

论著·临床研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2016.36.022

EphB4 在肝癌组织中的表达及临床意义

曹 阳,吴 念,刘 桦[△]

(重庆市第五人民医院普外科 400062)

[摘要] **目的** 研究酪氨酸蛋白激酶受体 EphB4 在肝癌组织中的表达及临床意义,并分析 EphB4 对肝癌细胞增殖的影响。**方法** 采用逆转录-聚合酶链反应(RT-PCR)和免疫组化技术分析 EphB4 在 60 例肝癌组织与相应癌旁组织中的表达差异,分析 EphB4 在肝癌组织中的表达水平与肝癌患者临床病理学之间的相关性,进行单因素生存分析,MTS 实验分析 EphB4 对肝癌细胞系 SK-Hep-1 活力的影响。**结果** RT-PCR 检测结果显示 EphB4 在肝癌组织中 mRNA 表达水平(1.39±0.80)。明显高于癌旁组织(0.56±0.33),差异有统计学意义($P<0.01$);免疫组化分析发现 EphB4 在肝癌组织和癌旁组织中的阳性率分别为 81.7%和 23.3%;EphB4 在肝癌组织中的表达与 AFP 水平、肿瘤大小、TNM 分期相关($P<0.05$);EphB4 蛋白表达阳性和阴性的肝癌患者 3 年生存率分别为 22.5%和 54.5%,差异有统计学意义($P<0.05$);过表达 EphB4 显著提高肝癌细胞增殖能力($P<0.05$)。**结论** EphB4 在肝癌组织中表达显著上调,与肝癌进展和预后相关;并且 EphB4 能促进肝癌细胞增殖,其可作为肝癌进展的标志物之一。

[关键词] 肝肿瘤;EphB4;临床意义**[中图分类号]** R737.5**[文献标识码]** A**[文章编号]** 1671-8348(2016)36-5110-03

Expression of EphB4 in hepatocellular carcinoma tissues and its clinical significance

Cao Yang, Wu Nian, Liu Hua[△]

(Department of General Surgery, the Fifth People's Hospital of Chongqing, Chongqing 400062, China)

[Abstract] **Objective** To study the expression of Ephrin-B4 receptor (EphB4) in hepatocellular carcinoma (HCC) and its clinical significance, and to analyze the effect of EphB4 on the proliferation of HCC cells. **Methods** The expression level of EphB4 in HCC tissues and matched paracancerous liver tissues of 60 cases of HCC patients was assessed by reverse transcriptase-polymerase chain reaction (RT-PCR) and immunohistochemistry. The correlation between the expression of EphB4 in HCC tissues and clinical pathologic parameters was analyzed by chi-square test. Univariate survival analysis was carried out by Kaplan-Meier Log-rank test. The effect of EphB4 on the viability of HCC cells was further analyzed by MTS. **Results** The results of RT-PCR showed that the mRNA level of EphB4 in HCC tissues (1.39±0.80) was significantly higher than in matched paracancerous liver tissues (0.56±0.33), the difference was statistically significant ($P<0.01$). Data from immunohistochemistry showed that the positive rates of EphB4 protein in HCC tissues and matched paracancerous liver tissues were 81.7% and 23.3%, respectively. Moreover, the expression of EphB4 in HCC tissues was relevant to AFP level, tumor size and TNM stage ($P<0.05$). The three-year survival rate of HCC patients with positive expression of EphB4 protein was 22.5%, and that of HCC patients with negative expression of EphB4 protein was 54.5%, the difference was statistically significant ($P<0.05$). Overexpression of EphB4 significantly enhanced the ability of hepatocellular carcinoma cell proliferation ($P<0.05$). **Conclusion** EphB4 expression was significantly up-regulated in HCC, which was associated with HCC progression and prognosis, and EphB4 could promote the proliferation of HCC cells, which could be used as a marker of HCC progression.

[Key words] liver neoplasms; EphB4; clinical significance

肝癌是最常见的恶性肿瘤之一,致死率居恶性肿瘤的第二位,大多数病例发生于亚洲和非洲^[1-2]。肝癌恶性程度高,转移率高,预后差,5 年生存率不到 10%^[3]。其预后差的主要原因是不能早期发现、早期诊断和早期治疗。因此寻找新的肿瘤标志物,提高肝癌的早期诊断率,对改善预后具有重要的意义。EphB4 属于 Ephrin 酪氨酸蛋白激酶受体家族, Ephrin 受体构成了最大的受体酪氨酸激酶亚家族,并分成了 2 个亚群, EphA 和 EphB^[4-5]。近年来,多项研究证实了 EphB 在多种人类恶性肿瘤中的临床意义,尤其是 EphB4 被证实于子宫内膜癌、乳腺癌、食管癌、结直肠癌组织中是高表达的,并且具有重要的临床意义^[6-11]。本研究旨在检测 EphB4 在肝癌组织与癌旁组织间的表达差异,并分析 EphB4 在肝癌组织中表达的临床意义和其对肿瘤生长的影响。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择本院肝胆外科 2010 年 6 月至 2012 年 6

月手术切除标本,肝癌组织和癌旁组织各 60 例。术后经病理科组织病理学诊断为肝癌,术前未经任何放化疗及免疫学治疗。术中取肝癌组织及癌旁组织(距肿瘤边缘大于 3 cm),立即冻存于液氮中。所有标本的获取均得到患者本人及家属同意。肝癌患者的临床病理资料:年龄 32~69 岁,平均(52±8)岁;男 39 例,女 21 例;有肝硬化 35 例,无肝硬化 25 例;有门脉癌栓 23 例,无门脉癌栓 37 例;有淋巴结转移 20 例,无淋巴结转移 40 例;HBsAg 阳性 41 例,阴性 19 例;肿瘤 TNM 分期 I~II 期 30 例,III~IV 期 30 例。

1.2 方法

1.2.1 细胞株和试剂 SK-Hep-1 细胞系购于 ATCC(American Type Culture Collection)。EphB4 质粒购于 ADDGENE 公司,质粒转染试剂购买自罗氏公司。TRIZOL 和逆转录试剂盒购于 TIGEN 公司,SYBR Green Master Mix 购于 Roche 公司。EphB4 抗体购于 Bioword 公司,DAB 试剂盒购于北京中杉金

桥公司。MTS 试剂购于 Promega 公司。

1.2.2 逆转录-聚合酶链反应(RT-PCR) TRIZOL 裂解组织并提取组织总 RNA,按照逆转录试剂盒操作说明合成 cDNA,PCR 扩增目的基因 EphB4 和内参基因 β -actin。EphB4 上游引物:5'-CCT TCC TGC GGC TAA ACG AC-3',下游引物:5'-GTT GAC TAG GAT GTT GCG AG-3'; β -actin 上游引物:5'-CTC TTC CAG CCT TCC TTC CT-3',下游引物:5'-AGC ACT GTG TTG GCG TAC AG-3'。每个样本重复 3 次。以 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 计算目的基因的相对表达水平。

1.2.3 免疫组化 组织经石蜡包埋并制作成 5 μ m 厚切片,常规脱蜡水化,微波抗原修复,3%的过氧化氢消除内源性过氧化物酶活性;山羊血清室温孵育 20 min,EphB4 抗体(1:100)稀释后滴加于切片上,湿盒 4 $^{\circ}$ C 过夜;第 2 天以山羊抗兔二抗 37 $^{\circ}$ C 孵育 30 min;DAB 显色液室温孵育 10 min,苏木精复染,脱水,封片。阳性表达为细胞质有棕黄色颗粒沉积,光镜下随机在每张切片中选择 10 个高倍视野,每个视野计数 100 个细胞,并对细胞染色强度联合阳性细胞百分比进行评分^[12]。评分细则如下:0 分,阴性;1 分,弱阳性;2 分,中度阳性;3 分,强阳性;阳性细胞百分比分级如下: $\leq 5\%$ 为 0 分,6%~25% 为 1 分,26%~50% 为 2 分,51%~75% 为 3 分, $> 75\%$ 为 4 分。染色强度和阳性细胞百分比评分相乘大于或等于 1 分则认为 EphB4 蛋白表达阳性。

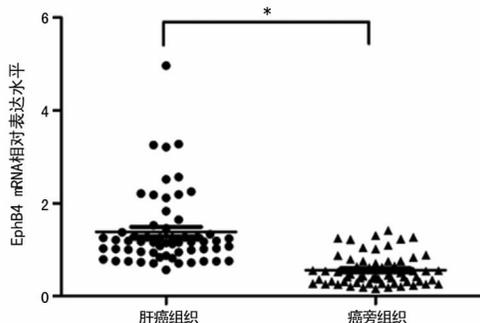
1.2.4 细胞培养及转染 SK-Hep-1 细胞培养于 10% FBS,1% p/s 的 DMEM 培养基中,在含 5% CO₂,37 $^{\circ}$ C 孵箱中常规培养。质粒转染严格按照试剂说明书操作。用无抗生素培养基给细胞换液后分别将 2 μ g Vector 和 EphB4 质粒加入到含有 200 μ L opti-MEM 培养基的 EP 管中,混匀后在 EP 管中加入 6 μ L 转染试剂(质粒与转染试剂的比例为 1:3),混匀;室温放置 15 mL。均匀滴加质粒于 6 孔板中,放置于孵箱中。

1.2.5 MTS 实验 细胞转染质粒 24 h 后,用胰酶消化,培养基中和后细胞计数,取 6 000 个细胞接种于 96-well plate。分别在转染后 3、4、5、6 d 滴加 20 μ L MTS 试剂,5% CO₂,37 $^{\circ}$ C 孵箱中静置 1~4 h,490 nm 读取样品吸光值。每个样品重复 3 次。

1.3 统计学处理 采用 SPSS17.0 软件进行统计分析,比较 EphB4 mRNA 表达差异采用 *t* 检验分析,EphB4 蛋白表达与临床资料之间的相关性采用 χ^2 检验,Kaplan-Meier Log Rank 检验进行单因素生存分析,组间两两比较采用两因素方差分析检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

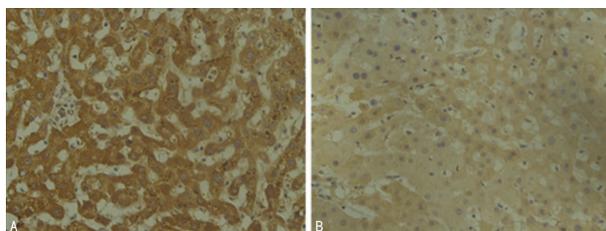
2.1 肝癌组织和癌旁组织中 EphB4 mRNA 水平表达差异 RT-PCR 检测发现 60 例肝癌组织中 EphB4 mRNA 相对表达值为 1.39 ± 0.80 ,癌旁组织中 EphB4 mRNA 相对表达值为 0.56 ± 0.33 ,差异具有统计学意义($P < 0.01$)。见图 1。



*: $P < 0.01$ 。

图 1 RT-PCR 检测 EphB4 mRNA 在肝癌组织和癌旁组织中的差异

2.2 EphB4 蛋白在肝癌组织中的表达 通过免疫组化进一步检测发现 EphB4 在肝癌组织中的阳性表达率为 81.7% (49/60),在癌旁组织中的阳性表达率为 23.3% (14/60)。EphB4 在肝癌组织中的表达水平显著高于癌旁组织。见图 2。



A:肝癌组织;B:癌旁组织。

图 2 EphB4 蛋白在肝癌组织和癌旁组织中的表达(SP $\times 100$)

2.3 EphB4 蛋白表达与肝癌患者临床病理特征间的关系 EphB4 蛋白在肝癌患者中的表达与 AFP 水平、肿瘤大小、肿瘤 TNM 分期有关($P < 0.05$),与患者年龄、性别、有无肝硬化、有无门脉癌栓、有无淋巴转移、乙肝表面抗原(HBsAg)阴阳性无关($P > 0.05$)。见表 1。

表 1 EphB4 表达与肝癌患者临床病理因素间的关系(n)

项目	n	EphB4 蛋白表达情况	
		阳性	阴性
年龄(岁)			
≥ 50	43	36	7
< 50	17	13	4
性别			
男	39	31	8
女	21	18	3
AFP(μ g/mL)			
≥ 400	41	37	4
< 400	19	12	7
肿瘤大小(cm)			
≥ 5	42	39	3
< 5	18	10	8
肝硬化			
有	35	30	5
无	25	19	6
门脉癌栓			
有	23	16	7
无	37	33	4
淋巴转移			
有	20	14	6
无	40	35	5
HBsAg			
有	41	32	9
无	19	17	2
TNM 分期			
I ~ II	30	29	1
III ~ IV	30	20	10

2.4 EphB4 蛋白表达与肝癌患者预后的关系 根据对 60 例患者的 3 年随访结果和 EphB4 蛋白在肝癌组织中的表达进行 Kaplan-Meier 单因素生存分析,结果显示 EphB4 蛋白表达阳性组肝癌患者的 3 年生存率为 22.5%,EphB4 蛋白表达阴性组肝癌患者的 3 年生存率为 54.5%,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见图 3。

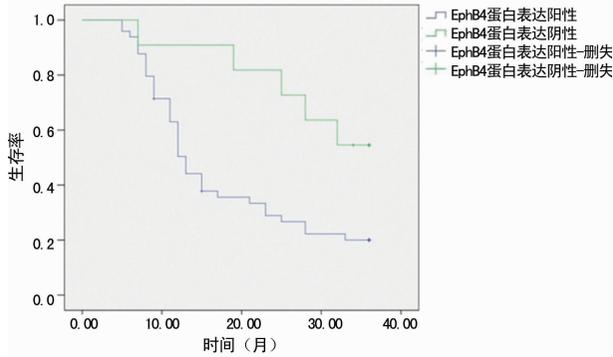
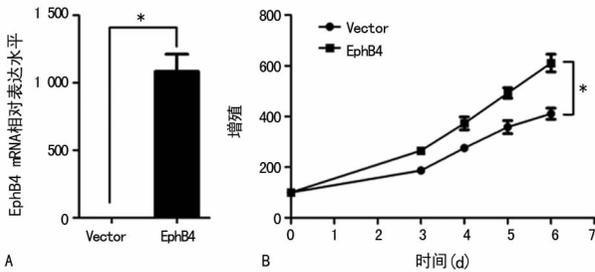


图 3 不同组 EphB4 蛋白表达生存率曲线

2.5 EphB4 对肝癌细胞增殖的影响 为进一步研究 EphB4 对肝癌细胞增殖的影响,首先在 SK-Hep-1 细胞中转染了 Vector 和 EphB4 过表达质粒,RT-PCR 显示 EphB4 过表达有效(图 4A)。分别对转染后 3、4、5、6 d 的细胞进行 MTS 实验,如图 4B 所示,EphB4 显著提高 SK-Hep-1 细胞的增殖能力($P < 0.05$)。



A: RT-PCR 检测 EphB4 的过表达水平;B: MTS 实验分析 EphB4 对 SK-Hep-1 增殖的影响; * : $P < 0.05$ 。

图 4 EphB4 对肝癌细胞增殖的影响

3 讨论

近年来,越来越多的研究显示 Eph 信号通路在癌细胞的生长、分化、聚集、迁移和凋亡过程中具有重要的作用,Eph 受体在多种恶性肿瘤中是高表达的,包括前列腺癌、结肠癌、乳腺癌、卵巢癌等^[13]。最近,Eph 受体在肝癌发生、发展中的作用也逐渐引起了研究人员的关注。据报道,EphA1 在肝癌细胞中表达较高,EphA1 沉默能显著抑制肝癌细胞增殖、迁移和侵袭^[14]。EphA2 在肝癌组织中的表达水平也较高,并且能通过 Rac1/Akt/NF- κ B 信号通路促进肝癌细胞存活^[15-16]。更有研究显示,EphA4 参与了肝癌细胞上皮间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)过程,进一步通过 β 1-整合素通路影响了肝癌细胞的侵袭和黏附^[17]。也有报道发现 EphB1 的多态性与人们对肝癌的易感性有关^[18]。EphB4 属于 Eph 受体家族,在多种肿瘤细胞和组织中表达水平较高,如子宫癌、膀胱癌、前列腺癌、乳腺癌、结肠癌等^[13],并且与肿瘤细胞的形态、黏附、迁移、侵袭等密切相关^[19]。在本研究中,也发现 EphB4 在肝癌组织中的表达水平明显高于癌旁组织。这提示着 EphB4 可能与肝癌的进展有关并具有重要的临床意义。

EphB 亚族中,EphB4 高表达的临床意义引起了最广泛地关注。研究显示,EphB4 的表达与乳房头颈鳞状细胞癌的临床分期、吸烟史和预后差有关^[20-21]。根据组织病理学和远期生活质量评分,EphB4 的高表达与恶性胶质瘤的无进展存活期有关^[22]。在子宫颈腺癌中,EphB4 的高表达与临床分期、淋巴结转移、肿瘤大小和不良预后有关^[23]。本研究也发现,肝癌组织中 EphB4 蛋白的高表达与 AFP 水平、肿瘤大小、临床分期有关。揭示着 EphB4 可能促进肿瘤生长和进展。对本研究的肝癌患

者术后随访发现,肝癌组织中 EphB4 高表达的患者术后生存期明显低于 EphB4 低表达的患者,EphB4 蛋白表达阳性组肝癌患者的 3 年生存率为 22.5%,EphB4 蛋白表达阴性组肝癌患者的 3 年生存率为 54.5%,提示 EphB4 蛋白表达水平与肝癌患者良好预后呈负相关。这些结果揭示在肝癌中,EphB4 可能是一种促癌作用因子。EphB4 促进肿瘤进展的机制是多方面的,包括抑制凋亡信号通路和直接作用于相关的肿瘤细胞生长信号通路,如 PI3K/Akt/MMP、JAK/Stat1 信号通路等^[13]。本研究进一步发现 EphB4 能增强肝癌细胞活力,这为深入解析 EphB4 参与肿瘤的发生、发展机制研究奠定了基础。

综上所述,本研究发现 EphB4 在肝癌组织中高表达并且与临床 TNM 分期预后不良有关,这为评估肝癌患者预后和发展新的生物学治疗靶点提供了科学的依据。

参考文献

- [1] Mazzanti R, Arena U, Tassi R, et al. Hepatocellular carcinoma: Where are we? [J]. World J Exp Med, 2016, 6(1): 21-36.
- [2] Tognarelli J, Ladep NG, Crossey MM, et al. Reasons why West Africa continues to be a hotbed for hepatocellular carcinoma[J]. Niger Med J, 2015, 56(4): 231-235.
- [3] Chen G, Li X, He G, et al. Low expression of GNAI3 predicts poor prognosis in patients with HCC[J]. Int J Clin Exp Med, 2015, 8(11): 21482-21486.
- [4] Wang Y, Thorin E, Luo H, et al. EPHB4 protein expression in vascular smooth muscle cells regulates their contractility, and EPHB4 deletion leads to hypotension in mice[J]. J Biol Chem, 2015, 290(22): 14235-14244.
- [5] Duggineni S, Mitra S, Noberini R, et al. Design, synthesis and characterization of novel small molecular inhibitors of ephrin-B2 binding to EphB4 [J]. Biochem Pharmacol, 2013, 85(4): 507-513.
- [6] 蔡学海, 赵玉斌, 张少华, 等. 子宫内膜癌组织 EphB4 和 EphrinB2 蛋白表达临床意义的研究[J]. 中华肿瘤防治杂志, 2011, 18(10): 788-790.
- [7] 杨光伦, 涂刚, 姚榛祥, 等. EphB4 在乳腺浸润性导管癌中的表达及意义[J]. 第三军医大学学报, 2009, 31(5): 438-440.
- [8] 陈幕华, 王旗, 崔玲玲, 等. EphB4 在食管癌组织中的表达及临床意义[J]. 山东医药, 2008, 48(17): 21-23.
- [9] Hasina R, Mollberg N, Kawada I, et al. Critical role for the receptor tyrosine kinase EPHB4 in esophageal cancers [J]. Cancer Res, 2013, 73(1): 184-194.
- [10] 夏晓天, 邹扬, 汪昱. 结直肠癌组织中 EphB4 受体表达及临床意义[J]. 山东医药, 2007, 47(26): 79-80.
- [11] Guijarro-Munoz I, Sánchez A, Martínez-Martínez E, et al. Gene expression profiling identifies EPHB4 as a potential predictive biomarker in colorectal cancer patients treated with bevacizumab[J]. Med Oncol, 2013, 30(2): 572.
- [12] Tu K, Zheng X, Zan X, et al. Evaluation of Fbxw7 expression and its correlation with the expression of c-Myc, cyclin E and p53 in human hepatocellular carcinoma [J]. Hepatol Res, 2012, 42(9): 904-910.
- [13] Li M, Zhao J, Qiao J. EphB4 regulates the growth and migration of pancreatic cancer cells[J]. Tumour Biol, 2014, 35(7): 6855-6859.

降,但是通气治疗可造成呼吸机相关肺炎、声门的狭窄、支气管发育不良、呼吸机导致的肺损伤等问题,影响临床疗效^[12]。鼻塞式持续气道通气减少了创伤性,提高了治疗效果从而改善肺泡的气体交换,保持了气道的完整性,克服了气管插管,降低了感染的发生率和气道防御机制破坏,增加了新生患儿的舒适度^[13]。本研究结果显示,治疗后两组的以上各项指标均有明显的改善。常频机械通气通气阻力与鼻塞式持续气道正压通气相比较小,因此气体交换快,气管插管后下呼吸道通气导管直接与外界相连^[14],气体导管容易出现烦躁导致的过度通气,对新生患儿的刺激较大^[15]。观察组呼吸机相关肺炎、肺出血发生率低于对照组,究其原因主要是由于常频机械通气过程中下呼吸道与外界相通,因此增加了病原体到达肺部的概率,同时,在治疗过程中反复的吸痰也可造成病原体的侵入,肺部的感染导致呼吸道被破坏,防御功能下降明显。

综上所述,两种治疗方式均减少呼吸道出现相关肺炎的发生,可有效地治疗新生儿的呼吸衰竭,短期疗效鼻塞式持续气道正压通气优于常频机械通气。不过临床中值得注意的是若患儿生命体征仍然未稳定,出现上机后症状没有明显改善,需要及时气管插管后给予呼吸机的通气,以免耽误病情。

参考文献

- [1] Wang J, Zhou ZS, Chen SY, et al. Resuscitate treatment of neonatal respiratory distress syndrome [J]. *J Prac Clin Ped*, 2011, 26(2): 125-127.
- [2] Chen XY, Wang Y, Zc H. Influence of elective caesarean section on respiratory distress syndrome in near-term and term neonates [J]. *J Appl Clin Ped*, 2011, 26(2): 114-127.
- [3] 刘翠青, 崔泽, 夏耀方, 等. 目标容量控制通气治疗重症新生儿呼吸窘迫综合征的前瞻性随机对照研究 [J]. *中国当代儿科杂志*, 2011, 13(9): 696-699.
- [4] 邵肖梅, 叶鸿瑁, 丘小汕. 实用新生儿学 [M]. 4 版. 北京: 人民卫生出版社, 2011.
- [5] Jiang L, Chen QH, Hu ST, et al. Analysis of 60 cases of

X-Ray with hyaline membrane disease of newborn [J]. *J Clin Exp Med*, 2010, 9(22): 1731-1733.

- [6] 邵肖梅, 叶鸿瑁, 丘小汕. 实用新生儿学 [M]. 4 版. 北京: 人民卫生出版社, 2011: 423-424.
- [7] 赖剑蒲. 新生儿呼吸衰竭常用的辅助呼吸治疗 [J]. *中国小儿急救医学*, 2006, 13(5): 487-489.
- [8] 张国英, 郑静, 王晓蕾, 等. 有创-无创序贯性通气治疗新生儿呼吸衰竭的临床研究 [J]. *中国小儿急救医学*, 2007, 14(5): 400-403.
- [9] 史源, 唐仕芳, 沈洁, 等. 经鼻间歇正压通气治疗新生儿呼吸衰竭的随机对照研究 [J]. *中国循证儿科杂志*, 2009, 4(6): 494-498.
- [10] 陈巧娟, 汪祝萍. 鼻塞持续气道正压通气在新生儿肺透明膜病中的应用 [J]. *广东医学*, 2007, 28(5): 797-798.
- [11] Liu CQ, Ma L. Clinical analysis of 168 neonates with respiratory distress syndrome treated by Calsurf and different mechanical ventilation modes [J]. *Chin J Prac Ped*, 2010, 25(4): 275-278.
- [12] Liu L, Wang L. Clinical observation of surfactant treatment on near-term neonates RDS treatment [J]. *Prog Mod Biom*, 2011, 11(13): 2467-2469.
- [13] 邵红梅, 严建江, 蹇涵. NCPAP 和 Bi-level NCPAP 治疗早产儿呼吸窘迫综合征的疗效评价及对炎症反应的影响 [J]. *新医学*, 2012, 43(12): 854-857.
- [14] 曾援, 钟日英, 郑欣. 有创-无创机械通气序贯治疗小儿呼吸衰竭 56 例分析 [J]. *中国医药导报*, 2012, 9(18): 178-179.
- [15] 陈清, 瞿尔力, 黄育丹, 等. 鼻塞持续气道正压呼吸治疗新生儿呼吸衰竭的临床研究 [J]. *中华医院感染学杂志*, 2011, 21(20): 4240-4242.

(收稿日期: 2016-07-18 修回日期: 2016-09-21)

(上接第 5112 页)

- [14] Chen G, Wang Y, Zhou M, et al. EphA1 receptor silencing by small interfering RNA has antiangiogenic and antitumor efficacy in hepatocellular carcinoma [J]. *Oncol Rep*, 2010, 23(2): 563-570.
- [15] Jin Q, Li X, Cao P. EphA2 modulates radiosensitive of hepatocellular carcinoma cells via p38/mitogen-activated protein kinase-mediated signal pathways [J]. *Kaohsiung J Med Sci*, 2015, 31(10): 510-517.
- [16] Feng YX, Zhao JS, Li JJ. Liver cancer: EphrinA2 promotes tumorigenicity through Rac1/Akt/NF-kappaB signaling pathway [J]. *Hepatology*, 2010, 1(2): 535-544.
- [17] Yan Y, Luo YC, Wan HY, et al. MicroRNA-10a is involved in the metastatic process by regulating Eph tyrosine kinase receptor a4-Mediated Epithelial-Mesenchymal transition and adhesion in hepatoma cells [J]. *Hepatology*, 2013, 57(2): 667-677.
- [18] Kim SK, Jeon JW, Park JJ, et al. Associations of EPHB1 polymorphisms with hepatocellular carcinoma in the Korean population [J]. *Hum Immunol*, 2011, 72(10): 916-920.

- [19] Stephenson SA, Douglas EL, Mertens-Walker, et al. Antitumor effects of antibodies targeting the extracellular cysteine-rich region of the receptor tyrosine kinase EphB4 [J]. *Oncotarget*, 2015, 6(10): 7554-7569.
- [20] Zheng MF, Ji Y, Wu XB, et al. EphB4 gene polymorphism and protein expression in non-small-cell lung cancer [J]. *Mol Med Rep*, 2012, 6(2): 405-408.
- [21] Sinha UK, Mazhar K, Chinn SB, et al. The association between elevated EphB4 expression, smoking status, and advanced-stage disease in patients with head and neck squamous cell carcinoma [J]. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*, 2006, 132(10): 1053-1059.
- [22] Tu Y, He S, Fu J, et al. Expression of EphrinB2 and EphB4 in glioma tissues correlated to the progression of glioma and the prognosis of glioblastoma patients [J]. *Clin Transl Oncol*, 2012, 14(3): 214-220.
- [23] Alam SM, Fujimoto J, Jahan I, et al. Coexpression of EphB4 and ephrinB2 in tumor advancement of uterine cervical cancers [J]. *Gynecol Oncol*, 2009, 114(1): 84-88.

(收稿日期: 2016-08-18 修回日期: 2016-10-26)