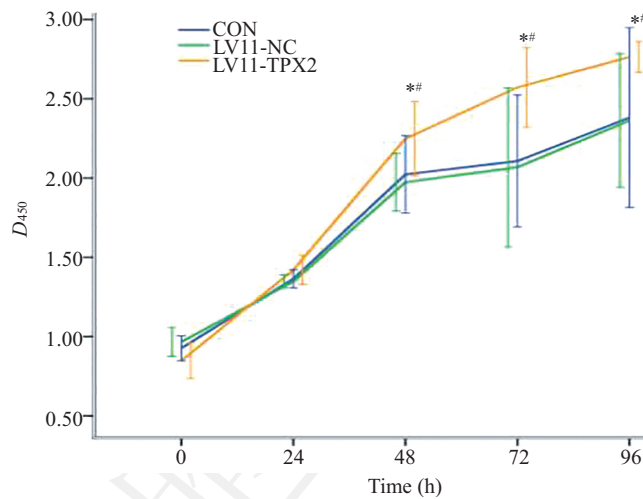
应用克隆形成实验测定空白对照组(CON)、阴



A: Western blot检测TPX2的表达; B: TPX2蛋白的相对表达水平。1: 空白对照组; 2: 阴性对照组; 3: 过表达组; * $P < 0.05$, 与1相比较, # $P < 0.05$, 与2相比较。
A: the expression of TPX2 detected by Western blot; B: relative expression level of TPX2 protein. 1: CON group; 2: LV11-NC group; 3: LV11-TPX2 group. * $P < 0.05$ vs 1, # $P < 0.05$ vs 2.

图1 Western blot检测各组HeLa细胞中TPX2蛋白质水平

Fig.1 The level of TPX2 protein in HeLa cells detected by Western blot



* $P < 0.05$, 与空白对照组相比较; # $P < 0.05$, 与阴性对照组相比较。

* $P < 0.05$ vs CON group; # $P < 0.05$ vs LV11-NC group.

图2 LV11-TPX2对HeLa细胞生长的影响

Fig.2 Effect of LV11-TPX2 on the growth of HeLa cells

性对照组(LV11-NC)及实验组(LV11-TPX2)的克隆形成数目。结果显示, 实验组(LV11-TPX2)克隆形成数目为(485.33±23.71), 多于阴性对照组(LV11-NC)(384.0±34.87)及空白对照组(CON)(401.33±53.71) ($P < 0.05$), 空白对照组(CON)与阴性对照组(LV11-NC)比较无统计学差异($P > 0.05$, 图3)。

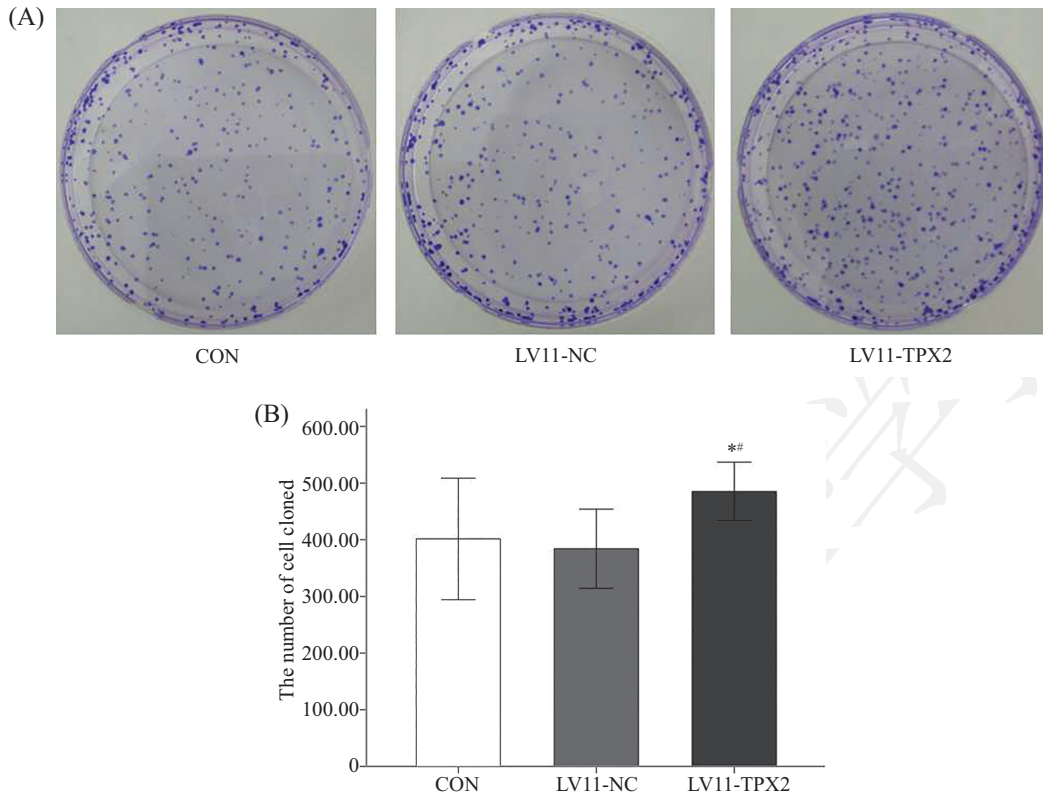
2.4 LV11-TPX2重组慢病毒对HeLa细胞周期分布的影响

应用FCM法测定空白对照组(CON)、阴性对照组(LV11-NC)及实验组(LV11-TPX2)的细胞周期分布情况。结果显示, 实验组(LV11-TPX2)细胞的S期细胞所占比例明显多于阴性对照组(LV11-NC)及空白对照组(CON) ($P < 0.05$), G_2/M 期所占百分比也高于于阴性对照组(LV11-NC)及空白对照组(CON)

($P < 0.05$), G_0/G_1 期所占百分比明显低于于阴性对照组(LV11-NC)及空白对照组(CON) ($P < 0.05$), 空白对照组(CON)与阴性对照组(LV11-NC)的细胞周期分布比较无统计学差异($P > 0.05$)(图4和表1)。

2.5 Western blot检测TPX2通路中相关蛋白Aurora A、eg5、P53及增殖和周期相关蛋白Ki67、CyclinB2、PCNA的表达

Western blot检测空白对照组(CON)、阴性对照组(LV11-NC)及实验组(LV11-TPX2)细胞中各蛋白质水平。结果显示, 实验组(LV11-TPX2)细胞中P53水平明显低于对照组, 差异有统计学意义($P < 0.05$); 实验组(LV11-TPX2)细胞中Aurora A、eg5、Ki67、CyclinB2、PCNA水平明显高于对照组, 差异有统计学意义($P < 0.05$, 图5)。



A: 克隆形成实验检测各组细胞形成的克隆数; B: 克隆形成实验的统计图; * $P < 0.05$, 与空白对照组相比较; # $P < 0.05$, 与阴性对照组相比较。

A: the number of clones in each group was detected by colony formation assay; B: the statistical graph of colony formation assay; * $P < 0.05$ vs CON group; # $P < 0.05$ vs LV11-NC group.

图3 克隆形成实验检测TPX2对HeLa细胞增殖的影响

Fig.3 Effect of TPX2 on the growth of HeLa cells detected by colony formation assay

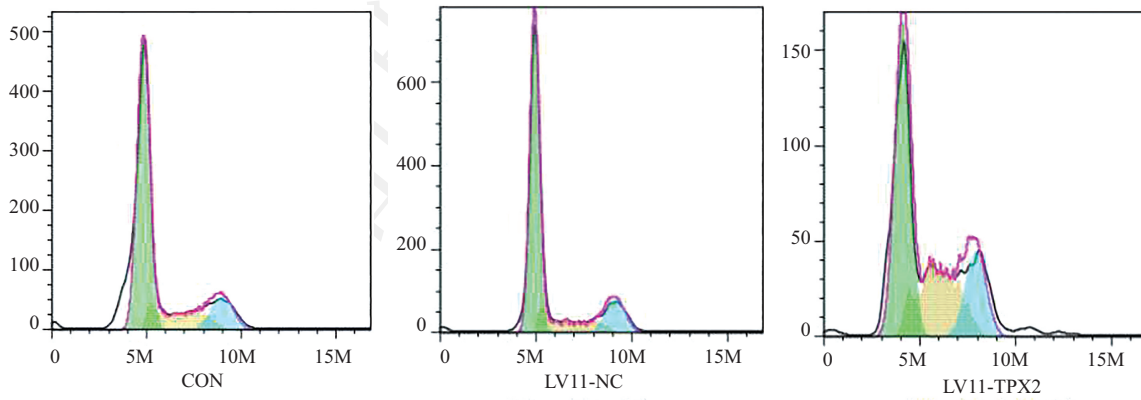


图4 流式细胞术检测LV11-TPX2对HeLa细胞周期的影响

Fig.4 Effect of LV11-TPX2 on cell cycle distribution in HeLa cells detected by FCM

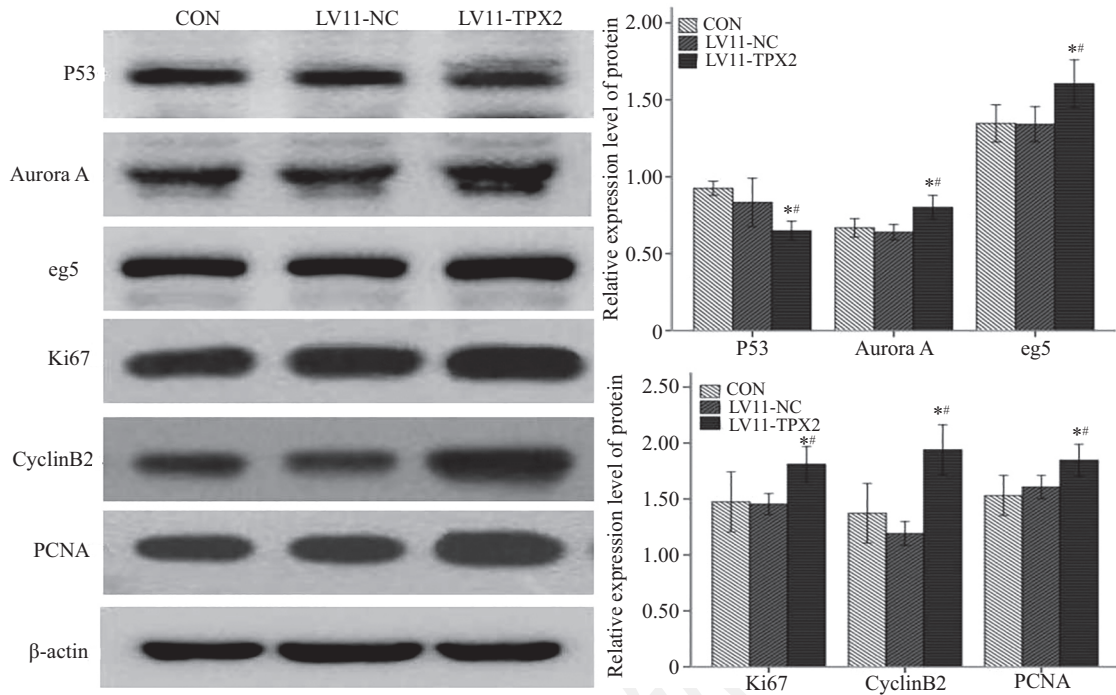
表1 流式细胞术检测细胞周期分布结果

Table 1 The results of cell cycle distribution detected by FCM

组别 Group	G ₀ /G ₁ (%)	G ₂ /M (%)	S (%)
CON	64.45±0.75	15.29±0.05	18.00±1.45
LV11-NC	65.48±2.08	14.51±0.73	17.29±1.13
LV11-TPX2	51.43±0.78 [#]	17.87±0.47 [#]	30.84±1.00 [#]

* $P < 0.05$, 与空白对照组相比较; # $P < 0.05$, 与阴性对照组相比较。

* $P < 0.05$ vs CON group; # $P < 0.05$ vs LV11-NC group.



* $P < 0.05$, 与空白对照组相比较; # $P < 0.05$, 与阴性对照组相比较。

* $P < 0.05$ vs CON group, # $P < 0.05$ vs LV11-NC group.

图5 各组Hela细胞中TPX2相关蛋白质水平

Fig.5 The levels of proteins associated with TPX2 in HeLa cells in each group

3 讨论

TPX2 现已被公认是一种癌基因, 定位于人类染色体20q11.2, *TPX2* 蛋白是一种受细胞周期严格调控的微管相关蛋白质, 对细胞有丝分裂过程中纺锤体的形成及稳定性的维持具有极其重要的作用^[1]。在分裂期, 细胞与有丝分裂的纺锤体密切结合, 使动力蛋白Xklp2靶向附着于纺锤体微管, 从而保证正常的纺锤体极性^[5]。最近有研究证实, *TPX2* 基因的异常表达与人类许多恶性肿瘤的发生、发展关系密切。研究者们发现, 它在食管癌、胃癌、宫颈癌、胰腺癌、乳腺癌、子宫内膜癌及膀胱癌等多种肿瘤中都存在异常表达现象, 其表达强度与肿瘤的恶性程度相关^[6-12]。*TPX2* 致肿瘤发生的机制可能是其参与了DNA异常损伤反应及有丝分裂纺锤体缺陷^[2]。目前对*TPX2* 的研究仅局限于在它对细胞功能的影响, 对其作用机制的探究较少。为深入揭示*TPX2* 在宫颈癌中的发病机制, 甚至希望通过调节*TPX2* 基因表达水平来达到治疗宫颈癌的目的, 就必须进一步深入研究*TPX2* 在宫颈癌中的分子调控机制。

本研究为了探讨*TPX2* 对宫颈癌细胞增殖、周期的影响, 首先构建了人*TPX2* 基因慢病毒表达载体, 感染人宫颈癌Hela细胞并筛选出*TPX2* 基因过

表达的人宫颈癌Hela细胞稳转细胞株^[4]。选取稳定感染过表达慢病毒载体(LV11-TPX2)并有效过表达*TPX2* 的Hela细胞作为实验组, 将稳定感染过表达慢病毒载体(LV11-NC)的Hela细胞作为阴性对照组。未感染病毒的人宫颈癌Hela细胞作为空白对照组(CON)。CCK-8法测定细胞生长曲线和克隆形成实验均说明, *TPX2* 基因过表达对宫颈癌Hela细胞的增殖能力有一定促进作用。流式细胞术检测发现, 实验组细胞S期及G₂/M期细胞所占比例明显高于未感染组及阴性对照组, 这进一步说明*TPX2* 蛋白是一个周期相关蛋白, 其表达的增加可能影响其细胞周期分布, 使S期及G₂/M细胞增加并且细胞增殖更加活跃。与*TPX2* 基因类似, 人类*Ki67* 基因的表达也随细胞周期而改变, 其表达规律与*TPX2* 基因具有一定的相似性。*Ki67* 可以很好地反映宫颈癌细胞的增殖情况^[11]。本研究发现, 在宫颈癌Hela细胞过表达*TPX2* 后, *Ki67* 的表达也随之增加, 推测*TPX2* 在宫颈癌中可能与*Ki67* 扮演着相同的角色, 或者说它们在宫颈癌中所起的作用具有一定的关联性。增殖细胞核抗原PCNA是反映细胞增殖状态的一个重要指标, *TPX2* 基因过表达后引起PCNA表达增强, 进一步说明*TPX2* 基因的过表达能引起肿瘤细胞增殖更

加活跃。本研究发现, 在Hela细胞过表达TPX2后, Aurora A和eg5表达发生了上调, 而P53的表达发生了下调。细胞分裂过程中, 中心体分离是驱动蛋白eg5驱动的, TPX2分子C-端第37位氨基酸能结合并激活纺锤体驱动蛋白eg5^[13]。Aurora A和eg5通过与TPX2分子第72位苏氨酸的磷酸化来调节纺锤体组装功能^[14]。TPX2通过刺激Aurora A的T-Loop中保守T295(人T288)的自身磷酸化而活化Aurora A, 还可通过抑制Aurora A的泛素化降解过程而调节其在胞内的稳定性, 进而提高其蛋白质水平^[15]。Aurora A还可通过磷酸化P53的Ser215抑制其DNA结合和转录活性, 使野生型P53的功能被抑制。而在TPX2表达缺乏时, P53则能够抑制Aurora A的激酶活性^[16]。Gaetan等^[17]在对非洲爪蟾卵中P53、Aurora A及TPX2的相互作用研究中发现, 在卵母细胞成熟过程中Aurora A的激活及P53磷酸化需要TPX2参与。有研究者认为, CyclinB2过表达能激活Aurora A而致细胞中心体及染色体异常分离引起细胞增生失控以及细胞恶性转化, 是因为CyclinB2本身和P53以互相牵制的方式控制着Aurora A的活性, 当这种平衡被打破, 就会引起细胞增殖失控而致肿瘤发生^[18]。本研究在Hela过表达TPX2后, S期及G₂/M期细胞所占比例明显增加, P53表达发生了下调, CyclinB2、Aurora A及eg5的表达均发生了上调, Ki67和PCNA表达均增加, 细胞的增殖能力也更加活跃。此结果进一步揭示了TPX2高表达的可能致癌机制: 一方面, TPX2高表达引起引起纺锤体动力蛋白Eg5的表达增加; 另一方面, TPX2高表达引起CyclinB2-P53-Aurora A调控机制失衡, 致Aurora A表达增加, Aurora A和eg5的高表达达最终致肿瘤细胞的分裂增殖能力增强。

参考文献 (References)

- Pérez de Castro I, Malumbres M. Mitotic stress and chromosomal instability in cancer: the case for TPX2. *Genes Cancer* 2012; 3(11): 721-30.
- 刘万伟, 李恩亮, 邬林泉. TPX2在细胞间期参与DNA损伤反应及其与肿瘤发生关系的研究进展. *广东医学*(Liu Wanwei, Li Enliang, Wu Linquan. TPX2 involved in the DNA damage response in the interphase of the cell and its relationship with tumor research progress. *Guangdong Med J*) 2016; 4(8): 1245-8.
- 常海平, 王敬芝, 田原. TPX2在宫颈癌中的表达及意义. *基础医学与临床*(Chang Haiping, Wang Jingzhi, Tian Yuan. Expression of tpx2 in cervical carcinoma and its significance. *Basic Clin Med*) 2012; 32(5): 561-5.
- 常海平, 杨彩荣, 郑健. 人TPX2基因过表达慢病毒质粒的构建及其人宫颈癌细胞稳定表达株的筛选. *中国生物制品学杂志*(Chang Haiping, Yang Cairong, Zheng Jian. Construction of lentivirus vector for over-expression of human tpx2 gene and screening of human cervical cancer cell line stably expressing tpx2. *Chin J Biol*) 2017; 30(6): 607-12.
- Gruss OJ, Wittmann M, Yokoyama H. Chromosome-induced microtubule assembly mediated by TPX2 is required for spindle formation in HeLa cells. *Nat Cell Biol* 2002; 4(11): 871-9.
- Yan L, Li S, Xu C. Target protein for Xklp2 (TPX2), a microtubule-related protein, contributes to malignant phenotype in bladder carcinoma. *Tumour Biol* 2013; 34(6): 4089-100.
- Hsu PK, Chen HY, Yeh YC. TPX2 expression is associated with cell proliferation and patient outcome in esophageal squamous cell carcinoma. *J Gastroenterol* 2014; 49(8): 1231-40.
- Chang H, Wang J, Tian Y. The TPX2 gene is a promising diagnostic and therapeutic target for cervical cancer. *Oncol Rep* 2012; 27(5): 1353-9.
- Ma Y, Lin D, Sun W. Expression of targeting protein for xklp2 associated with both malignant transformation of respiratory epithelium and progression of squamous cell lung cancer. *Clin Cancer Res* 2006; 12(4): 1121-7.
- Warner SL, Stephens BJ, Nwokenkwo S. Validation of TPX2 as a potential therapeutic target in pancreatic cancer cells. *Clin Cancer Res* 2009; 15(21): 6519-28.
- 周小凤, 唐均英. 细胞增殖标记物Ki-67与宫颈癌. *现代医药卫生*(Zhou Xiaofeng, Tang Junying. Cell proliferation markers Ki-67 and cervical cancer. *J Mod Med Health*) 2016; 32(6): 717-20.
- 闫洁, 付敏, 梁慧, 庞永红, 李鹏. 子宫颈鳞状细胞癌中Aurora-A、MCM7和HPV16 E7的表达与临床病理特征的关系. *临床与实验病理学杂志*(Yan Jie, Fu Min, Liang Hui, Pang Yong-hong, Li Peng. Expression of Aurora A, MCM7 and HPV 16 E7 in uterine cervical squamous cell carcinoma and their relationship with clinicopathological factors. *J Clin Exp Pathol*) 2015; 31(5): 497-501.
- Mann BJ, Balchand SK, Wadsworth P. Regulation of Kif15 localization and motility by the C-terminus of TPX2 and microtubule dynamics. *Mol Biol Cell* 2017; 28(1): 65-75.
- Shim SY, Perez de Castro I, Neumayer G, Wang J, Park SK, Sanada K, et al. Phosphorylation of targeting protein for *Xenopus* kinesinlike protein 2 (TPX2) at threonine 72 in spindle assembly. *J Biol Chem* 2015; 290(14): 9122-34.
- Giubettini M, Asteriti IA, Scrofani J. Control of Aurora-A stability through interaction with TPX2. *J Cell Sci* 2011; 124(1): 113-22.
- Liu Q, Kaneko S, Yang L. Aurora-A abrogation of P53 DNA binding and transactivation activity by phosphorylation of serine 215. *J Biol Chem* 2004; 279(50): 52175-82.
- Pascreau G, Eckerdt F, Lewellyn AL. Phosphorylation of P53 is regulated by TPX2-Aurora A in *Xenopus oocytes*. *J Biol Chem* 2009; 284(9): 5497-505.
- Nam HJ, van Deursen JM. CyclinB2 and P53 control proper timing of centrosome separation. *Nat Cell Biol* 2014; 16(6): 538-49.