

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2012.02.015

· 临床研究 ·

BRAF 和 EphB2 在人结直肠锯齿状腺瘤中的表达及意义

贾兴芳,刘成霞,刘海燕,沈媛媛(滨州医学院附属医院 消化内科,山东 滨州,256603)

[摘要] **目的:**探讨鼠类肉瘤滤过性病毒致癌基因同源体 B1(v-raf murine sarcoma viral oncogene homolog B1, BRAF)和促红素人肝细胞蛋白(erythropoietin-producing hepatoma cell line B2, EphB2)在人结直肠锯齿状腺瘤中的表达及其意义。**方法:**收集滨州医学院附属医院 1996 年 1 月至 2008 年 5 月 10 例正常结肠黏膜、21 例增生性息肉、22 例锯齿状腺瘤、55 例腺瘤性息肉(18 例管状腺瘤、16 例管状绒毛状腺瘤、21 例绒毛状腺瘤)石蜡标本。免疫组织化学法检测 BRAF 和 EphB2 蛋白的表达量,同时观察蛋白的表达部位。**结果:**增生性息肉中 BRAF 蛋白阳性细胞多位于隐窝中下区域,腺瘤性息肉的阳性细胞多表达位于隐窝上部区域,而锯齿状腺瘤阳性细胞多表达于隐窝全层。锯齿状腺瘤与腺瘤性息肉的 BRAF 蛋白表达量相近[(0.129±0.030) vs (0.130±0.026), $P>0.05$],但远高于增生性息肉[(0.129±0.030) vs (0.102±0.014), $P<0.01$];锯齿状腺瘤、管状腺瘤、管状绒毛状腺瘤、绒毛状腺瘤之间 BRAF 蛋白表达量差异无统计学意义[(0.129±0.030) vs (0.116±0.019), (0.119±0.037), (0.122±0.008), $P>0.05$]。增生性息肉中 EphB2 蛋白阳性细胞多位于隐窝中下区域细胞膜上,腺瘤性息肉 EphB2 蛋白阳性细胞位于隐窝上部,而锯齿状腺瘤 EphB2 蛋白阳性细胞表达于隐窝全层。锯齿状腺瘤与腺瘤性息肉的 EphB2 蛋白表达量相近[(0.138±0.024) vs (0.139±0.025), $P>0.05$],而远高于增生性息肉[(0.138±0.024) vs (0.169±0.018), $P<0.01$];锯齿状腺瘤与管状腺瘤、管状绒毛状腺瘤、绒毛状腺瘤间 EphB2 蛋白表达量无区别[(0.138±0.024) vs (0.143±0.027), (0.139±0.028), (0.133±0.021), $P>0.05$]。**结论:**BRAF 和 EphB2 蛋白在增生性息肉、腺瘤性息肉中隐窝部分区域表达,而在锯齿状腺瘤中隐窝全层表达,提示锯齿状腺瘤是一类独立的不同于腺瘤性息肉的结直肠肿瘤。**[关键词]** 锯齿状腺瘤;BRAF;EphB2;增生性息肉;腺瘤性息肉;结直肠肿瘤

[中图分类号] R735.3; R730.2 [文献标志码] A [文章编号] 1007-385X(2012)02-0186-05

Expression and significance of BRAF and EphB2 in human colorectal serrated adenomas

JIA Xing-fang, LIU Cheng-xia, LIU Hai-yan, SHEN Yuan-yuan (Department of Gastroenteropathy, Affiliated Hospital of Binzhou Medical College, Binzhou 256603, Shandong, China)

[Abstract] **Objective:** To discuss the expression and significance of v-raf murine sarcoma viral oncogene homolog B1 (BRAF) and erythropoietin-producing hepatoma cell line B2 (EphB2) in human colorectal serrated adenomas. **Methods:** Collect 10 paraffin specimens of normal mucosa, 21 cases of hyperplastic polyp, 22 cases of serrated adenomas and 55 cases of traditional colorectal adenomas (18 tubular adenomas, 16 tubulovillous adenomas, 21 villous adenomas) in the Affiliated Hospital of Binzhou Medical College between Jan. 1996 to May. 2008. The expression levels and sites of BRAF and EphB2 protein were examined by immunohistochemical method. **Results:** Most BRAF protein positive cells in hyperplastic polyp were located in the lower crypt, those in adenomatous polyp located in upper crypt, and those in serrated adenomas almost expressed in the whole crypt. The expression of BRAF protein was similar in serrated adenomas and adenomatous polyp (0.129±0.030 vs 0.130±0.026, $P>0.05$), while more higher than that in hyperplastic polyp (0.129±0.030 vs 0.102±0.014, $P<0.01$). There was no significant difference in BRAF protein expression among the serrated adenomas, tubular adenomas, tubulovillous adenomas and villous adenomas (0.129±0.030 vs 0.116±0.019, 0.119±0.037, 0.122±0.008, $P>0.05$). The EphB2 protein positive cells in hyperplastic polyp was almost located in the

[基金项目] 山东省教育厅科技计划项目资助(No. J06L52)。Project supported by the Science and Technology Program from Education Bureau of Shandong Province (No. J06L52)

[作者简介] 贾兴芳(1980-),女,山东省滨州市人,硕士,住院医师,主要从事消化道肿瘤基础与临床的研究。E-mail: jxf8698@163.com

[通信作者] 刘成霞(LIU Cheng-xia, corresponding author),E-mail: phlex@163.com

membrane of the middle and lower region of crypt, those in adenomatous polyp located in the upper crypt, and those in serrated adenomas expressed in the whole crypt. The EphB2 protein expression in serrated adenomas and adenomatous polyp was similar (0.138 ± 0.024 vs 0.139 ± 0.025 , $P > 0.05$), but much higher than that in hyperplastic polyp (0.138 ± 0.024 vs 0.169 ± 0.018 , $P < 0.01$). No significant difference was found in EphB2 among serrated adenomas, tubular adenomas, tubulovillous adenomas and villous adenomas (0.138 ± 0.024 vs 0.143 ± 0.027 , 0.139 ± 0.028 , 0.133 ± 0.021 , $P > 0.05$). **Conclusion:** BRAF and EphB2 proteins both in hyperplastic polyp and adenomatous polyp are expressed partly in crypt, while those in colorectal serrated adenomas are expressed in the whole crypt, indicating that serrated adenomas may be an independent tumor difference from adenomatous polyp.

[**Key words**] serrated adenoma; BRAF; EphB2; hyperplastic polyp; adenomatous polyp; colorectal tumor

[Chin J Cancer Biother, 2012, 19(2): 186-190]

锯齿状腺瘤(serrated adenomas, SA)兼有增生性息肉(hyperplastic polyp, HP)的结构特征和与腺瘤性息肉(adenomatous polyp, AP)的细胞学特点,低倍镜下锯齿状腺瘤组织病理学表现为增生性息肉样的锯齿状腺体,并有上皮的异型增生,而其内镜下形态与增生性息肉相似,使两者不易区分,因此以往锯齿状腺瘤常被诊断为增生性息肉或腺瘤性息肉,这可能也是锯齿状腺瘤检出率低的一个重要原因。由于锯齿状腺瘤病理形态的特殊,同时具有肿瘤性生长的特性^[1-2],它与增生性息肉、腺瘤性息肉是否存在联系,国内研究甚少。鼠类肉瘤滤过性病毒致癌同源体 B1(v-raf murine sarcoma viral oncogene homolog B1, BRAF)是一种对癌细胞生长起关键作用的蛋白质,其突变与锯齿状腺瘤发生、发展有关^[3]。生促红素人肝细胞蛋白(erythropoietin-producing hepatoma cell line B2, EphB2)受体是近年来肿瘤转移机制研究的新热点, EphB2 受体是酪氨酸蛋白激酶受体(receptor tyrosine kinase, RTK)家族最大的分支。研究^[4,9]发现, EphB2 高表达于多种肿瘤细胞,如直肠癌、乳腺癌、脑膜瘤、肺癌,因而把 *EphB2* 基因看作为一种原癌基因,但最近研究^[10-11]发现, *EphB2* 基因在肠上皮细胞的多步癌变过程中发挥了重要的抑制作用。本研究用免疫组化方法检测 BRAF、EphB2 蛋白在结直肠增生性息肉、锯齿状腺瘤、腺瘤性息肉中的表达,同时观察蛋白的表达部位,以论证锯齿状腺瘤是不同于腺瘤性息肉的一类独立的结直肠肿瘤。

1 材料与方法

1.1 研究对象

收集滨州医学院附属医院 1996 年 1 月至 2008 年 5 月电子肠镜下切除、术前未经放化疗并经病理证实的患者结直肠组织石蜡标本,其中锯齿状腺瘤 22 例、腺瘤性息肉 55 例[包括管状腺瘤(tubular ad-

enomas, VA)18 例、管状绒毛状腺瘤(tubular-villous adenoma, TVA)16 例、绒毛状腺瘤(villous adenomas, VA)21 例]、增生性息肉 21 例及正常黏膜 10 例。所有标本为滨州医学院附属医院病理科的存档蜡块。BRAF 兔抗人单克隆抗体、EphB2 兔抗人多克隆抗体购自美国 Bioworld 公司。

1.2 免疫组化检测 BRAF 和 EphB2 在锯齿状腺瘤中的表达

将切片脱蜡至水,滴加 3% 过氧化氢液室温下避光孵育 10 min,阻断内源性过氧化物酶活性。将切片浸入 0.01 mol/L 枸橼酸盐缓冲液中,入微波炉中修复 8 min, PBS 冲洗 3 min \times 3 次,滤纸吸干 PBS 液。滴加正常山羊血清,室温下孵育 15 min,中和非特异性反应。滴加 BRAF(1:100)、EphB2 兔抗人特异性抗体(1:150),入湿盒内 4 $^{\circ}$ C 冰箱过夜。次日滴加生物素标记的羊抗兔 IgG 二抗,室温孵育 15 min。滴加辣根酶标记链霉卵白素工作液,室温下孵育 15 min。DAB 底物显色,镜下控制反应时间,苏木精复染,1% 盐酸酒精分化 2 s,梯度酒精脱水,二甲苯透明,中性树胶封片,镜下观察。

1.3 BRAF 和 EphB2 的免疫组化阳性判断标准

BRAF 染色以胞质出现棕黄色颗粒为阳性。EphB2 蛋白在正常肠黏膜组织中多表达于基底腺窝细胞膜上,而在肿瘤组织中, EphB2 在胞膜和胞质中均有表达,表现为深棕色或褐色颗粒。每张切片随机选取 5 个高倍镜视野($\times 200$),使用 IPP 病理图像分析软件测定每个视野下染色细胞的平均光密度(average optical density, AOD),平均光密度越高说明表达越强,活性越高。以每切片 5 个视野的光密度的平均值作为该组织的测量值。

1.4 统计学处理

数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 SPSS 13.0 统计软件,以 LSD-*q* 检验对 BRAF 和 EphB2 的 AOD 进行方差分析及多个样本均数的两两比较方差分析。 $P < 0.05$

或 $P < 0.01$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 锯齿状腺瘤、腺瘤性息肉、增生性息肉中 BRAF 蛋白的分布

利用免疫组化方法检测锯齿状腺瘤、腺瘤性息肉、增生性息肉及正常黏膜中 BRAF 蛋白的表达, 结果(图 1)显示, BRAF 蛋白多表达在胞质, 在正常黏膜未见表达。对部分可见全层黏膜的病例观察蛋白表达部位发现, 4/6 锯齿状腺瘤隐窝全层阳性表达, 2/6 锯齿状腺瘤中下 2/3 隐窝区域阳性表达, 表浅部位阴性表达; 4/4 腺瘤性息肉上部隐窝阳性而基底部阴性表达; 6/7 增生性息肉隐窝中下 1/2 区域呈阳性表达, 而中上 1/2 区域呈阴性表达, 1/7 增生性息肉全层隐窝呈阳性表达。总之, 正常黏膜未见 BRAF 蛋白阳性表达, 增生性息肉中 BRAF 蛋白阳性细胞多位于隐窝中下区域, 腺瘤性息肉的阳性细胞多表达位于隐窝上部区域, 锯齿状腺瘤阳性细胞多表达于隐窝全层。所以, 锯齿状腺瘤 BRAF 蛋白隐窝全层表达为其区别于其他息肉的显著特征。

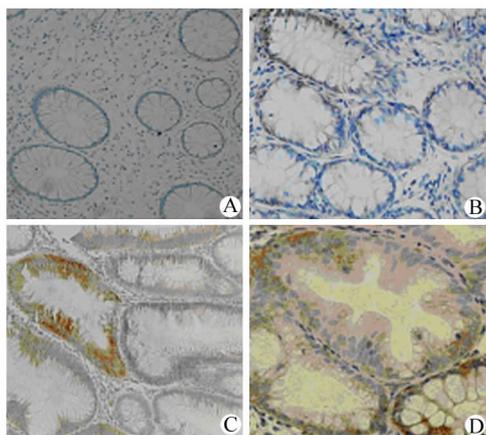


图 1 BRAF 蛋白在正常黏膜、增生性息肉、腺瘤性息肉和锯齿状腺瘤中的表达(×200)

Fig. 1 BRAF protein expression in normal mucosa, hyperplastic polyp, adenomatous polyp and serrated adenomas (×200)

A: Normal mucosa; B: Hyperplastic polyp;
C: Adenomatous polyp; D: Serrated adenomas

2.2 锯齿状腺瘤、腺瘤性息肉、增生性息肉中 BRAF 蛋白表达量的比较

测定每个视野下染色细胞的平均光密度, 比较 BRAF 蛋白表达量在锯齿状腺瘤、腺瘤性息肉、增生性息肉之间表达量的差别。结果显示, 锯齿状腺瘤

与腺瘤性息肉的 BRAF 蛋白表达量相近[(0.129 ± 0.030) vs (0.130 ± 0.026) , $P > 0.05$], 而远大于增生性息肉[(0.129 ± 0.030) vs (0.102 ± 0.014) , $P < 0.01$]。而锯齿状腺瘤、管状腺瘤、管状绒毛状腺瘤、绒毛状腺瘤之间比较, 无统计学意义[(0.129 ± 0.030) vs (0.116 ± 0.019) , (0.119 ± 0.037) , (0.122 ± 0.008) , $P > 0.05$], 所以锯齿状腺瘤与管状腺瘤、管状绒毛状腺瘤、绒毛状腺瘤间 BRAF 蛋白表达无区别。

进一步比较锯齿状腺瘤与轻度、中度、重度异型增生腺瘤性息肉中 BRAF 蛋白表达量的差别, 发现锯齿状腺瘤中 BRAF 的表达量与中度、重度异型增生腺瘤性息肉相近, 而略高于轻型异型增生腺瘤性息肉, 但锯齿状腺瘤与三种异型增生的腺瘤性息肉 BRAF 蛋白表达量的区别无统计学意义[(0.129 ± 0.030) vs (0.119 ± 0.015) , (0.122 ± 0.008) , (0.123 ± 0.020) , $P > 0.05$]。

2.3 锯齿状腺瘤、腺瘤性息肉、增生性息肉中的 EphB2 蛋白的分布

利用免疫组化方法检测锯齿状腺瘤、腺瘤性息肉、增生性息肉及正常黏膜中 EphB2 蛋白的表达, 结果(图 2)显示, 在正常肠黏膜组织中, EphB2 多表达于基底腺窝细胞膜上, 而在肿瘤组织中, EphB2 在胞膜和胞质中均有表达, 表现为深棕色或褐色颗粒。对部分可见全层黏膜的病例观察蛋白表达部位发现, 4/6 锯齿状腺瘤隐窝全层阳性表达, 2/6 锯齿状腺瘤中下 2/3 隐窝区域阳性表达, 表浅部位阴性表达; 3/4 腺瘤性息肉上部隐窝阳性而基底部阴性表达, 1/4 腺瘤性息肉全层隐窝阳性表达; 4/4 正常黏膜及 5/7 增生性息肉隐窝中下区域的细胞膜呈阳性表达而中上区域呈阴性表达, 2/7 增生性息肉全层呈阳性表达。总之, 正常黏膜及增生性息肉中 EphB2 蛋白阳性细胞多位于隐窝中下区域细胞膜上, 腺瘤性息肉 EphB2 蛋白的阳性细胞表达位于隐窝上部, 锯齿状腺瘤的 EphB2 蛋白的阳性细胞表达位于隐窝全层。所以, 锯齿状腺瘤 EphB2 蛋白隐窝全层表达为其区别于其他息肉的显著特征。

2.4 锯齿状腺瘤、腺瘤性息肉、增生性息肉中 EphB2 蛋白表达量的比较

测定每个视野下染色细胞的平均光密度结果显示, EphB2 蛋白表达量在锯齿状腺瘤、腺瘤性息肉、增生性息肉间进行比较, 锯齿状腺瘤与腺瘤性息肉的 EphB2 蛋白表达量相近[(0.138 ± 0.024) vs (0.139 ± 0.025) , $P > 0.05$], 而远大于增生性息肉[(0.138 ± 0.024) vs (0.169 ± 0.018) , $P < 0.01$]。

而在锯齿状腺瘤、管状腺瘤、管状绒毛状腺瘤、绒毛状腺瘤之间比较,锯齿状腺瘤与管状腺瘤、管状绒毛状腺瘤、绒毛状腺瘤间 EphB2 蛋白表达量无显著区别[(0.138 ± 0.024) vs (0.143 ± 0.027), (0.139 ± 0.028), (0.133 ± 0.021), $P > 0.05$]。

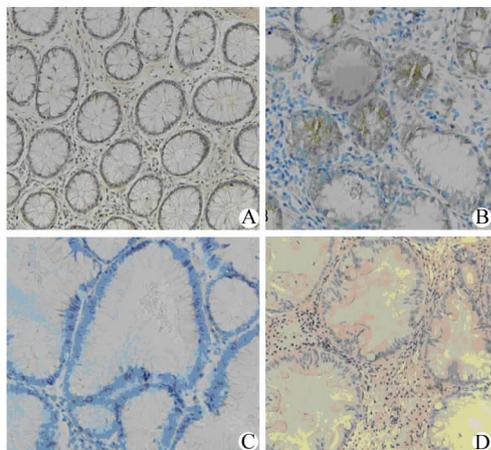


图2 EphB2 蛋白在正常黏膜、增生性息肉、腺瘤性息肉和锯齿状腺瘤中的表达(× 200)

Fig. 2 EphB2 protein expression in normal mucosa, hyperplastic polyp, adenomatous polyp and serrated adenomas (× 200)

A: Normal mucosa; B: Hyperplastic polyp;

C: Adenomatous polyp; D: Serrated adenomas

进一步比较锯齿状腺瘤及轻度、中度、重度异型增生腺瘤性息肉 EphB2 蛋白表达量,发现锯齿状腺瘤 EphB2 表达与中度、重度异型增生腺瘤性息肉相近,而略高于轻型增生腺瘤性息肉,但差异无统计学意义[(0.138 ± 0.024) vs (0.119 ± 0.029), (0.134 ± 0.017), (0.144 ± 0.026), $P > 0.05$]。此外,轻、中、重度异型增生腺瘤性息肉两两间 EphB2 表达无差异,但是随着异性增生程度增大呈逐渐增高趋势。

3 讨论

锯齿状腺瘤作为一种特殊类型的大肠腺瘤是近十几年来提出,从以往的“混合性增生性息肉”、“混合型增生性腺瘤性息肉”区分出来,最后由 Clevers 等^[12]对这类息肉在病理组织学、形态学方面做了详尽的描述,确定命名为“锯齿状腺瘤”。

BRAF 属于 *RAF* 基因家族,定位于人染色体 7q34,它是 1988 年由 Shuntaro 等^[13]首先在人类骨肉瘤中发现并克隆确认的,是一个能转染 NIH3T3 细胞,且有活性的 DNA 序列。*BRAF* 突变与消化道

肿瘤关系渐受关注,多数消化道肿瘤中均存在不同频率的 *BRAF* 基因突变。Nagasaka 等^[14]发现,9% (21/234) 的结直肠癌存在 *BRAF V600E* 突变;Chan 等^[15]报道,36% (18/50) 的增生性息肉、20% (2/10) 的混合性息肉、100% (9/9) 的锯齿状腺瘤存在 *BRAF* 突变,90% (26/29) 为 *BRAF V600E* 突变,提示增生性息肉向锯齿状腺瘤演进可能与 *BRAF* 获得性突变有关。O'Brien 等^[2]观察,*BRAF* 基因变异在不同类型组织中的发生频率,发现 82% 锯齿状腺瘤、62% 锯齿状腺瘤、83% 无蒂锯齿状腺瘤、76% 增生性息肉中可检出 *BRAF* 变异,而在腺瘤性息肉向癌转变途径中则未能检出该变异。本研究发现,*BRAF* 蛋白在锯齿状腺瘤、腺瘤性息肉、增生性息肉中隐窝的分布部位不同。增生性息肉中阳性细胞多位于腺隐窝的中下部,从隐窝中下部到表浅部具有增殖活性的细胞逐渐减少;腺瘤性息肉的阳性细胞表达位于隐窝中下部分,提示异常增殖出现于上部隐窝;锯齿状腺瘤大部分阳性细胞位于隐窝全层,部分位于隐窝中下部。此组织学细胞增生的差异可以推测,锯齿状腺瘤为不同于增生性息肉和腺瘤性息肉的一种新的结直肠黏膜肿瘤性病变。

本研究还发现,在正常黏膜组织向腺瘤性息肉和锯齿状腺瘤转变过程中,*BRAF* 蛋白在增生性息肉与正常黏膜中几乎不表达,而在锯齿状腺瘤与腺瘤性息肉中高表达。此外,锯齿状腺瘤与管状腺瘤、管状绒毛状腺瘤、绒毛状腺瘤间 *BRAF* 蛋白表达无显著区别。轻、中、重度腺瘤性息肉两两间 *BRAF* 表达无差异,但是随着异性增生程度增大呈逐渐增高趋势,提示腺瘤性息肉中 *BRAF* 表达量多少与异型增生情况有关,而与组织学类型无关。所以 *BRAF* 可能是锯齿状腺瘤癌变过程中的标志性分子之一。

EphB2 是于 1994 年由 Kiyokawa 等^[16]从构建的胃癌组织 cDNA 文库中筛选出的新基因,属于 RTK 家族中的最大亚族,为一种原癌基因。最近 Battle 等^[17]检测了 *EphB2* 受体在正常肠隐窝干细胞、肠腺瘤细胞、肠原位癌细胞、肠癌淋巴结转移细胞和肝转移细胞中的表达,发现 *EphB2* 受体的表达在上述细胞中呈递减趋势。在小鼠结直肠癌模型中,进一步使用基因工程干扰了癌细胞 *EphB2* 受体的表达,发现 *EphB2* 受体的缺失加快了结直肠肿瘤的形成。由此提示,大多数大肠癌细胞在(良性)腺瘤和(恶性)肿瘤之间的过渡阶段失去 *EphB2* 受体的表达,并且 *EphB2* 表达的多少与肠癌的浸润深度和远处转移密切相关,*EphB2* 的表达越低,肿瘤分化越差;浸润程度越深,远处转移越多。Guo 等^[18]也证明,

EphB2 从肠隐窝干细胞到不同恶性程度结肠癌细胞中的表达呈递减趋势, 并且在结肠癌细胞株的体外实验中证明了过度表达的 EphB2 受体能够抑制肿瘤细胞的生长、黏附和转移。Jubb 等^[19]和 Lugli 等^[20]也发现, EphB2 受体的表达和结直肠癌患者的生存率表现出正相关, EphB2 受体表达越高存活率越高。

本研究发现, 锯齿状腺瘤与腺瘤性息肉的 EphB2 表达相近, 而远大于增生性息肉。锯齿状腺瘤与管状腺瘤、管状绒毛状腺瘤、绒毛状腺瘤间 EphB2 蛋白表达无显著区别。此外, 轻、中、重度腺瘤性息肉两两间 EphB2 表达无差异, 但是随着异性增生程度增大呈逐渐增高趋势, 而各组织学类型腺瘤性息肉两两间表达无差异, 提示腺瘤性息肉中 EphB2 表达与增生情况有关, 而与组织学无关。EphB2 蛋白在大部分癌组织中随恶性程度增高表达呈递减趋势。本研究发现, 在正常黏膜组织向腺瘤性息肉和锯齿状腺瘤转变过程中, EphB2 表达呈递增趋势, 其具体机制有待于进一步研究。

综上所述, BRAF、EphB2 蛋白特异性表达部位为隐窝全层, 为锯齿状腺瘤的显著病理特征, 所以锯齿状腺瘤是不同于传统腺瘤的一类独立的结直肠肿瘤。锯齿状腺瘤为结直肠癌的癌前病变, BRAF、EphB2 基因在癌变过程中可能发挥了一定的作用, 联合检测 BRAF、EphB2 蛋白对早期发现锯齿状腺瘤癌变有潜在的价值, 对结直肠癌的早期诊断也有着重要的意义。

[参 考 文 献]

- [1] Davies H, Bignell GR, Cox C, et al. Mutations of the BRAF gene in human cancer [J]. Nature, 2002, 417 (6892): 949-954.
- [2] O'Brien MJ, Yang S, Mack C, et al. Comparison of microsatellite instability, CpG island methylation phenotype, BRAF and KRAS status in serrated polyps and traditional adenomas indicates separate pathways to distinct colorectal carcinoma end points [J]. Am J Surg Pathol, 2006, 30 (12): 1491-1501.
- [3] Velho S, Moutinho C, Cirmes L, et al. BRAF, KRAS and PIK3CA mutations in colorectal serrated polyps and cancer: Primary or secondary genetic events in colorectal carcinogenesis [J]. BMC Cancer, 2008, 8: 255.
- [4] Kiyokawa E, Takai S, Tanaka M, et al. Overexpression of ERK, an EPH family receptor protein tyrosine kinase, in various human tumors [J]. Cancer Res, 1994, 54(14): 3645-3650.
- [5] Wu Q, Suo Z, Risberg B, et al. Expression of Ephb2 and Ephb4 in breast carcinoma [J]. Pathol Oncol Res, 2004, 10(1): 26-33.
- [6] Allazzouzi H, Davalos V, Kokko A, et al. Mechanisms of inactivation of the receptor tyrosine kinase EPHB2 in colorectal tumors [J]. Cancer Res, 2005, 65(22): 10170-10173.
- [7] Nakada M, Niska JA, Miyamori H, et al. The phosphorylation of EphB2 receptor regulates migration and invasion of human glioma cells [J]. Cancer Res, 2004, 64(9): 3179-3185.
- [8] Jubb AM, Zhong F, Bheddah S, et al. EphB2 is a prognostic factor in colorectal cancer [J]. Clin Cancer Res, 2005, 11(14): 5181-5187.
- [9] Huusko P, Ponciano-Jackson D, Wolf M, et al. Nonsense-mediated decay microarray analysis identifies mutations of EphB2 in human prostate cancer [J]. Nat Genet, 2004, 36(9): 979-983.
- [10] Sawamiphak S, Seidel S, Essmann CL, et al. Ephrin-B2 regulates VEGFR2 function in developmental and tumour angiogenesis [J]. Nature, 2010, 465(7297): 487-491.
- [11] Genander M, Frisen J. Ephrins and Eph receptors in stem cells and cancer [J]. Curr Opin Cell Biol, 2010, 22(5): 611-616.
- [12] Clevers H, Baille E. EphB/EphrinB receptors and Wnt signaling in colorectal cancer [J]. Cancer Res, 2006, 66(1): 2-5.
- [13] Shuntaro I, Mikiharu F, Yoshito U, et al. Braf, a new member of the Raf family, is activated by DNA rearrangement [J]. Mol Cell Biol, 1988, 8(6): 2651-2654.
- [14] Nagasaka T, Sasamoto H, Notohara K, et al. Colorectal cancer with mutation in BRAF, KRAS and wild-type with respect to both oncogenes showing different patterns of DNA methylation [J]. J Clin Oncol, 2004, 22(22): 4584-4594.
- [15] Chan TL, Zhao W, Leung SY, et al. BRAF and KRAS mutations in colorectal hyperplastic polyps and serrated adenomas [J]. Cancer Res, 2003, 63(16): 4878-4881.
- [16] Kiyokawa E, Takai S, Tanaka M, et al. Overexpression of ERK, an EPH family receptor protein tyrosine kinase, in various human tumors [J]. Cancer Res, 1994, 54(14): 3645-3650.
- [17] Batlle E, Bacani J, Begthel H, et al. EphB receptor activity suppresses colorectal cancer progression [J]. Nature, 2005, 435 (7045): 1126-1130.
- [18] Guo DL, Zhang J, Yuen ST, et al. Reduced expression of EphB2 that parallels invasion and metastasis in colorectal tumours [J]. Carcinogenesis, 2006, 27(3): 454-464.
- [19] Jubb AM, Zhong F, Bheddah S, et al. EphB2 is a prognostic factor in colorectal cancer [J]. Clin Cancer Res, 2005, 11(14): 5181-5187.
- [20] Lugli A, Spichtin H, Maurer R, et al. EphB2 expression across 138 human tumor types in a tissue microarray: High levels of expression in gastrointestinal cancers [J]. Clin Cancer Res, 2005, 11(18): 6450-6458.

[收稿日期] 2011-12-03 [修回日期] 2012-02-25

[本文编辑] 王莹