

• 临床研究 •

EphA10 在胃癌组织中的蛋白表达及预后研究

赵明洁, 翁诗雅, 李彦, 袁平, 冷冬妮[△]
(东部战区空军医院病理科, 江苏南京 210002)

[摘要] 目的 研究 EphA10 在胃癌组织中的表达及预后影响。方法 利用定量反转录聚合酶链反应 (qRT-PCR) 检测 56 例胃癌组织及癌旁组织中 EphA10 的表达水平, 通过对照实验对比两者表达差异, 数据分析采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 。随机抽取 TNM 不同分期患者各 2 例。采用 Western blotting 法检测 8 例胃癌组织及癌旁组织中 EphA10 的蛋白表达水平。追踪患者 (24±3) 个月结局, 采用单因素分析及 Cox 回归模型分析影响胃癌患者预后的因素。结果 EphA10 在胃癌组织中的表达明显高于癌旁组织, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。EphA10 表达、分化程度为低分化、浸润达 T3 或 T4、远处转移、淋巴结转移及 TNM 分期为 III、IV 期是影响胃癌患者预后的独立危险因素 ($P < 0.05$)。结论 EphA10 在胃癌组织中高表达, 且是影响胃癌预后的独立因素。

[关键词] EphA10; 胃癌; 预后

DOI: 10.3969/j.issn.1009-5519.2026.04.019

中图法分类号: R737

文章编号: 1009-5519(2026)04-0820-04

文献标识码: A

Protein expression and prognosis of EphA10 in gastric cancer

ZHAO Mingjie, WENG Shiya, LI Yan, YUAN Ping, LENG Dongni[△]

(Department of Pathology, The Air Force Hospital From Eastern Theater of PLA, Nanjing, Jiangsu 210002, China)

[Abstract] **Objective** To study the expression of EphA10 in gastric cancer and its prognostic effect. **Methods** The expression level of EphA10 in 56 cases of gastric cancer and its adjacent tissues was detected by quantitative reverse transcription polymerase chain reaction (qRT-PCR). The difference of expression between the two tissues was compared by control experiment. Data analysis was performed by $2^{-\Delta\Delta Ct}$. From each of the different TNM stages, two patients were randomly selected, and the protein expression levels of EphA10 in the gastric cancer tissues and adjacent normal tissues of these 8 patients were detected by Western blotting. The outcomes of patients at (24±3) months were followed up, and the factors affecting the prognosis of patients with gastric cancer were analyzed by univariate analysis and Cox regression model. **Results** The expression of EphA10 in gastric cancer tissues was significantly higher than that in adjacent tissues, the difference was statistically significant ($P < 0.05$). EphA10 expression, low differentiation, infiltration of T3 or T4, distant metastasis, lymph node metastasis and TNM stage III and IV were independent risk factors for prognosis ($P < 0.05$). **Conclusion** EphA10 is highly expressed in gastric cancer and is an independent factor affecting the prognosis of gastric cancer.

[Key words] EphA10; Gastric cancer; Prognosis

胃癌是全世界发病率排位第 5 的高发癌症, 随着现代医学进步及基因检测的普及, 部分胃癌能够在早期被发现, 并及时干预, 可获得根治的机会, 但是胃癌仍是癌症死亡的第三大原因^[1], 这意味着晚期胃癌的治疗依旧任重道远, 需要更多的手段干预胃癌进展。胃癌的发生是一个动态过程, 与多种因子的募集及信号的调控有关^[2], 其中, 促红细胞生成素诱导肝细胞激酶 (Eph) 在胃癌中的影响不可忽视。

Eph 是受体蛋白酪氨酸激酶 (RPTKs) 中最大的家族, 已被证实与多种肿瘤的发生、发展密切相关。Eph 受体及其配体 Ephrin 信号通路介导着细胞间作用, 参与肿瘤发生、血管生成及肿瘤转移。根据配体 (Ephrin) 的类型, Eph 受体被分为 A 和 B 两类, 诸多

的研究证实了 Eph 受体在胃癌中的异常表达, 例如 EphA7 在晚期胃癌中的表达高于早期胃癌, EphB1 下调影响胃癌的预后, EphA3 过表达与胃癌的肿瘤深度、分期及复发有关等^[3]。以往研究结果显示, 酪氨酸蛋白激酶受体 A 亚型 10 (EphA10) 在浸润性乳腺癌、肺癌、胰腺癌及卵巢癌中均有高表达, 但 EphA10 在胃癌中的表达尚鲜见报道。本实验研究 EphA10 在胃癌组织及其癌旁组织中的表达, 分析其对胃癌患者预后的影响, 有助于进一步探究影响胃癌发生发展的因素, 同时为临床研究及分子靶向治疗提供新的思路。

1 资料与方法

1.1 标本来源 选取东部战区空军医院 2018 年 1 月至 2023 年 12 月的 56 例胃大部切除的胃癌患者标

[△] 通信作者, E-mail: dnleng_107@163.com。

本,每例患者同时采集胃癌组织(Ca)及配对癌旁组织(Con,距离肿瘤边缘 ≥ 6 cm)。纳入标准:(1)术前未接受放、化疗及其他新辅助治疗手段;(2)肿瘤部位经术后病理结果证实为胃腺癌;(3)具有完整的医学资料且自愿签署知情同意书。排除标准:(1)合并有其他恶性肿瘤;(2)合并其他严重躯体及精神疾病。

1.2 分组

1.2.1 标本实验分组 癌组织标本($n=56$)按手术时间分为 A 组(2018 年 1 月至 2020 年 3 月)、B 组(2020 年 7 月至 2021 年 3 月)、C 组(2021 年 6 月至 2022 年 4 月)、D 组(2022 年 6 月至 2023 年 12 月),每组 14 例;癌旁组织($n=56$)不参与分组,作为统一对照组。分组目的:因实验跨年度进行(试剂批次/条件差异),通过分组控制批次效应,比较不同条件下癌组织的分子表达;癌旁组织提供基线参考值。

1.2.2 临床随访分组 对 56 例患者进行(24 ± 3)个月随访,依据生存结局分为死亡组(随访期间死亡, $n=14$)及生存组(截至随访结束存活, $n=42$)。

1.3 实验主要试剂 Affinity 公司生产 EphA10 试剂、诺唯赞聚合酶链反应(PCR)试剂盒、Invitrogen 公司 TRIzol™ 试剂、培养基均来自美国 Gibco 公司。

1.4 方法

1.4.1 实时荧光定量聚合酶链反应(qRT-PCR)法 56 例标本分为 4 组,每组 14 例,取新鲜胃癌及癌旁组织使用 qRT-PCR 提取细胞总 RNA。测定 RNA 样本的浓度和纯度(NanoDrop 分光光度计检测 A_{260}/A_{280} 比值,要求 $1.8 \sim 2.1$;琼脂糖凝胶电泳验证 RNA 完整性,确保 28S/18S rRNA 条带清晰)。根据使用说明按 1 000 ng 模板量进行逆转录,将逆转录体系稀释 10 倍,吸取 $2 \mu\text{L}$ 作为定量 PCR 的模板量(内参基因为 GAPDH)。用 EphA10 特异性引物检测基因表达,并按照荧光定量 PCR 试剂盒的说明设置反应条件。每个样品设置 3 个复孔。对照组为胃癌标本的癌旁组织,实验组为胃癌标本。数据分析采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$,取 4 组数据平均值进行绘图。

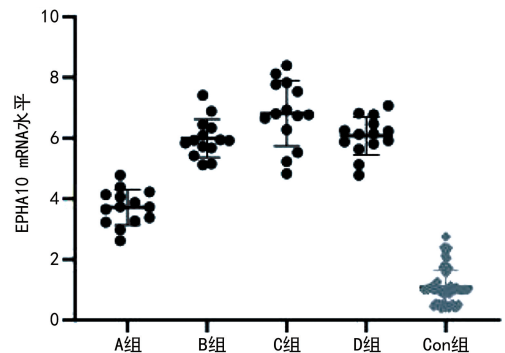
1.4.2 Western blotting 法 根据 TNM 分期不同,各分期中随机选取 2 例进行实验。细胞在冰上裂解,离心提取蛋白质。使用 BCA 法测定每个样品的蛋白质浓度,确保每个蛋白质样品的上样量($30 \mu\text{g}$ 蛋白/孔)相同。电泳条件为十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶(SDS-PAGE)使用 10% 分离胶,80 V 恒压 30 min,后调整为 120 V 直至溴酚蓝迁移至胶底部,电泳后转膜(湿转法,200 mA 90 min),转膜结束后,使用 5% 脱脂牛奶室温封闭。孵育一抗,4 °C 摇床过夜。次日 TBST 洗膜。孵育二抗(1 : 4 000,碧云天),室温摇床 1 h。TBST 洗膜 3 次。使用 ECL 发光液曝光。以上所有实验均进行至少 3 次独立生物学重复。

1.4.3 数据收集 收集患者基本信息,包括年龄(≤ 60 岁 vs. >60 岁)、性别、肿瘤直径(≤ 5 cm vs. >5 cm)、分化程度(高/中/低分化)、浸润深度(T1~T4)、是否出现淋巴结转移(有/无)、是否出现远处转移(有/无)、TNM 分期等(I~IV 期)。

1.5 统计学处理 采用 SPSS27.0 和 GraphPad Prism9.0 软件进行统计分析。分类变量以 $\bar{x} \pm s$ 率或构成比表示,连续变量以 $\bar{x} \pm s$ 表示。连续变量正态性通过 Shapiro-Wilk 检验评估,若满足正态分布($P > 0.05$)且方差齐性(Levene's 检验, $P > 0.05$),组间比较采用独立样本 t 检验(非配对设计),组内比较采用配对样本 t 检验(匹配设计)。通过单因素 Cox 回归筛选潜在预后变量($P < 0.05$ 者纳入多因素模型);多因素 Cox 比例风险模型(进入标准 $P < 0.05$,剔除标准 $P > 0.10$)确定独立预后因素。

2 结果

2.1 qRT-PCR 及 Western blotting 实验结果 qRT-PCR 结果显示,56 对匹配样本中,胃癌组织 EphA10 mRNA 表达水平[(2.30 ± 0.41)倍]显著高于癌旁组织[(1.00 ± 0.18)倍],差异有统计学意义($P < 0.001$)。见图 1。Western blotting 结果显示,胃癌组织 EphA10 蛋白表达量较癌旁组织升高(1.8 ± 0.3)倍,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见图 2、3。



注:A、B、C、D组为癌组织(每组 $n=14$);Con 为统一对照癌旁组织($n=56$)。

图 1 EphA10 mRNA 表达

2.2 影响胃癌患者预后的单因素分析 单因素分析显示,死亡组与生存组在肿瘤浸润深度(T3/T4 vs. T1/T2)、淋巴结转移(是 vs. 否)、分化程度(低分化 vs. 中/高分化)、远处转移(是 vs. 否)、TNM 分期(III/IV 期 vs. I/II 期)及 EphA10 表达水平(连续变量)方面比较,差异均有统计学意义($P < 0.05$);而性别、年龄、肿瘤直径等比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表 1。

2.3 多因素生存分析 将单因素分析中具有统计学意义的变量(浸润深度、淋巴结转移、分化程度、远处转移、TNM 分期及 EphA10 表达水平)纳入多因素 Cox 比例风险模型。参照组设置如下。肿瘤浸润深度(T3/T4):否=0,淋巴结转移:否=0,TNM 分期:I/II 期=0,远处转移:否=0,高/中分化=0。结果一致显示,EphA10 高表达与死亡风险增加显著相关[危险比(HR) ≈ 2.8 , $P=0.001$]。同时,T3/T4 浸润(HR=3.12, $P=0.008$)、淋巴结转移(HR=4.05, $P < 0.001$)、TNM III/IV 期(HR=2.87, $P=0.014$)、远处转移(HR=5.27, $P < 0.001$)及低分化(HR=2.94, $P=0.011$)均为独立的预后因素。在所有模型中,EphA10 高表达均显著增加死亡风险(HR ≈ 2.8 , $P \leq 0.001$)。

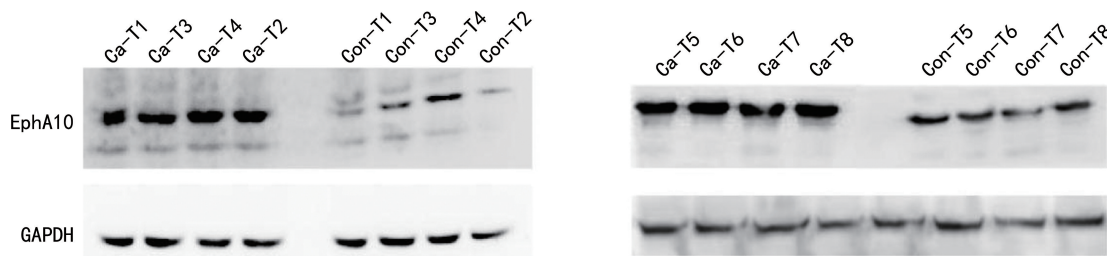
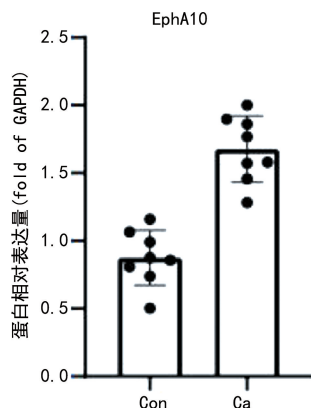


图 2 EphA10 蛋白电泳



注: Con 为癌旁组织 ($n=8$ 对独立样本); Ca 为癌组织 ($n=8$ 对独立样本)。

图 3 EphA10 蛋白电泳组间比较

表 1 EphA10 在胃癌组织中的表达及影响预后的

单因素分析			
因素	死亡组 ($n=14$)	生存组 ($n=42$)	<i>P</i>
性别 [$n(\%)$]	12(85.7)	37(88.1)	0.732
年龄 ≥ 60 岁 [$n(\%)$]	9(64.3)	29(69.0)	0.728
低分化 [$n(\%)$]	11(78.6)	6(14.3)	<0.001
肿瘤浸润深度 [T3/T4, $n(\%)$]	13(92.9)	18(42.9)	0.002
淋巴结转移 [$n(\%)$]	12(85.7)	10(23.8)	<0.001
远处转移 [$n(\%)$]	7(50.0)	2(4.8)	<0.001
肿瘤直径 ≥ 5 cm [$n(\%)$]	8(57.1)	11(26.2)	0.055
TNM III/IV 期 [$n(\%)$]	12(85.7)	18(42.9)	0.002
EphA10 表达量 ($\bar{x} \pm s$)	6.25 \pm 0.38	5.10 \pm 0.52	<0.001

注: 分化程度定义为低分化(G3)、中分化(G2)、高分化(G1); T 分期依据 AJCC 第 8 版标准; EphA10 表达量采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 值表示 (GAPDH 为内参)。

表 2 胃癌患者死亡风险的多因素 Cox 回归分析

模型	变量	HR	95% 可信区间	<i>P</i>
1	EphA10(per SD)	2.85	1.62~5.02	0.001
	肿瘤浸润深度(T3/T4)	3.12	1.35~7.22	0.008
2	EphA10(per SD)	2.78	1.58~4.89	0.001
	淋巴结转移	4.05	1.82~9.01	<0.001
3	EphA10(per SD)	2.93	1.66~5.17	<0.001
	TNM III/IV 期	2.87	1.24~6.64	0.014
4	EphA10(per SD)	2.81	1.60~4.94	0.001
	远处转移	5.27	2.21~12.57	<0.001
5	EphA10(per SD)	3.05	1.73~5.38	<0.001
	低分化	2.94	1.28~6.75	0.011

注: 每个模型仅包含 EphA10 和 1 个临床变量, 避免小样本过拟合; EphA10 经 Z-score 标准化(均值为 5.76, SD=0.51); 样本量: $n=56$ (死亡事件 14 例)。

3 讨论

Eph 受体作为 RPTKs 中的一大类, 与恶性肿瘤的发生发展息息相关, Eph 受体通过多种不同的信号通路影响肿瘤细胞增殖、迁移、凋亡。Ehp/Ephrin 与多种细胞表面受体、表面通道和黏附分子联系, 且在信号传导中有一重要特征: 双向传导信号, Ephs 受体和肾素受体相互作用诱导 Eph 受体的正向传导, 同时可由肾素激活反向信号。多项研究证实 Ehp/Ephrin 双向信号在癌症发生发展等多个方面起重要作用^[4]。EphA10 作为 Eph 受体中的一份子, 与其他亚型相同的是, 可能通过 Ehp/Ephrin 双向信号影响肿瘤细胞间的黏附与分离^[5]。然而 EphA10 与其他 Eph 受体不同的是, 其缺乏必要的催化残基, 属于假激酶。但是有学者发现, EphA10 假结构域与 ATP 有结合倾向, 这表明 I 型或 II 型激酶抑制剂均可与之结合, 增加了分子靶向治疗的可能^[6], 这意味着 EphA10 可作为一种新的癌症治疗靶点。

有研究显示, 多种 Eph 蛋白在胃癌中表达异常, 包括 EphA1~4, EphB1、2、4^[4,7-8]。多种 Eph 基因在胃癌中的高表达意味着胃癌进展和转移受到更加复杂的基因调控。Eph-Ephrin 结合可以影响 G 蛋白及三磷酸鸟苷结合蛋白(Rho GTP 酶)信号转导, 这一过程可以调节肌动蛋白细胞骨架, 从而影响细胞的形态、黏附、迁移和侵袭^[9]。Eph-Ephrin 还参与血管发育, Eph-Ephrin 上调可促进肿瘤的血管发育, 目前已能证实 EphA2、EphA3、EphB4 参与肿瘤血管生成, 其中 EphA3 表达增加与血管内皮生长因子呈正相关^[4]。在癌症进展中, 血管发育在转移及侵袭中起着重要的作用, 例如, 既往的研究证明, 在上皮性卵巢肿瘤中, 高级别肿瘤中的 EphB 表达明显高于低级别肿瘤, 其表达量与肿瘤的侵袭性呈正相关, 且与肿瘤的微血管密度密切相关^[9]。上述表明 Eph-Ephrin 的异常表达可通过多个方面, 尤其是影响血管生成来达到促进癌症发生的目的, 这一过程可通过癌细胞和肿瘤相关内皮细胞之间的信号传导来实现^[10]。在本研究中, 癌组织中 EphA10 的表达明显高于癌旁组织, 证明 EphA10 表达参与胃癌进展。单因素及 Cox 回归结果均提示 EphA10 可影响胃癌患者的预后, 分析数据可知, EphA10 表达较高的患者其 TNM 分期较高且分化程度较低, 这在一定程度上反映出 EphA10 高表达可提升肿瘤侵袭能力, 除此之外, 同样作为独立

预后影响因素的还有浸润较深、低分化、出现远处转移及淋巴结转移等,这些结果之间相互关联,验证 EphA10 高表达与严重的临床症状相关,共同促进肿瘤发展恶化,造成不良预后。

EphA10 不仅在胃癌中表达,同样在浸润性乳腺癌、肺癌、胰腺癌及卵巢癌中均有高表达^[11-12]。各项研究中 EphA10 对肿瘤细胞发生和发展的影响各有不同。EphA10 在浸润性乳腺癌中下调,导致膜细胞中 β -链蛋白(β -catenin)聚集能力减弱,从而使癌细胞的侵袭能力增强,EphA10 还可通过重新分布使 E-钙黏蛋白(E-cadherin)的稳定性下降从而介导浸润性乳腺癌进展^[5,13]。在肺腺癌中 EphA10 激活丝裂原活化蛋白激酶/细胞外调节蛋白激酶(MAPK/ERK)通路,从而驱动肺腺癌进展^[14]。EphA10 在胰腺癌中的过度表达会使肿瘤中 Ki-67 阳性率增高,同时其表达增加会使基质金属蛋白酶 9(MMP-9)和血管生成增加,证明 EphA10 影响胰腺癌细胞侵袭和转移^[15]。

Eph 家族庞大且神秘,EphA10 作为其中鲜有研究的一员,其对胃癌发生发展的机制仍需进一步探索。本实验当前研究样本量较小,且可能受限于单中心数据,结论的普适性需待进一步实验证明,后续需扩大样本量并延长随访时间,以验证 EphA10 与胃癌预后的关联性,尤其是其对不同分子亚型(如 HER2+、EB 病毒相关胃癌)的特异性影响;本研究现有数据多为临床相关性分析,缺乏功能实验(如基因敲除/过表达、动物模型)验证 EphA10 在胃癌中的因果作用。需构建体外/体内模型探究其对胃癌细胞增殖、侵袭的影响,并明确其是否通过 Ephrin 依赖或非依赖途径发挥作用。

综上所述,EphA10 的高表达可能是促进胃癌发生发展的重要因素之一。EphA10 可能成为未来胃癌患者新的靶向治疗点。

参考文献

- [1] FERLAY J, SOERJOMATARAM I, DIKSHIT R, et al. Cancer incidence and mortality worldwide; sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012[J]. *Int J Cancer*, 2015, 136(5): E359-E386.
- [2] ZHANG S P, ZHENG Y, FANG Y, et al. Regulation of regulatory T cells and tumor-associated macrophages in gastric cancer tumor microenvironment[J]. *Cancer Med*, 2024, 13(2): e6959.
- [3] NASRI B, INOKUCHI M, ISHIKAWA T, et al. High expression of EphA3 (erythropoietin-producing hepatocellular A3) in gastric cancer is associated with metastasis and poor survival[J]. *BMC Clin Pathol*, 2017, 17(8): 28465671.
- [4] XI H Q, WU X S, WEI B, et al. Eph receptors and ephrins

as targets for cancer therapy[J]. *J Cell Mol Med*, 2012, 16(12): 2894-2909.

- [5] LI Y, JIN L, YE F, et al. Isoform expression patterns of EPHA10 protein mediate breast cancer progression by regulating the E-cadherin and β -catenin complex[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(18): 30344-30356.
- [6] LIANG L Y, ROY M, HORNE C R, et al. The intracellular domains of the EphB6 and EphA10 receptor tyrosine pseudokinases function as dynamic signalling hubs[J]. *Biochem J*, 2021, 478(17): 3351-3371.
- [7] MIYAZAKI K, INOKUCHI M, TAKAGI Y, et al. EphA4 is a prognostic factor in gastric cancer[J]. *BMC Clin Pathol*, 2013, 13(1): 19.
- [8] OKI M, YAMAMOTO H, TANIGUCHI H, et al. Overexpression of the receptor tyrosine kinase EphA4 in human gastric cancers[J]. *World J Gastroenterol*, 2008, 14(37): 5650-5656.
- [9] CASTELLVI J, GARCIA A, DE LA TORRE J, et al. Ephrin B expression in epithelial ovarian neoplasms correlates with tumor differentiation and angiogenesis[J]. *Hum Pathol*, 2006, 37(7): 883-889.
- [10] PHAN N N, LIU S R, WANG C Y, et al. Overexpressed gene signature of EPH receptor A/B family in cancer patients-comprehensive analyses from the public high-throughput database[J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2020, 13(5): 1220-1242.
- [11] CHA J H, CHAN L C, WANG Y N, et al. Ephrin receptor A10 monoclonal antibodies and the derived chimeric antigen receptor T cells exert an antitumor response in mouse models of triple-negative breast cancer[J]. *J Biol Chem*, 2022, 298(4): 101817.
- [12] PENG J, ZHANG D H. Coexpression of EphA10 and Gli3 promotes breast cancer cell proliferation, invasion and migration[J]. *J Investig Med*, 2021, 69(6): 1215-1221.
- [13] NAGANO K Z A, KANASAKI S I, YAMASHITA T K A, et al. Expression of Eph receptor A10 is correlated with lymph node metastasis and stage progression in breast cancer patients[J]. *Cancer Med*, 2013, 2(6): 972-977.
- [14] ZHAO W Y, LIU L, LI X H, et al. EphA10 drives tumor progression and immune evasion by regulating the MAPK/ERK cascade in lung adenocarcinoma[J]. *Int Immunopharmacol*, 2022, 110: 109031.
- [15] SHIN W S, PARK M K, LEE Y H, et al. The catalytically defective receptor protein tyrosine kinase EphA10 promotes tumorigenesis in pancreatic cancer cells[J]. *Cancer Sci*, 2020, 111(9): 3292-3302.

(收稿日期: 2025-04-18 修回日期: 2025-10-23)