

Eph/Ephrin 信号通路在原发性骨肿瘤及骨癌疼痛中的作用研究进展

陈祥义¹, 于得臣¹, 张芮浩¹, 胡一村¹, 王克平^{1,2}, 周海宇^{1,2}

(1. 兰州大学第二医院 骨科, 甘肃 兰州, 730030; 2. 兰州大学第二医院西固医院 骨科, 甘肃 兰州, 730030)

摘要: 促红细胞生成素肝细胞激酶(Eph)受体及其配体 Ephrin 在神经系统的轴突引导、神经祖细胞的迁移和血管生成等过程中扮演重要角色。Eph 和 Ephrin 的异常表达与许多肿瘤的发生、发展、转移、预后以及耐药性等关系密切,参与了机体的许多生理和病理过程,但目前的研究还很有限。本研究主要对 Eph 和 Ephrin 在原发性骨肿瘤及转移性骨肿瘤导致的骨癌疼痛(BCP)中的作用进行综述。

关键词: 促红细胞生成素肝细胞激酶; 原发性骨肿瘤; 骨癌疼痛; 神经祖细胞; 血管生成; 受体酪氨酸激酶

中图分类号: R 459.9; R 738.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1672-2353(2021)12-128-05 **DOI:** 10.7619/jcmp.20211337

Research progress on roles of Eph/Ephrin signaling pathway in primary bone tumor and bone cancer pain

CHEN Xiangyi¹, YU Dechen¹, ZHANG Ruihao¹, HU Yicun¹,
WANG Keping^{1,2}, ZHOU Haiyu^{1,2}

(1. Department of Orthopedics, Second Hospital of Lanzhou University, Lanzhou, Gansu, 730030;

2. Department of Orthopedics, Xigu Hospital of Second Hospital of Lanzhou University, Lanzhou, Gansu, 730030)

Abstract: Erythropoietin producing hepatocyte kinase (Eph) receptor and its ligand Ephrin play important roles in axon guidance, migration of neural progenitor cells and angiogenesis. The abnormal expressions of Eph and Ephrin are closely related to the occurrence, development, metastasis, prognosis and drug resistance of many tumors, and involve in many physiological and pathological processes, but the current research is still limited. This study mainly reviewed the roles of Eph and Ephrin in bone cancer pain (BCP) caused by primary and metastatic bone tumors.

Key words: erythropoietin producing hepatocyte kinase; primary bone tumor; bone cancer pain; neural progenitor cells; angiogenesis; receptor tyrosine kinase

促红细胞生成素肝细胞激酶(Eph)受体及其配体(Ephrin)属于最大的受体酪氨酸激酶(RTKs)家族,其在生物体内的功能十分复杂。Eph因在人肝细胞癌细胞系中表达产生促红细胞生成素而命名,是受体酪氨酸激酶的一个亚家族,在许多类型的细胞信号传递中起着重要作用。1987年, Hirai首次发现并证明Eph基因表达的产物是一种跨膜蛋白,当时认为其是生长因子的受体,并推测其在肿瘤致病过程中发挥作用。经过不断的深入研究, Eph/Ephrin参与癌症发生和发展的作用得到证实^[1]。此外, Eph/Ephrin还通

过双向信号参与细胞骨架形成、细胞黏附、细胞间连接、细胞形态和运动,影响神经元的发育和骨骼稳态等,是血管生成和淋巴管生成的关键因素。Eph/Ephrin在成骨、破骨细胞信号传导和维持骨平衡、骨折愈合等方面也发挥作用,如EphB4/EphrinB2反向信号抑制破骨细胞分化,正向信号增强成骨细胞分化,通过该双向信号传导参与骨稳态平衡和骨重建^[2]。本研究主要讨论了Eph/Ephrin在原发性骨肿瘤及转移性骨肿瘤导致的骨癌疼痛(BCP)中的作用机制,为骨肿瘤和BCP临床靶向药物的研究提供新思路。

1 Eph/Ephrin 家族组成及结构

Eph 和 Ephrin 依据结构不同都可以分为 A、B 两个家族, Eph 包括 EphA (EphA1-8, EphA10)、EphB (EphB1-5), Ephrin 包括 EphrinA (EphrinA1-5)、EphrinB (EphrinB1-5)。Eph 与其他大多数类型的 RTKs 一样属于跨膜蛋白,其中胞外区属于配体结合区,其包含配体结合域、富含半胱氨酸的区域和 2 个富含纤维蛋白 III 的区域;胞内区是功能区,包括近膜区(含 2 个酪氨酸残基)、经典蛋白酪氨酸激酶结构域、不育 α 基序(SAM)和包含疏水残基的突触后致密蛋白(PDZ)结构域。Ephrin 的 2 种类型结构不一样, EphrinA 通过糖脂磷脂酰肌醇(GPI) 连接到细胞表面, EphrinB 通过跨膜结构域连接到细胞表面, EphrinB 的胞内功能区有高度保守的区域和 PDZ 结构域^[3]。这些结构序列控制和调节不同受体和配体之间的结合,以引起不同的生理和病理反应。Eph/Ephrin 的结构见图 1。

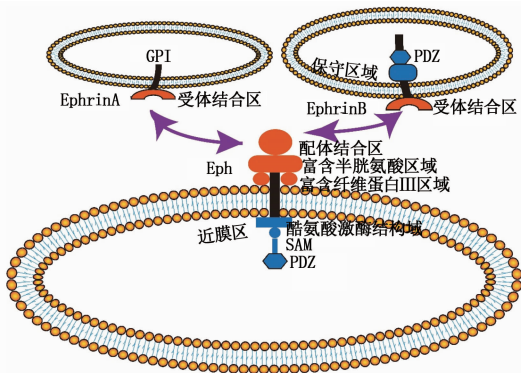


图 1 Eph/Ephrin 结构图

Eph/Ephrin 信号传导模式多样。Ephrin 能与细胞膜上的非 Eph 受体结合,例如 Ephrin-B2 介导血管内皮生长因子受体和血小板衍生生长因子受体家族成员的内吞作用,从而参与肿瘤血管的生成和伤口修复^[4-5]。Eph 和 Ephrin 可进行双向信号传导。Eph 与聚集的、膜附着的 Ephrin 结合时被激活,然后通过衔接蛋白偶联将信号传导到细胞内,通过自身磷酸化和酪氨酸残基的磷酸化实现整个信号传导^[6]。Eph 通过 SAM 和 C-末端 PDZ 结构域与其他蛋白结合传导信号。EphrinA 通过 GPI 与跨膜部分相互作用,而 EphrinB 的信号传导分为磷酸化依赖性和非磷酸化依赖性。EphrinB 的胞内结构域的酪氨酸磷酸化导致信号分子募集从而传导信号,而未磷酸化的 EphrinB

与信号蛋白结合传导信号,且受酪氨酸磷酸化状态调节^[7]。邻近细胞之间的 Eph 和 Ephrin 结合产生细胞依赖的双向信号,能调节细胞的形态、运动、存活和增殖^[8-9]。EphA 和 EphB 受体之间也能结合并交叉磷酸化调节细胞功能^[10]。Eph 受体激活的程度及信号类型取决于配体的聚集状态。Eph 与 Ephrin 相互作用形成 Eph/Ephrin 四聚体,促进高阶低聚物的组装,这是 Eph 磷酸化和下游信号激活的前提^[11]。研究^[12]表明, Eph 信号能参与包括黑色素瘤、神经母细胞瘤、恶性神经胶质瘤、胰腺癌、乳腺癌、结肠癌、前列腺癌、肺癌、胃肠道肿瘤、卵巢癌、食管癌、肝癌在内的多种肿瘤的发生、发展。Eph/Ephrin 信号转导能通过激活 Src、STAT3、MMP8 和 RAC1 等促进多种肿瘤细胞的上皮间质转化和侵袭^[13]。

2 原发性骨肿瘤与 Eph/Ephrin

2.1 骨髓瘤与 Eph/Ephrin

骨髓瘤起源于骨髓造血组织,是因浆细胞过度增生引起的恶性肿瘤。骨髓瘤易产生多发性骨损害,又称多发性骨髓瘤(MM),约占血液恶性肿瘤的 10%^[14]。在 MM 患者中,约 80% 的患者存在骨痛、病理性骨折、椎体塌陷和高钙血症,此类患者预后较差^[15]。EphrinB2/EphB4 信号在成骨和破骨细胞信号传递和功能维持中发挥重要作用^[16]。PENNISI A 等^[17]发现 MM 患者骨髓间充质干细胞中 EphrinB2/EphB4 表达降低。在 MM 患者的间充质干细胞中, Wnt3a 促进靶基因 EphB4 的表达。EphrinB2-Fc 促使 EphB4 磷酸化,从而抑制 MM 患者间充质干细胞的成骨作用。OSHIMA T 等^[18]证明骨髓瘤细胞产生 Wnt 通路抑制剂 Frizzled 相关蛋白 2,从而抑制 MM 患者成骨细胞的生成和骨形成。因此,骨髓瘤患者中 EphB4 的下调可能是因为骨髓瘤 Wnt 信号通路被抑制所致。PENNISI A 等^[17]还发现 MM 患者的成骨能力受到了损害。

EphB4-Fc 治疗能抑制骨髓瘤生长、破骨细胞形成和血管生成,并刺激成骨细胞生成和骨形成,而 EphrinB2-Fc 能刺激血管生成、成骨细胞生成和骨形成,但对破骨细胞生成和骨髓瘤生长无影响。上调骨细胞内源性 EphB4 和 EphrinB2 的表达(例如用 Wnt3a 治疗)或者外源性增加 EphB4 水平(例如用 EphB4-Fc 处理)可能有助于恢复骨重塑能力,同时抑制多发性骨髓瘤的生长、骨病发

生和血管生成。GUAN M 等^[19]发现 EphA3 在 MM 中高表达。研究^[20]显示 EphA3 缺失能抑制 MM 患者血管内皮细胞(MMECs)体外血管生成,但是缺失 EphA3 并不影响正常内皮细胞(ECs)的血管生成功能,而且在体外抗 EphA3 抗体能降低 MMECs 的血管生成。EphA3 还影响 MMECs 细胞的黏附,但是对凋亡几乎无影响^[21]。EphA4 能通过调节细胞周期和增加 Akt 的磷酸化(p-AKT)促进 MM 细胞的增值而抑制其凋亡,还能通过 MM 细胞中 p-AKT 促进细胞黏附、介导其耐药。虽然目前其参与耐药的具体机制还没有研究清楚,但这可能是 MM 患者耐药的一个分子靶点。

2.2 尤文氏肉瘤、软骨肉瘤与 Eph/Ephrin

尤文氏肉瘤(ES)是一种罕见的、高度侵袭性的肿瘤,多见于长骨骨干、骨盆,占儿童肿瘤的 3%,是儿童和青少年时期较为常见的骨肿瘤,肿瘤局限患者生存率为 70%~80%,肿瘤患者生存率约为 30%^[22]。ES 虽对放疗敏感,但易发生转移,单纯的放疗难以对转移和复发病例产生效果。虽然目前采用的综合治疗方案使 ES 患者的生存率有所提高,但是肿瘤转移患者的整体预后较差。血道转移是经典的肿瘤转移方式,EphA2 在肿瘤血管生成中的作用已被证实^[23]。SAINZ-JASPEADO M 等^[24]探讨了 EphA2 在 ES 血管生成中的作用及其与小窝蛋白 1(CAV1)的关系,结果显示 EphA2 是 ES 血管生成的条件,EphA2-CAV1 轴能促进血管内皮细胞向肿瘤迁移,从而有利于 ES 的血管生成。若能特异性阻断这种作用,将会延缓肿瘤进展,降低肿瘤转移风险,为临床治疗提供一定的帮助。

软骨肉瘤是一种成软骨性的恶性肿瘤,约占骨原发性恶性肿瘤的 20%,通常发生在骨盆或长骨中,常出现黏液样变、钙化和骨化。软骨肉瘤可以单发,也可以由内生软骨瘤和骨软骨瘤演变而来^[25]。KALINSKI T 等^[26]发现软骨肉瘤中 EphrinA5 下调,且与软骨肉瘤的恶性程度呈负相关。因此,EphrinA5 在软骨肉瘤中可能发挥抑癌基因功能,EphrinA5 与细胞的黏附有关^[27],推测 EphrinA5 的下调导致肿瘤细胞迁移和侵袭能力上调是通过细胞的黏附功能实现的,当然这需要进一步探索。

2.3 骨肉瘤与 Eph/Ephrin

骨肉瘤是好发于青少年的一种高度侵袭性骨肿瘤,目前的综合治疗的疗效有所提高,但 5 年生存率依然很低。ABDOU A G 等^[28]发现 EphrinA4

在骨肉瘤细胞中有 2 种不同的表达模式,即胞质模式和核质模式。EphrinA4 在骨肉瘤患者中表达强于正常和原发性骨肉瘤患者。核质模式在正常骨中占优势,在恶性病例中减少,而在侵袭性转移的恶性病例中,其染色模式都呈现为胞质模式^[28]。胞质模式与肿瘤类型、分期和转移存在明显相关性,即病理类型分化越差、分期越晚,发生转移的病例中胞质模式占比更高。EphrinA4 在胞质的表达与原发骨肉瘤的进展和不良预后相关,95%的胞质模式患者对化疗反应较差,证明 EphrinA4 胞质染色模式可能是骨肉瘤具有高侵袭性、预后不良的指标^[29]。EphrinA4 有 2 种染色模式,可能因位置不同而发挥不同的功能,在胞质中可增强肿瘤细胞侵袭性,核质型向胞质型的转化可能是肿瘤进展的一种机制,但具体通过何种途径向胞质型转化尚未阐明。换言之,靶向阻断其向胞质型模式转化,可能会减缓肿瘤进展、降低 OS 患者化疗耐药。

与健康骨组织相比,EphA2 在人类 OS 肿瘤样本中上调,且与患者存活率低有相关性。研究^[30]表明,靶向腺病毒载体可以通过 EphA2 内化到 OS 细胞中,与人类初级成骨细胞相比,OS 细胞的这种摄取率更高。通过 EphA2 靶向递送药物可能是提高 OS 疗效的策略。研究^[31]显示 EphrinA1 配体结合 EphA2 受体可促进 Ras-MAPK 信号通路的激活,而且 EphrinA1-EphA2 信号增强了骨肉瘤细胞的迁移。虽然机制尚不清楚,但是 EphrinA1-EphA2 既参与上调 Ras-MAPK 信号通路的激活,又促进骨肉瘤细胞的迁移,相信 EphrinA1-EphA2 将来可能会成为 OS 治疗的一个靶点。Notch 信号具有促进骨肉瘤增殖、增强化学耐药性、促进迁移和侵袭、促进原发性肿瘤生长和肺转移等作用。研究^[32]显示 EphrinB1 是 Notch 途径的作用靶点,激活的 Notch 信号诱导 EphrinB1 的表达,上调 EphrinB1 信号可促进肿瘤进展,而且 EphrinB1 缺失能减轻 Notch 信号介导的骨肉瘤化疗耐药性。Notch 信号介导多种肿瘤的进展,目前的研究已经证明其在 OS 中是通过 EphrinB1 发挥重要作用的,进一步深入研究其中的具体机制将具有广阔前景。

3 转移性骨肿瘤所致的 BCP 与 Eph/Ephrin

恶性肿瘤经常发生转移,而骨是肿瘤最常见的转移器官之一,可以使骨发生成骨或溶骨性改变。研究^[33]统计 60%~84% 的晚期癌症患者会

经历不同程度的骨痛,当肿瘤转移时,患者的生存周期将大幅下降,而且常会发生严重并发症,如病理性骨折、癌症性骨痛、神经压迫等。目前 BCP 尚无有效的治疗方法,主要还是使用阿片类镇痛剂,因此急需寻找一种能减轻 BCP 的方式。在乳腺癌骨转移模型中,脊髓中 EphrinB1 和 EphB1 表达显著增加。小鼠脊髓鞘内注射 EphB1 阻断剂 EphB1-Fc 可显著减轻骨癌引起的机械性疼痛,而且骨转移模型小鼠相对于正常小鼠的白细胞介素-1 β (IL-1 β)、白细胞介素-6(IL-6)和肿瘤坏死因子- α (TNF- α)表达上调,而鞘内注射 EphB1-Fc 后其含量显著降低^[34]。所以, EphB1-Fc 鞘内注射可能是一种有效减少 BCP 发生的方式。YU S N 等^[35]采用 BCP 小鼠模型发现 miR-129-5p 通过抑制 EphB1/EphrinB2 信号表达发挥镇痛作用,这可能会是一个有效的治疗靶点。

LIU S 等^[36]发现 BCP 与脊髓背角和初级神经元中 EphB1 及 EphrinB2 的上调相关。特异性阻断 EphB1 减少了 BCP 中 NR1 和 NR2B 受体、Src 的磷酸化,以及随后各种依赖 Ca²⁺ 的信号酶、CREB、c-Fos 的激活和骨癌疼痛行为的激活。阻断 EphB1 后还能解除 BCP 对吗啡治疗的耐受,故脊髓中 EphB1 受体信号对骨癌疼痛的发展和解除癌性疼痛的吗啡耐受至关重要。鞘内注射 EphB1 受体阻断剂 EphB2-Fc 后,病理学观察发现肿瘤相关性骨破坏有所改善。此外, EphB1 受体还通过 Toll 样受体激活脊髓中神经胶质细胞和小胶质细胞的 IL-1 β 和 TNF- α 参与 BCP^[37]。因此, EphB1 参与 BCP 的发生、发展,而且与吗啡耐受有关,并能改善 BCP 患者骨破坏, Eph/Ephrin 在骨肿瘤及 BCP 中的作用见表 1。

表 1 Eph/Ephrin 在骨肿瘤中的作用

肿瘤类型	Eph/Ephrin 相关成员	作用
多发性骨髓瘤	EphrinB3、EphB2	介导 MM 患者成骨、肿瘤生长和肿瘤血管生成。
	EphA3	参与 MM 患者肿瘤的血管生成和肿瘤细胞的黏附。
	EphA4	促进 MM 肿瘤细胞增殖,抑制其凋亡,参与细胞黏附和耐药。
尤文氏肉瘤	EphA2/CAV1	促进 ES 血管内皮细胞向肿瘤的迁移,促进 ES 血管生成。
软骨肉瘤	EphrinA5	表达下调,与软骨肉瘤的恶性程度呈负相关。
骨肉瘤	Ephrin A4	在 OS 中两种表达模式,胞质模式与恶性程度和预后相关。
	EphA2	在 OS 中再表达并激活 Ras-MAPK 信号通路,增强肿瘤细胞迁移。
	Notch	信号作用于 EphrinB1 促进骨 OS 增殖,增强化疗耐药性,促进迁移和侵袭,还促进肿瘤生长和肺转移。
骨癌相关疼痛	EphB1	受体调节脊髓细胞炎症因子的表达而参与 BCP 的发生。BCP 患者脊髓背角和初级神经元中 EphB1/EphrinB2 及其磷酸化水平上调, EphB1 参与 BCP 患者对吗啡治疗的耐受和 BCP 患者的骨破坏。
	miR-129-5p	下调 EphB1/EphrinB2 信号通路对 BCP 发挥镇痛作用。

Eph/Ephrin: 促红细胞生成素产生肝细胞受体/配体; MM: 多发性骨髓瘤; ES: 尤文氏肉瘤; caveolin-1: 小窝蛋白; OS: 骨肉瘤; IL-1 β : 白介素-1 β ; TNF- α : 肿瘤坏死因子- α ; BCP: 骨癌疼痛。

4 小结

Eph/Ephrin 已经成为多种癌症的调节因子,能够增强或者抑制致癌信号的活性。但是,目前对 Eph/Ephrin 如何在分子水平上调节肿瘤的发展知之甚少。Eph/Ephrin 参与肿瘤血管生成、化疗耐药和 BCP 的发生过程,可能会成为肿瘤分级及预后标志物,并有望改善肿瘤相关的骨破坏。特异性的靶向药物是目前研究的热点,目前在 Eph/Ephrin 中也有相关研究^[38],例如抗 EphrinA4-卡奇霉素结合物能有效靶向作用于三阴性乳腺癌和卵巢肿瘤起始细胞,导致肿瘤持续消退。总之,在原发性或者转移性骨肿瘤中 Eph/Ephrin 发挥了明显的作用,充分理解其内在的分子作用机制,将有助于阐明骨肿瘤发生和转移的机制,并

有助于开发新的抗癌疗法。

参考文献

- [1] KOU C J, KANDPAL R P. Differential Expression Patterns of Eph Receptors and Ephrin Ligands in Human Cancers[J]. Biomed Res Int, 2018, 2018(2): 2-23.
- [2] 范文斌, 赵建宁, 包倪荣. EphB4-EphrinB2 双向信号传导在骨重建中的作用[J]. 中国骨伤, 2013, 26(8): 705-708.
- [3] WU B, ROCKEL J S, LAGARES D, et al. Ephrins and Eph Receptor Signaling in Tissue Repair and Fibrosis[J]. Curr Rheumatol Rep, 2019, 21(6): 2-11.
- [4] SAWAMIPHAK S, SEIDEL S, ESSMANN C L, et al. Ephrin-B2 regulates VEGFR2 function in developmental and tumour angiogenesis[J]. Nature, 2010, 465(7297): 487-491.
- [5] NAKAYAMA A, NAKAYAMA M, TURNER C J, et al. Ephrin-B2 controls PDGFRbeta internalization and signaling[J]. Genes Dev, 2013, 27(23): 2576-2589.

- [6] KANIA A, KLEIN R. Mechanisms of ephrin-Eph signalling in development, physiology and disease[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2016, 17(4): 240–256.
- [7] DAAR I O. Non-SH2/PDZ reverse signaling by ephrins[J]. *Semin Cell Dev Biol*, 2012, 23(1): 65–74.
- [8] PASQUALE E B. Eph receptor signalling casts a wide net on cell behaviour[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2005, 6(6): 462–475.
- [9] ARVANITIS D N, DAVY A. Regulation and misregulation of Eph/ephrin expression[J]. *Cell Adh Migr*, 2012, 6(2): 131–137.
- [10] JANES P W, GRIESSHABER B, ATAPATTU L, *et al.* Eph receptor function is modulated by heterooligomerization of A and B type Eph receptors[J]. *J Cell Biol*, 2011, 195(6): 1033–1045.
- [11] JANES P W, NIEVERGALL E, LACKMANN M. Concepts and consequences of Eph receptor clustering[J]. *Semin Cell Dev Biol*, 2012, 23(1): 43–50.
- [12] 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.
- [13] PASQUALE E B. Eph receptors and ephrins in cancer; bidirectional signalling and beyond[J]. *Nat Rev Cancer*, 2010, 10(3): 165–180.
- [14] LAMB Y N. Daratumumab; A Review in Combination Therapy for Transplant-Eligible Newly Diagnosed Multiple Myeloma[J]. *Drugs*, 2020, 81(1): 1455–1464.
- [15] TERPOS E, NTANANIS-STATHOPOULOS I, GAVRIATOPOULOU M, *et al.* Pathogenesis of bone disease in multiple myeloma: from bench to bedside[J]. *Blood Cancer J*, 2018, 8(1): 7–19.
- [16] ZHAO C, IRIE N, TAKADA Y, *et al.* Bidirectional ephrinB2-EphB4 signaling controls bone homeostasis[J]. *Cell Metab*, 2006, 4(2): 111–121.
- [17] PENNISI A, LING W, LI X, *et al.* The ephrinB2/EphB4 axis is dysregulated in osteoprogenitors from myeloma patients and its activation affects myeloma bone disease and tumor growth[J]. *Blood*, 2009, 114(9): 1803–1812.
- [18] OSHIMA T, ABE M, ASANO J, *et al.* Myeloma cells suppress bone formation by secreting a soluble Wnt inhibitor, sFRP-2[J]. *Blood*, 2005, 106(9): 3160–3165.
- [19] GUAN M, LIU L, ZHAO X, *et al.* Copy number variations of EphA3 are associated with multiple types of hematologic malignancies[J]. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk*, 2011, 11(1): 50–53.
- [20] DING L, SHEN Y, NI J, *et al.* EphA4 promotes cell proliferation and cell adhesion-mediated drug resistance via the AKT pathway in multiple myeloma[J]. *Tumour Biol*, 2017, 39(3): 1010428317694298.
- [21] CAIVANO A, LA ROCCA F, LAURENZANA I, *et al.* EphA3 acts as proangiogenic factor in multiple myeloma[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(21): 34298–34309.
- [22] GRÜNEWALD T G P, CIDRE-ARANAZ F, SURDEZ D, *et al.* Ewing sarcoma[J]. *Nat Rev Dis Primers*, 2018, 4(1): 5–27.
- [23] BAHARUDDIN W N A, YUSOFF A A M, ABDULLAH J M, *et al.* Roles of EphA2 Receptor in Angiogenesis Signaling Pathway of Glioblastoma Multiforme[J]. *Malays J Med Sci*, 2018, 25(6): 22–27.
- [24] SAINZ-JASPEADO M, HUERTAS-MARTINEZ J, LAGARES-TENA L, *et al.* EphA2-induced angiogenesis in ewing sarcoma cells works through bFGF production and is dependent on caveolin-1[J]. *PLoS One*, 2013, 8(8): e71449.
- [25] NAZERI E, GOURAN SAVADKOOHI M, MAJIDZADEH A K, *et al.* Chondrosarcoma: An overview of clinical behavior, molecular mechanisms mediated drug resistance and potential therapeutic targets[J]. *Crit Rev Oncol Hematol*, 2018, 131: 102–109.
- [26] KALINSKI T, ROPKE A, SEL S, *et al.* Down-regulation of ephrin-A5, a gene product of normal cartilage, in chondrosarcoma[J]. *Hum Pathol*, 2009, 40(12): 1679–1685.
- [27] NGUYEN T M, ARTHUR A, ZANNETTINO A C, *et al.* EphA5 and EphA7 forward signaling enhances human hematopoietic stem and progenitor cell maintenance, migration, and adhesion via Rac1 activation[J]. *Exp Hematol*, 2017, 48: 72–78.
- [28] ABDOU A G, ABD EL-WAHED M M, ASAAD N Y, *et al.* Immunohistochemical profile of ephrin A4 expression in human osteosarcoma[J]. *APMIS*, 2009, 117(4): 277–285.
- [29] ABDOU A G, ABD EL-WAHED M M, ASAAD N Y, *et al.* Ephrin A4 expression in osteosarcoma, impact on prognosis, and patient outcome[J]. *Indian J Cancer*, 2010, 47(1): 46–52.
- [30] POSTHUMADEBOER J, PIERSMA S R, PHAM T V, *et al.* Surface proteomic analysis of osteosarcoma identifies EPHA2 as receptor for targeted drug delivery[J]. *Br J Cancer*, 2013, 109(8): 2142–2154.
- [31] FRITSCHÉ-GUENTHER R, NOSKE A, UNGETHUM U, *et al.* De novo expression of EphA2 in osteosarcoma modulates activation of the mitogenic signalling pathway[J]. *Histopathology*, 2010, 57(6): 836–850.
- [32] YU L, XIA K, GAO T, *et al.* The Notch Pathway Promotes Osteosarcoma Progression through Activation of Ephrin Reverse Signaling[J]. *Mol Cancer Res*, 2019, 17(12): 2383–2394.
- [33] ZAJACZKOWSKA R, KOCOT-KEPSKA M, LEPPERT W, *et al.* Bone Pain in Cancer Patients: Mechanisms and Current Treatment[J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(23): 6047–6067.
- [34] DONG Y, MAOYING QL, CHEN J W, *et al.* Involvement of EphB1 receptor/ephrinB1 ligand in bone cancer pain[J]. *Neurosci Lett*, 2011, 496(3): 163–167.
- [35] YU S N, LIU G F, LI L Y, *et al.* Analgesic effects of microRNA-129-5p against bone cancer pain through the EphB1/EphrinB2 signaling pathway in mice[J]. *J Cell Biochem*, 2019, 120(3): 2876–2885.
- [36] LIU S, LIU W T, LIU Y P, *et al.* Blocking EphB1 receptor forward signaling in spinal cord relieves bone cancer pain and rescues analgesic effect of morphine treatment in rodents[J]. *Cancer Res*, 2011, 71(13): 4392–4402.
- [37] LIU S, LIU Y P, SONG W B, *et al.* EphrinB-EphB receptor signaling contributes to bone cancer pain via Toll-like receptor and proinflammatory cytokines in rat spinal cord[J]. *Pain*, 2013, 154(12): 2823–2835.
- [38] DAMELIN M, BANKOVICH A, PARK A, *et al.* Anti-EFNA4 Calicheamicin Conjugates Effectively Target Triple-Negative Breast and Ovarian Tumor-Initiating Cells to Result in Sustained Tumor Regressions[J]. *Clin Cancer Res*, 2015, 21(18): 4165–4173.