

DOI:10. 11798/j. issn. 1007-1520. 201801008

· 论 著 ·

EphA2 经 P-糖蛋白调控鼻咽癌紫杉醇敏感性的实验研究

卢善翊,王芸芸,李 果,刘 超,余 笠,魏 明,张叠阔,黄东海,张 欣,田勇泉,邱元正,刘 勇
(中南大学湘雅医院 耳鼻咽喉头颈外科 耳鼻咽喉重大疾病研究湖南省重点实验室,湖南 长沙 410008)

摘 要: **目的** 探讨 EphA2 经 P-糖蛋白 (P-glycoprotein, P-gp) 调控鼻咽癌紫杉醇耐药性的分子机制。**方法** 使用慢病毒载体在鼻咽癌细胞中沉默或过表达 EphA2, Western blotting 检测 P-gp 蛋白的表达变化; siRNA 干扰沉默 P-gp 表达, CCK8 法检测 P-gp 蛋白在 EphA2 介导的鼻咽癌紫杉醇耐药中的作用; 小分子化合物 LY294002 阻断 PI3K/Akt 信号通路, 观察该通路在 EphA2 调控 P-gp 表达中的作用。**结果** P-gp 在 EphA2 沉默组中表达下调, 过表达组中上升; 紫杉醇作用于空白对照组、阴性对照组和 P-gp 沉默组的细胞存活率分别是 (68.9 ± 4.0)%、(72.4 ± 6.2)% 和 (52.1 ± 3.7)%, P-gp 沉默组对紫杉醇的耐药性较空白和阴性对照组降低 ($P < 0.05$); 在过表达 EphA2 的鼻咽癌细胞中下调 P-gp 表达, 紫杉醇刺激后, P-gp 沉默组的存活率 (36.1 ± 5.1)% 显著低于空白对照组 (57.9 ± 6.2)% 和阴性对照组 (58.2 ± 5.8)% ($P < 0.05$); 在 EphA2 过表达鼻咽癌细胞中, 给予抑制剂 LY294002 使用后, Akt 总量无明显改变而磷酸化的 Akt 表达下降, 且 P-gp 表达下降。**结论** EphA2 通过 P-gp 依赖性途径促进鼻咽癌紫杉醇耐药, 且 P-gp 蛋白的表达增高与 EphA2 活化 PI3K/Akt 有关。

关 键 词: EphA2; P-糖蛋白; 紫杉醇; 耐药; 鼻咽癌
中图分类号: R739. 63 **文献标识码:** A [中国耳鼻咽喉颅底外科杂志, 2018, 24(1): 33–38]

EphA2 promotes paclitaxel resistance via P-gp in nasopharyngeal carcinoma in vitro

LU Shan-hong, WANG Yun-yun, LI Guo, LIU Chao, SHE Li, WEI Ming, ZHANG Die-kuo,
HUANG Dong-hai, ZHANG Xin, TIAN Yong-quan, QIU Yuan-zheng, LIU Yong
(Department of Otorhinolaryngology Head and Neck Surgery, Xiangya Hospital, Central South University, Key Laboratory of Otolaryngology Major Disease Research of Hunan Province, Changsha 410008, China)

Abstract: **Objective** To investigate the role of P-glycoprotein (P-gp) in EphA2-mediated paclitaxel resistance in nasopharyngeal carcinoma (NPC) in vitro. **Methods** EphA2 expression in NPC cell lines was modulated by lentiviral vector, P-gp expression was detected by western blotting accordingly. P-gp was down-regulated in normal or EphA2 overexpressed NPC cell lines and its survival rate after paclitaxel treatment was determined by CCK-8. PI3K/Akt specific inhibitor LY294002 was added to EphA2 up-regulated NPC cells, the expressions of Akt, p-Akt and P-gp were determined by western blotting after 48h paclitaxel treatment. **Results** The expression of P-gp was down-regulated in the normal EphA2 group and up-regulated in the overexpressed EphA2 group. After paclitaxel treatment, the survival rate of NPC cells in P-gp knock down group (52.1 ± 3.7%) was significantly lower than those of the negative control group (72.4 ± 6.2%) and blank control group (68.9 ± 4.0%) (both $P < 0.05$). Similar results were also observed in overexpressed EphA2 group [(36.1 ± 5.1%) vs (58.2 ± 5.8%); (36.1 ± 5.1%) vs (57.9 ± 6.2%)] (both $P < 0.05$). In paclitaxel treated EphA2 overexpressed NPC cell line, LY-294002 inhibited the expressions of p-Akt and P-gp but not that of total Akt. **Conclusion** EphA2 modulates paclitaxel resistance in NPC cells via regulation of P-gp, and PI3K/Akt path way may be involved in this process.

Key words: EphA2; P-gp; Paclitaxel; Chemoresistance; Nasopharyngeal neoplasm
[Chinese Journal of Otorhinolaryngology-Skull Base Surgery, 2018, 24(1): 33–38]

基金项目:国家自然科学基金(81372426,81773243,81602684,81772903);湖南省自然科学基金(2015JJ3137)。
作者简介:卢善翊,男,在读博士研究生。
通信作者:刘 勇,Email: liuyongent@csu.edu.cn

紫杉醇(paclitaxel)于1992年被美国FDA批准用于恶性肿瘤的临床治疗,目前已是乳腺癌、肺癌、卵巢癌和鼻咽癌等多种恶性肿瘤的一线化疗药物^[1-4],显示出良好的临床治疗效果。但治疗过程中产生的内源性和获得性耐药以及高剂量所致的毒副作用,在一定程度上限制了紫杉醇的临床应用^[5]。因此,明确紫杉醇耐药的分子机制有望改善其临床耐药性的产生,提高临床疗效。促红细胞生成素产生肝细胞受体A2(erythropoietin producing hepatocellular receptor A2,EphA2)作为肿瘤转移密切相关蛋白,可通过影响肿瘤血管新生和上皮-间质转化等,调控恶性肿瘤的侵袭转移^[6-8]。至于EphA2在肿瘤化疗耐药中的作用,近年来研究发现EphA2可在卵巢癌中促进紫杉醇耐药性的产生^[9],我们前期的研究亦发现EphA2可促进鼻咽癌细胞的紫杉醇耐药^[10-11],然而其引起紫杉醇耐药的分子机制并不清楚。P-糖蛋白(P-glycoprotein,P-gp)是由多药耐药基因ABCB1编码的170KD的跨膜糖蛋白,具有能量依赖性“药泵”功能,可将包括紫杉醇在内的多种化疗药物外排出肿瘤细胞,促进肿瘤耐药性的产生^[12-13]。然而,P-gp是否在EphA2介导的紫杉醇耐药中发挥作用及其机制有待于深入研究。本研究在体外试验中探讨EphA2如何调控P-gp蛋白的表达进而影响鼻咽癌细胞的紫杉醇耐药。

1 材料与方法

1.1 材料

改良型RMPI-1640细胞培养基,南美胎牛血清,0.25%胰蛋白酶消化液(含乙二胺四乙酸)(Hyclone,美国),双抗(青霉素-链霉素,Gibco,美国),EphA2 shRNA慢病毒颗粒,copGFP Control慢病毒颗粒,Control shRNA慢病毒颗粒,EphA2 cDNA慢病毒颗粒,eGFP-control慢病毒颗粒(广州复能基因有限公司),polybrene,P-gp siRNA(h) sc-29395、对照siRNA-A sc-37007、siRNA稀释液 sc-29527、siRNA转染试剂 sc-29528、siRNA转染培养基 sc-36868(Santa Cruz,美国),嘌呤霉素(Sigma-Aldrich,美国),兔抗人EphA2多克隆抗体,Akt/pAkt兔抗人多克隆抗体,PI3-K/Akt抑制剂LY294002(Cell Signaling Technology,美国),Cell Counting Kit-8(CCK-8)检测试剂盒,小鼠抗人 β -actin单克隆抗体(上海碧云天生物技术研究),P-gp鼠抗人多克隆抗体,PVDF膜(EMD Millipore Corporation,美国),紫杉醇

(BMS,美国)。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养 本研究所采用的5-8F和CNE-2细胞为鼻咽部低分化鳞癌细胞,由中南大学湘雅医院耳鼻咽喉头颈外科实验室提供。该细胞株在37℃、5% CO₂及饱和湿度条件下,用含有10%特级胎牛血清、100 U/ml青霉素和100 U/ml链霉素的改良型RMPI-1640细胞培养基进行培养,常规0.25%胰蛋白酶消化传代。所有试验均选用处于对数生长期的细胞。

1.2.2 慢病毒转染及稳转细胞的筛选 鼻咽癌细胞(CNE-2或5-8F)制成细胞混匀液,计数后接种于6孔板,按MOI=10加入copGFP Control慢病毒颗粒,5 μ g/ml Polybrene进行慢病毒感染,16 h后更换成新鲜完全培养基3 d后,5 μ g/ml嘌呤霉素进行2周筛选后,Western blotting方法验证EphA2蛋白的表达。各转染实验均分为3组:①空白对照组(未进行转染的亲本细胞,Blank);②阴性对照组(转染空白载体的细胞,negative control,NC);③实验组(转染shRNA或cDNA的稳转株)。

1.2.3 P-gp siRNA瞬时转染及转染效率验证 鼻咽癌细胞(CNE-2或5-8F)制成细胞混匀液,计数后接种于6孔板,将siRNA和转染试剂按比例混匀静置,20 min后分别加入相应各孔,6 h后更换新鲜培养基,72 h后Western blotting方法验证P-gp蛋白的沉默效率。

1.2.4 蛋白印迹法(Western blotting) RIPA裂解液提取各组细胞总蛋白,二喹啉甲酸法(bicinchoninic acid,BCA)测定细胞总蛋白浓度。50 μ g总蛋白变性处理后,进行10%十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶(SDS-PAGE)电泳。蛋白电泳分离后转膜至聚偏二氟乙烯(PVDF)膜,5%脱脂牛奶封闭2 h。将抗EphA2(1:400)、抗Akt/pAkt(1:1 000)、抗P-gp(1:400)抗体于4℃下孵育过夜。洗膜后,辣根过氧化物酶标记的二抗(1:3 000)室温下孵育1 h。洗膜后,经化学发光剂显影曝光摄片。以小鼠抗人 β -actin抗体(1:2 000)检测 β -actin含量作为内参照^[13-14]。

1.2.5 CCK-8法检测紫杉醇作用后鼻咽癌细胞生存率 细胞混匀液计数后接种于96孔板,静置待细胞贴壁。生理盐水溶解紫杉醇至1 000 nM,培养基依次梯度稀释至40、30、20、10、5、1、0.1、0.01、0.001、0 nM,并加入对应各孔中。48 h后,吸去每孔中的培养基,加入含10% CCK8的培养基,于

37℃培养箱中孵育 1 h 后测 OD450, 计算紫杉醇 IC50 值。实验重复 3 次并取平均值。再将所得紫杉醇 IC50 浓度分别作用于相应实验组及对照组, 得到各组紫杉醇 IC50 浓度下的存活率。

1.3 统计学分析

用 SPSS 17.0 统计软件进行分析, 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示。采用多样本均数的方差分析进行组间样本均数的比较。所有检验均为双侧检验, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 EphA2 促进鼻咽癌细胞 P-gp 蛋白的表达

为探讨 EphA2 与 P-gp 蛋白之间是否存在调控关系, 我们采用慢病毒技术 (shRNA) 在鼻咽癌细胞株 5-8F 和 CNE-2 细胞中抑制 EphA2 表达, Western blotting 检测 P-gp 蛋白表达变化。结果表明, 相比于阴性对照组和空白对照组, 两种细胞株的 EphA2 沉默组 (EphA2 shRNA) P-gp 蛋白均明显下调 (图 1A), 而两对照组之间无显著差异。为进一步证实, 我们在 5-8F 细胞中转染 EphA2 cDNA, EphA2 过表达组的 P-gp 蛋白水平较对照组均有显著上调 (图 1B)。上述结果表明, EphA2 可促进鼻咽癌细胞 P-gp 蛋白的表达。

2.2 P-gp 蛋白抑制可逆转 EphA2 介导的紫杉醇耐药

为进一步研究 EphA2 与 P-gp 蛋白的调控通路对鼻咽癌紫杉醇耐药的影响, 我们首先验证 P-gp 蛋

白表达量与细胞紫杉醇敏感度的相关性, siRNA 抑制 5-8F 细胞 P-gp 蛋白的表达后 (图 2A), 给予紫杉醇刺激 48 h 后, P-gp 蛋白沉默组的细胞存活率为 $(52.1 \pm 3.7)\%$, 空白对照组为 $(8.9 \pm 4.0)\%$, 阴性对照组为 $(72.4 \pm 6.2)\%$, P-gp 蛋白沉默组对紫杉醇的敏感性较两对照组显著增高 ($P < 0.05$) (图 2B)。在此基础上, 为明确 EphA2 是否通过调控 P-gp 蛋白介导鼻咽癌的紫杉醇耐药, 我们在上述过表达 EphA2 的 5-8F 稳转株中, 通过 siRNA 技术下调 P-gp 蛋白表达 (图 2C), 并给予紫杉醇刺激。CCK8 法检测发现, 在 EphA2 过表达的细胞中, P-gp 蛋白沉默组的存活率 $(36.1 \pm 5.1)\%$ 显著低于空白对照组 $(57.9 \pm 6.2)\%$ 和阴性对照组 $(58.2 \pm 5.8)\%$ ($P < 0.05$) (图 2D), 证实 EphA2 可经 P-gp 蛋白调控鼻咽癌紫杉醇的耐药性。

2.3 EphA2 经 PI3K/Akt 通路增强 P-gp 蛋白表达

我们的前期研究发现 PI3K/Akt 是 EphA2 调控鼻咽癌紫杉醇耐药行为的信号通路之一^[11]。同时相关文献也证实在急性髓系白血病, 胶质瘤等多种恶性肿瘤中, PI3K/Akt 抑制剂可逆转 P-gp 蛋白介导的多种药物耐药性^[14-15]。为证实 PI3K/Akt 通路是否可以调控鼻咽癌 P-gp 蛋白表达, 我们在过表达 EphA2 的 5-8F 细胞中使用 LY294002 抑制 PI3K/Akt 通路, 给予 20 nM LY294002 作用鼻咽癌细胞后, 并分别予以紫杉醇刺激。结果表明, 实验组相对于对照组, 总 Akt 表达无明显变化, 而 pAKT 显著下调, P-gp 蛋白表达亦下降 (图 3)。因而, PI3K/Akt 通路参与了 EphA2 对 P-gp 蛋白表达的调控。

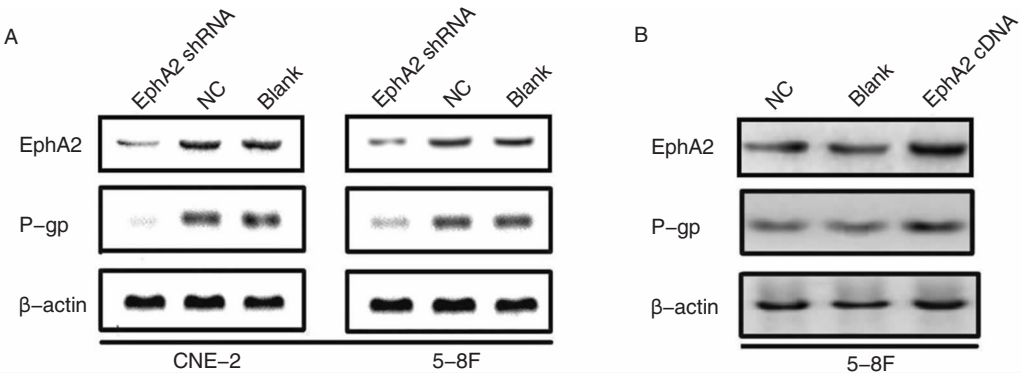


图 1 慢病毒载体介导的 EphA2 沉默或过表达鼻咽癌细胞株中 P-gp 蛋白表达水平变化 A: 在 CNE-2 和 5-8F 细胞株中, 用 shRNA 沉默 EphA2 表达, P-gp 蛋白表达下调; B: 在 5-8F 细胞株中, 过表达 EphA2 组 (EphA2 cDNA) P-gp 蛋白表达相应上升

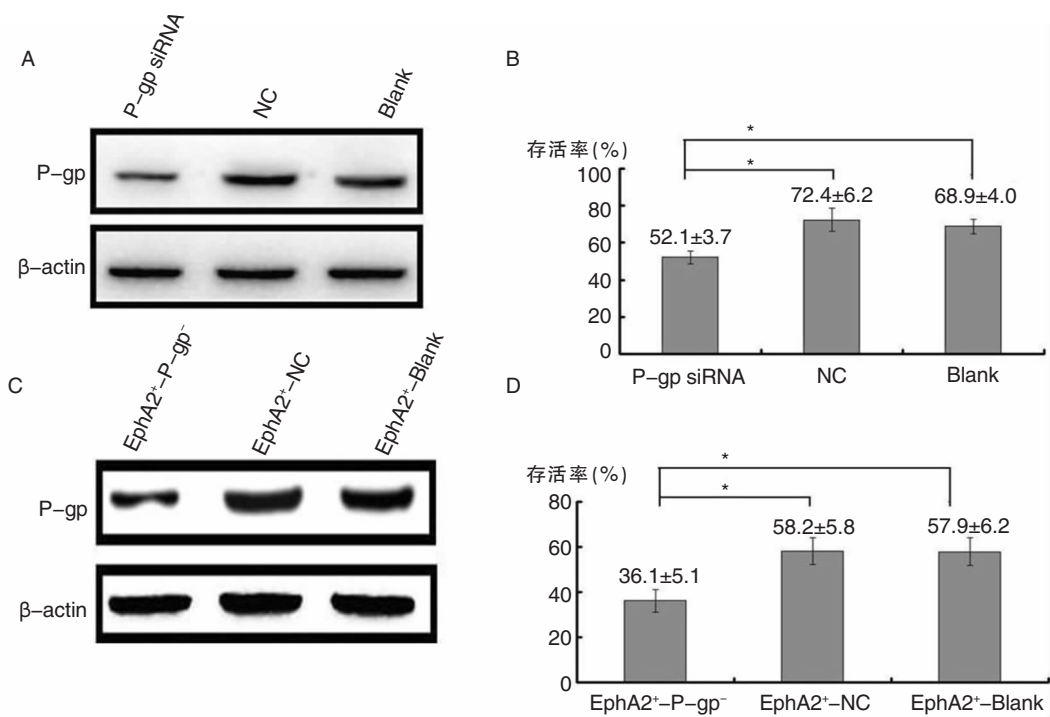


图 2 下调 P-gp 蛋白降低鼻咽癌 5-8F 细胞株及过表达 EphA2 的 5-8F 细胞株的紫杉醇耐药性 在 5-8F 细胞株中下调 P-gp A:Western blot 结果示:P-gp 蛋白表达成功下调;B:0.1nM 紫杉醇作用 48 h 后, P-gp siRNA 组细胞存活率较对照组显著下降;同理,在过表达 EphA2 的 5-8F 细胞株中下调 P-gp;C:Western blot 结果示:EphA2⁺-P-gp⁻ 组蛋白表达水平显著下降;D:予以各组 5nM 紫杉醇处理 48 h,EphA2⁺-P-gp⁻ 细胞存活率较两对照组显著下降

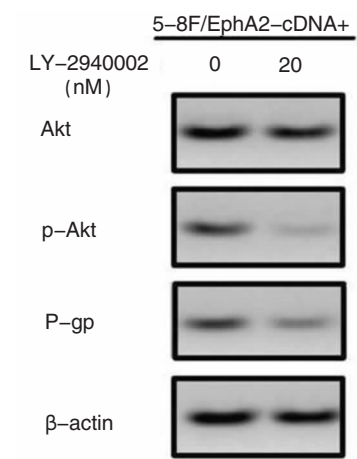


图 3 在紫杉醇处理的 EphA2 过表达 5-8F 细胞中,抑制 PI3k/Akt 通路可下调 P-gp 蛋白表达

3 讨论

癌基因 EphA2 在多种实体瘤中存在高表达及功能异常^[16-18]。现有研究多关注 EphA2 如何促进肿瘤侵袭转移,发现 EphA2 能诱导上皮-间质转化^[19]和肿瘤血管新生^[20]等作用,从而加速肿瘤的侵袭转移。近年来,利用 EphA2 在肿瘤细胞中特异

性高表达的特性,有学者采用了如下 3 种策略来解决化疗药物的毒性和过敏反应等临床问题:①构建与 EphA2 天然配体 Ephrin-A1 连接的嵌合蛋白(PE38QQR 外毒素蛋白),靶向 EphA2 阳性的乳腺癌、前列腺癌和脑胶质瘤,显示出乐观的肿瘤靶向杀伤作用^[14-15];②将化疗药物如一甲基澳瑞他汀(monomethyl auristatin, MMAE)与 EphA2 单克隆抗体偶联,亦能提高对 EphA2 阳性肿瘤细胞的靶向性,表现出较好的抗肿瘤效果^[14-15]。上述两种基于蛋白质的靶向治疗模式虽具有乐观的抗肿瘤效果,但仍具有免疫原性可致过敏反应^[21];③为克服外源性蛋白分子所致的免疫原性,构建 YSA 短肽(氨基酸序列:YSAYPDSVPMMS)^[22]和 YNH 短肽(氨基酸序列:YSAYPDSVP-Nle-Hsr-S)^[23]与紫杉醇的偶联分子,能有效地向肿瘤组织运送紫杉醇药物,达到靶向化疗的作用,且这些短肽竞争性结合了 EphA2 受体,阻断了其配体 Ephrin-A1 对 EphA2 通路的活化,抑制其癌基因效应。

上述研究均利用 EphA2 在肿瘤细胞中的高表达,将其作为抗肿瘤化疗药物靶向运输的有效分子靶点,抑制 EphA2 表达可显著提高如 BRAF 抑制剂^[24],EGFR 抑制剂^[25]及顺铂^[26]等的肿瘤杀伤作

用。然而,现有研究表明 EphA2 受体蛋白本身在紫杉醇化疗药物耐受过程中具有调控作用。Landen 等^[9]沉默 EphA2 在卵巢癌中的表达,在体内外试验中均可显著提高卵巢癌细胞对紫杉醇的药物敏感性。我们前期研究亦发现 EphA2 在鼻咽癌细胞中的表达显著升高,在诱导鼻咽癌细胞侵袭转移的同时,促进了紫杉醇耐药^[10-11]。但上述研究仅发现 EphA2 对紫杉醇耐药具有调控作用的表型,其具体分子机理并不清楚。

P-gp 蛋白在多种恶性肿瘤组织中的表达升高,为 ABC 转运体(ATP-binding cassette transporter)蛋白成员之一,为 ATP 能量依赖性的跨膜转运蛋白,介导内源性物质、药物和环境毒物的外排,从而降低细胞内药物浓度,在肿瘤细胞多药耐药中具有重要作用^[12, 27]。在本研究中,我们首先通过功能获得和缺失实验发现 EphA2 能通过调控 P-gp 蛋白的表达,从而发挥对鼻咽癌细胞紫杉醇耐药的调控作用。该结果目前未见研究报道,因而我们继续探讨 EphA2 如何调控 P-gp 蛋白的表达参与紫杉醇耐药。

EphA2 作为跨膜胞膜受体蛋白,可通过改变磷酸肌醇 3 激酶 PI3K 和丝裂原活化蛋白激酶 MAPK 等信号通路发挥作用^[28-29]。我们在前期研究中发现 EphA2 能活化 PI3K/Akt 信号通路^[11],而该通路的活化可促进 P-gp 蛋白的表达和紫杉醇耐药^[30]。因此我们进一步在体外试验中,通过 PI3K 通路小分子抑制剂 LY294002,阻断 EphA2 所致的 PI3K/Akt 通路活化,发现 LY294002 可逆转 EphA2 所致的 P-gp 蛋白升高。该结果结合我们前期研究提示 EphA2 可活化 PI3K/Akt 通路促进耐药基因 P-gp 蛋白的表达和紫杉醇耐药^[11]。

本研究结合目前研究进展均表明,EphA2 一方面可参与到紫杉醇化疗耐药的调控过程,另一方面可作为有效的化疗药物运输分子靶点。针对 EphA2 构建不同类型的药物靶向运输系统,可提供紫杉醇等化疗药物在肿瘤组织中的靶向蓄积;且该系统可竞争性结合 EphA2 受体,可阻断其作为癌基因活化后的后续效应,达到双重紫杉醇化疗药物增敏效果。但 EphA2 能否成为有效的紫杉醇增敏靶点,仍有待于进一步分子机制研究和在体内实验中进行佐证。

参考文献:

[1] Kamisawa T, Wood LD, Itoi T, et al. Pancreatic cancer[J]. *Lancet*, 2016, 388(10039): 73-85.

[2] Crown J, O'Leary M. The taxanes; an update[J]. *Lancet*, 2000, 355(9210): 1176-1178.

[3] Bradley JD, Paulus R, Komaki R, et al. Standard-dose versus high-dose conformal radiotherapy with concurrent and consolidation carboplatin plus paclitaxel with or without cetuximab for patients with stage IIIA or IIIB non-small-cell lung cancer (RT0617): a randomised, two-by-two factorial phase 3 study[J]. *Lancet Oncol*, 2015, 16(2): 187-199.

[4] Symonds RP, Gourley C, Davidson S, et al. Cediranib combined with carboplatin and paclitaxel in patients with metastatic or recurrent cervical cancer (CIRCCA): a randomised, double-blind, placebo-controlled phase 2 trial[J]. *Lancet Oncol*, 2015, 16(15): 1515-1524.

[5] Yusuf RZ, Duan Z, Lamendola DE, et al. Paclitaxel resistance: molecular mechanisms and pharmacologic manipulation[J]. *Curr Cancer Drug Targets*, 2003, 3(1): 1-19.

[6] 刘勇, 张欣, 余长云, 等. EphA2 调控头颈部鳞状细胞癌血管新生及转移的体内实验[J]. *中华耳鼻咽喉头颈外科杂志*, 2012, 47(1): 53-57.

Liu Y, Zhang X, Yu C, et al. EphA2 promotes angiogenesis and metastasis of head and neck squamous cell carcinoma in vivo[J]. *Chinese Journal of Otorhinolaryngology Head and Neck Surgery*, 2012, 47(1): 53-57.

[7] 栗忠武, 刘勇, 余长云, 等. EphA2 与 VEGF 蛋白在喉鳞癌组织中的表达及相关性研究[J]. *中国耳鼻咽喉颅底外科杂志*, 2012, 18(4): 258-263.

Su ZW, Liu Y, Yu CY, et al. The expression and correlation of EphA2 and VEGF protein in laryngeal squamous cell carcinoma[J]. *Chinese Journal of Otorhinolaryngology-skull Base Surgery*, 2012, 18(4): 258-263.

[8] 任舒灵, 刘勇, 李果, 等. EphA2 蛋白调控鼻咽癌紫杉醇敏感性的实验研究[J]. *中国耳鼻咽喉颅底外科杂志*, 2013, 19(1): 28-31, 37.

Ren SL, Liu Y, Li G, et al. Mediation of paclitaxel sensitivity with EphA2 protein in nasopharyngeal carcinoma in vitro[J]. *Chinese Journal of Otorhinolaryngology-Skull Base Surgery*, 2013, 19(1): 28-31, 37.

[9] Landen CJ, Chavez-Reyes A, Bucana C, et al. Therapeutic EphA2 gene targeting in vivo using neutral liposomal small interfering RNA delivery[J]. *Cancer Res*, 2005, 65(15): 6910-6918.

[10] Tan P, Liu Y, Yu C, et al. EphA2 silencing in nasopharyngeal carcinoma leads to decreased proliferation, invasion and increased sensitization to paclitaxel[J]. *Oncol Lett*, 2012, 4(3): 429-434.

[11] Wang Y, Liu Y, Li G, et al. EphrntypeA receptor 2 regulates sensitivity to paclitaxel in nasopharyngeal carcinoma via the phosphoinositide 3kinase/Akt signalling pathway[J]. *Mol Med Rep*, 2015, 11(2): 924-930.

[12] Pallis M, Turzanski J, Higashi Y, et al. P-glycoprotein in acute myeloid leukaemia: therapeutic implications of its association with both a multidrug-resistant and an apoptosis-resistant phenotype[J]. *Leuk Lymphoma*, 2002, 43(6): 1221-1228.

[13] Li W, Zhang H, Assaraf YG, et al. Overcoming ABC transporter-

- mediated multidrug resistance: Molecular mechanisms and novel therapeutic drug strategies[J]. Drug Resist Updat,2016,27:14 – 29.
- [14] Sun XL, Xu ZM, Ke YQ, et al. Molecular targeting of malignant glioma cells with an EphA2-specific immunotoxin delivered by human bone marrow-derived mesenchymal stem cells[J]. Cancer Lett,2011,312(2):168 – 177.
- [15] Wykosky J, Gibo DM, Debinski W. A novel, potent, and specific ephrinA1-based cytotoxin against EphA2 receptor expressing tumor cells[J]. Mol Cancer Ther,2007,6(12 Pt 1):3208 – 3218.
- [16] Cui XD, Lee MJ, Kim JH, et al. Activation of mammalian target of rapamycin complex 1 (mTORC1) and Raf/Pyk2 by growth factor-mediated Eph receptor 2 (EphA2) is required for cholangiocarcinoma growth and metastasis[J]. Hepatology,2013,57(6):2248 – 2260.
- [17] Brantley-Sieders DM, Zhuang G, Hicks D, et al. The receptor tyrosine kinase EphA2 promotes mammary adenocarcinoma tumorigenesis and metastatic progression in mice by amplifying ErbB2 signaling[J]. J Clin Invest,2008,118(1):64 – 78.
- [18] Amato KR, Wang S, Hastings AK, et al. Genetic and pharmacologic inhibition of EPHA2 promotes apoptosis in NSCLC[J]. J Clin Invest,2014,124(5):2037 – 2049.
- [19] Huang J, Xiao D, Li G, et al. EphA2 promotes epithelial-mesenchymal transition through the Wnt/beta-catenin pathway in gastric cancer cells[J]. Oncogene,2014,33(21):2737 – 2747.
- [20] Fang WB, Brantley-Sieders DM, Parker MA, et al. A kinase-dependent role for EphA2 receptor in promoting tumor growth and metastasis[J]. Oncogene,2005,24(53):7859 – 7868.
- [21] Jackson D, Gooya J, Mao S, et al. A human antibody-drug conjugate targeting EphA2 inhibits tumor growth in vivo[J]. Cancer Res,2008,68(22):9367 – 9374.
- [22] Wang S, Placzek WJ, Stebbins JL, et al. Novel targeted system to deliver chemotherapeutic drugs to EphA2-expressing cancer cells[J]. J Med Chem,2012,55(5):2427 – 2436.
- [23] Wu B, Wang S, De SK, et al. Design and Characterization of Novel EphA2 Agonists for Targeted Delivery of Chemotherapy to Cancer Cells[J]. Chem Biol,2015,22(7):876 – 887.
- [24] Miao B, Ji Z, Tan L, et al. EPHA2 is a mediator of vemurafenib resistance and a novel therapeutic target in melanoma[J]. Cancer Discov,2015,5(3):274 – 287.
- [25] De Robertis M, Loiacono L, Fusilli C, et al. Dysregulation of EGFR Pathway in EphA2 Cell Subpopulation Significantly Associates with Poor Prognosis in Colorectal Cancer[J]. Clin Cancer Res,2017,23(1):159 – 170.
- [26] Lee HY, Mohammed KA, Goldberg EP, et al. Silencing Receptor EphA2 Enhanced Sensitivity to Lipoplatin in Lung Tumor and MPM Cells[J]. Cancer Invest,2016,34(7):293 – 304.
- [27] Aller SG, Yu J, Ward A, et al. Structure of P-glycoprotein reveals a molecular basis for poly-specific drug binding[J]. Science,2009,323(5922):1718 – 1722.
- [28] Paraiso KH, Das TM, Fang B, et al. Ligand-independent EPHA2 signaling drives the adoption of a targeted therapy-mediated metastatic melanoma phenotype[J]. Cancer Discov,2015,5(3):264 – 273.
- [29] Menges CW, Mccance DJ. Constitutive activation of the Raf-MAPK pathway causes negative feedback inhibition of Ras-PI3K-AKT and cellular arrest through the EphA2 receptor[J]. Oncogene,2008,27(20):2934 – 2940.
- [30] Yuan Q, Zhan L, Zhang LL, et al. Stanniocalcin 2 induces oxaliplatin resistance in colorectal cancer cells by upregulating P-glycoprotein[J]. Can J Physiol Pharmacol,2016,94(9):929 – 935.

(收稿日期:2017 – 10 – 16)

· 消息 ·

远程投稿、查稿系统启事

本刊采用远程稿件采编系统进行投稿、查稿等,现就有关问题说明如下。

1. 作者投稿:登陆在线投稿系统(中文版),按操作提示投稿。第一次需先注册,原则上不再受理邮寄稿件和 Email 稿件。

2. 稿件查询:使用作者注册用户名和密码,可查询作者稿件审理进程和费用信息等。

有关投稿要求,请登陆本刊网站浏览。

网站登陆:<http://www.xyosbs.com/index.htm>