

EPPK1 蛋白在子宫内膜癌中的表达及其分子病理学意义

周园园¹, 崔 熙², 杨新园³, 刘丽娟⁴, 赵 乐⁴

(1. 西安交通大学第一附属医院病理科, 陕西 西安 710061; 2. 空军军医大学西京医院妇产科, 陕西 西安 710032; 3. 西安交通大学第一附属医院妇产科, 陕西 西安 710061; 4. 西安交通大学第一附属医院精准医学研究中心, 陕西 西安 710061)

[摘要]目的 探讨 epiplakin 1(EPPK1)在子宫内膜癌中的表达特征及其潜在临床意义。方法 本研究基于 TCGA 数据库,应用 R 语言对 EPPK1 在子宫内膜癌中的 mRNA 表达进行差异分析,评估其表达水平与患者年龄、病理分级等的相关性。采用 Kaplan-Meier 生存分析探讨 EPPK1 表达与总生存期(OS)和无进展生存期(PFS)之间的相关性。利用组织芯片对子宫内膜癌及癌旁组织的 EPPK1 蛋白表达进行免疫组化检测,并依据阳性细胞比例和染色强度进行评分,采用 Mann-Whitney *U* 检验进行统计分析。借助 UALCAN 和 cBioPortal 数据库,分析 EPPK1 在蛋白层面的表达模式及基因变异情况,进一步通过 TIMER2.0 平台评估其在多种肿瘤中的表达趋势。结果 EPPK1 在子宫内膜癌组织中的表达显著上调,并与患者年龄及肿瘤分级密切相关。EPPK1 高表达组患者呈现较差的 OS($HR=1.91, 95\%CI:1.26\sim2.09, P=0.020$)与 PFS($HR=1.51, 95\%CI:1.07\sim2.14, P=0.020$)。免疫组化结果进一步证实其在癌组织中蛋白表达水平上调。EPPK1 的表达与多条信号通路关键蛋白表达存在潜在关联,并在多种肿瘤中具有较高表达趋势。结论 EPPK1 在子宫内膜癌中呈高表达状态,可能参与肿瘤进展,具有潜在的诊断与预后生物标志物价值。

[关键词]子宫内膜癌;分子分型;免疫浸润;EPPK1;组织芯片

Doi:10.3969/j.issn.1673-5293.2026.04.002

[中图分类号]R173

[文献标识码]A

[文章编号]1673-5293(2026)04-0008-12

Expression of EPPK1 in endometrial carcinoma tissues and its molecular pathological significance

ZHOU Yuanyuan¹, CUI Xi², YANG Xinyuan³, LIU Lijuan⁴, ZHAO Le⁴

(1. Department of Pathology, The First Affiliated Hospital of Xi'an Jiaotong University, Shaanxi Xi'an 710061, China; 2. Department of Gynecology and Obstetrics, Xijing Hospital of Air Force Medical University, Shaanxi Xi'an 710032, China; 3. Department of Gynecology and Obstetrics, The First Affiliated Hospital of Xi'an Jiaotong University, Shaanxi Xi'an 710061, China; 4. Precision Medicine Research Center, The First Affiliated Hospital of Xi'an Jiaotong University, Shaanxi Xi'an 710061, China)

[Abstract] **Objective** To investigate expression profile of epiplakin 1 (EPPK1) in endometrial carcinoma and its potential clinical significance. **Methods** Based on The Cancer Genome Atlas (TCGA) database, using the R Programming Language software, analysis of mRNA expression levels of EPPK1 in endometrial carcinoma tissues was conducted to analyze correlations between EPPK1 expression and clinical-pathological parameters such as patient age and tumor grade. Kaplan-Meier survival analysis was performed to explore associations of EPPK1 expression with overall survival (OS) and progression-free survival (PFS). To further validate EPPK1 expression status in endometrial carcinoma tissues, immunohistochemistry (IHC) for tissue microarrays containing endometrial carcinoma tissues and adjacent non-cancerous tissues was conducted and scored based on proportion of the positive cells and staining intensity. Statistical analysis was performed using Mann-Whitney *U* test. Additionally, UALCAN and cBioPortal databases were used to characterize EPPK1 expression patterns and gene alterations, and TIMER2.0 database was further employed to assess its expression trends across multiple cancer types. **Results** EPPK1 was significantly upregulated in endometrial carcinoma tissues and closely correlated with patient age and tumor grade, and the patients with high EPPK1 expression exhibited poor OS ($HR=1.91, 95\%CI:1.26\sim2.09, P=0.020$) and PFS ($HR=1.51, 95\%CI:1.07\sim2.14, P=0.02$). IHC further confirmed

[收稿日期]2025-08-29

[基金项目]国家自然科学基金面上项目(81571393)

[作者简介]周园园(1988—),女,助理研究员,主要从事妇科恶性肿瘤的研究。

[通讯作者]赵 乐,副研究员。

upregulation of EPPK1 expression level in endometrial carcinoma tissues. Moreover, EPPK1 expression was potentially associated with expression of key proteins in multiple signaling pathways and exhibited a high expression trend across many different cancer types. **Conclusion** EPPK1 is highly expressed in endometrial carcinoma tissues and may participate in tumorigenesis and progression. It holds promise as a potential diagnostic and prognostic biomarker.

[**Key words**] endometrial carcinoma; molecular typing; immune infiltration; EPPK1; tissue microarray

子宫内膜癌是全球女性最常见的妇科恶性肿瘤之一,发病率持续上升,呈现出年轻化和多样化的发展趋势。自 2020 年以来,全球已诊断出 417 367 例子宫内膜癌新病例,报告了 97 370 例死亡病例^[1-2]。虽然早期患者预后较好,但高级别、高龄或合并不良分子特征的病例的复发与转移风险显著增加^[3-4]。探索新的分子标志物来优化子宫内膜癌的早期诊断与精准治疗,对于改善患者预后具有重要意义。

Epiplakin 1(EPPK1)是斑素蛋白(plakin)家族的一员,编码一种超大分子结构蛋白,广泛存在于皮肤、胃肠及泌尿生殖道等上皮组织中。已有研究提示,EPPK1 可能通过稳定细胞骨架、维持细胞连接等方式参与上皮完整性与应激反应调控^[5]。值得注意的是,近年来部分肿瘤研究中发现 EPPK1 的表达异常与肿瘤恶性行为密切相关,如在宫颈癌、胃癌、膀胱癌等实体瘤中其高表达可促进肿瘤细胞增殖、迁移与化疗耐药^[6-9]。然而,EPPK1 在子宫内膜癌中的表达特征与临床价值研究较少,需要进一步系统研究。

本研究综合利用 TCGA(The Cancer Genome Atlas,TCGA)等多种公共数据库结合组织芯片免疫组化检测和分析,对 EPPK1 在子宫内膜癌中的表达情况、与临床病理特征的相关性、预后价值及泛癌表达模式进行了初步探讨,旨在为 EPPK1 在子宫内膜癌中的临床价值与潜在作用提供可靠依据。

1 材料和方法

1.1 EPPK1 在泛癌中的差异表达分析

本研究所指“泛癌”涵盖 TCGA 数据库中 33 种主要肿瘤类型。利用 TIMER2.0 数据库(<http://timer.cistrome.org/>)的 Gene_DE 模块,基于 TCGA 官方转录组数据,通过 Wilcoxon 秩和检验计算分析 EPPK1 在 33 种 TCGA 肿瘤类型及其对应癌旁正常组织中的 mRNA 表达水平差异,并以箱线图形式展示各癌种中 EPPK1 的表达分布。统计显著性以星

号标注(* $P<0.05$,** $P<0.01$,*** $P<0.001$)。

1.2 EPPK1 在子宫内膜癌中的表达差异和临床特征

从 TCGA 和 GTEx(Genotype-Tissue Expression,GTEx)数据库分别获取子宫内膜癌肿瘤组织及正常子宫内膜组织的 RNA 测序数据和相应临床信息,提取 TPM 格式的数据,数据下载与整合通过 UCSC Xena 平台(<https://xenabrowser.net/>)完成。数据分析使用 R 语言(V4.3.1)进行,采用 limma 包对肿瘤与正常组织中 EPPK1 的表达进行比较,采用 dplyr 包对患者进行年龄(≤ 65 岁与 >65 岁)和病理分级(G1/G2 与 G3/G4)分组,使用 ggplot2 包对 EPPK1 表达在不同组别中的分布进行可视化。组间表达差异的统计检验采用 stats 包中的 wilcox.test()函数(Mann-Whitney U 检验)。多变量关联的热图通过 pheatmap 包绘制。EPPK1 蛋白水平的表达数据来源于 UALCAN 数据库(<http://ualcan.path.uab.edu/>)的 CPTAC 蛋白质组学模块,比较了子宫内膜癌肿瘤组织与正常组织中 EPPK1 的蛋白表达。利用 TISIDB 数据库(<http://cis.hku.hk/TISIDB/>)分析 EPPK1 在不同免疫分型及分子分型中的表达。

1.3 EPPK1 在子宫内膜癌中的基因变异分析

EPPK1 基因的变异分析基于 cBioPortal 数据库(<https://www.cbioportal.org/>)检索 TCGA-UCEC 队列进行。提取包括突变、扩增、深度缺失等结构变异类型,并统计其不同组织学亚型、分子分型及肿瘤分级中的分布频率。进一步整合 POLE、肿瘤蛋白 53(tumor protein 53,TP53)、CTNNB1 等关键驱动基因的变异状态,以及肿瘤突变负荷(Tumor Mutational Burden,TMB)和微卫星不稳定性(Microsatellite Instability,MSI)评分,分析 EPPK1 变异与相关分子特征和免疫标志物之间的关联。变异频率及相关分布采用非参数检验评估统计学差异。

1.4 EPPK1 与免疫浸润的相关性分析

基于 TIMER 数据库(<https://cistrome.shin->

yapps.io/timer/),分析 EPPK1 表达与多种免疫细胞(包括 CD4⁺T 细胞、CD8⁺T 细胞、B 细胞、巨噬细胞、中性粒细胞、树突状细胞)浸润水平之间的相关性。相关性采用肿瘤纯度校正后的 Spearman 相关系数进行计算,并评估其统计学意义。 $P < 0.05$ 为统计学显著标准。

1.5 EPPK1 功能富集分析

通过蛋白互作网络构建与多通路富集分析探讨 EPPK1 的功能机制。首先,利用 STRING 数据库(<https://string-db.org/>)预测 EPPK1 与其互作蛋白,构建蛋白互作网络。进一步通过 GEPIA2.0 数据库(<http://gepia2.cancer-pku.cn/>),在 TCGA-UCEC 数据集中提取与 EPPK1 表达高度相关的前 100 个基因。将上述基因列表输入 WebGestalt 平台(<https://www.webgestalt.org/>),分别进行 Gene Ontology(GO)、KEGG 和 Reactome 通路富集分析,显著性阈值为 $FDR < 0.05$ 。此外,采用 UALCAN 数据库(<http://ualcan.path.uab.edu/>)分析 EPPK1 蛋白表达在多条经典肿瘤相关通路分子变异状态下的差异,评估其与 Hippo、WNT、mTOR、RTK、p53/Rb、SWI-SNF、MYC/MYCN、NRF2 等信号通路的关联。所有分析均采用非参数检验, $P < 0.05$ 为统计学意义标准。

1.6 EPPK1 在子宫内膜癌中的预后分析

基于前述获取的 TCGA-UCEC 队列的临床资料,按 EPPK1 表达中位数将患者分为高、低表达两组,采用 Kaplan-Meier 生存曲线评估其在总体生存(overall survival, OS)和无进展生存(progression free survival, PFS)方面的差异,生存分析及绘图均通过 R 包“survival”及“survminer”实现,组间差异通过 log-rank 检验评估, $P < 0.05$ 为统计学显著。同时,采用 R 包“timeROC”绘制 EPPK1 表达对 1 年、3 年和 5 年生存结局的受试者工作特征(receiver operator characteristic, ROC)曲线,并计算对应曲线下面积(area under the curve, AUC),以评估其作为预后生物标志物的判别能力。

1.7 免疫组化检测

本研究所用子宫内膜癌及癌旁组织芯片从上海威奥生物科技有限公司购得。采用免疫组化(immu-

nohistochemistry, IHC)方法检测 EPPK1 蛋白的组织表达。具体流程如下:石蜡切片依次经二甲苯脱蜡,梯度乙醇(100%、95%、80%)水化后,用 3% 过氧化氢溶液室温孵育 15 分钟以阻断内源性过氧化物酶活性,随后以去离子水充分洗涤。抗原修复采用柠檬酸钠缓冲液微波加热法完成。切片用 3% BSA 室温封闭 30 分钟后,于 4 °C 冰箱中孵育兔抗人 EPPK1 抗体(Sigma Aldrich,货号 HPA069333, 1:100)过夜。复温后,加入二抗(北京中杉金桥,货号 PV-6000)室温孵育 30 分钟,随后加 DAB(北京中杉金桥,货号 ZLI-9018)显色,最后用苏木素复染,依次经梯度乙醇(75%、85%、95%、100%)脱水、二甲苯透明、封片。

所有切片在显微镜下随机选取五个不重叠高倍视野,计算每视野阳性细胞百分比后取均值。染色范围评分:≤5% 记 0 分,6%~25% 记 1 分,26%~50% 记 2 分,51%~75% 记 3 分,76%~100% 记 4 分;染色强度评分:弱阳性记 1 分,中等阳性记 2 分,强阳性记 3 分。最终 IHC 复合评分(H-score)为范围分值与强度分值之积,取值 0~12 分。所有切片均由两位病理医师双盲阅片,独立评估,结果不一致时经协商复议。

统计分析采用 GraphPad Prism 9 软件。EPPK1 在肿瘤与癌旁组织中的阳性表达率采用卡方检验比较;IHC 评分的分布经 Shapiro-Wilk 检验评估正态性,因不符合正态分布,两组间的 H-score 采用 Mann-Whitney U 检验进行比较。 $P < 0.05$ 为统计学显著差异标准。

2 结果

2.1 EPPK1 在子宫内膜癌中高表达并与临床特征密切相关

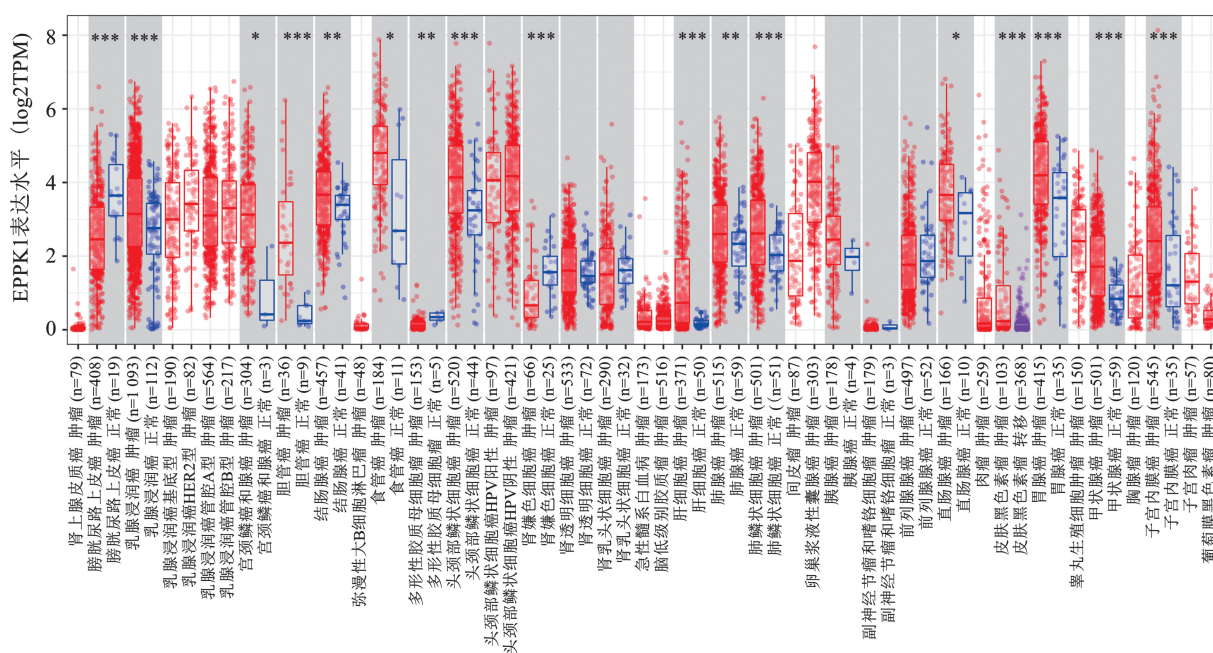
通过 TIMER2.0 数据库分析发现,EPPK1 在多种肿瘤中表达上调,包括乳腺癌、胆管癌、结肠癌、食管癌、头颈鳞状细胞癌、肝细胞肝癌、肺腺癌、肺鳞癌、直肠腺癌、胃癌、甲状腺癌、子宫内膜癌(图 1)。进一步利用 TCGA+GTEx 样本分析显示,子宫内膜癌中 EPPK1 的 mRNA 水平显著高于正常组织(图 2A)。UALCAN 数据库蛋白水平分析亦表明,EPPK1 在子宫内膜癌中的蛋白表达高于正常组织

(图 2B)。临床相关性分析显示,EPPK1 表达水平在不同年龄和病理分级的患者间存在显著差异。年龄分组数据显示, >65 岁组患者的 EPPK1 表达高于 ≤ 65 岁组(图 2C);分级分组分析中,高级别肿瘤(G3-G4)组织中 EPPK1 表达显著高于低级别(G1-G2)组织(图 2D)。为进一步明确 EPPK1 表达水平与临床变量的整体现象,本研究绘制了按 EPPK1 表达状态分组的人群特征热图(图 2E)。结果显示,在 EPPK1 高表达组中,年龄 >65 岁与高级别(G3/G4)患者集中分布,提示 EPPK1 表达状态在整体患者构型中呈现出年龄偏大与恶性程度较高的聚集特征。此外,TISIDB 数据库分析结果显示,EPPK1 在不同免疫分型(图 2F)及分子分型(图 2G)中亦存在显著表达差异,在不同免疫分型中,EPPK1 在 C4(淋巴细胞耗竭型)中表达水平最高,其次为 C1(伤口愈合型)和 C2(IFN- γ 主导型),在 C3(炎症型)中表达较低,而 C6(TGF- β 主导型)由于样本数过少($n=1$),不具备参考价值(图 2F)。在分子分型中,EPPK1 在 CN_HIGH 型患者中表达水平最高,其次为 MSI 型与 POLE 型,在 CN_LOW 型中表达最低,组间差异具有统计学意义(图 2G),提示其可能参与调控子宫内膜癌分子亚型特征及免疫微环境。

2.2 EPPK1 在子宫内膜癌中的突变特征及其与关键驱动基因变异的关系

为进一步探索 EPPK1 在子宫内膜癌中的遗传变异特征,首先利用 cBioPortal 数据库对其在 TCGA 泛癌队列中的基因变异频率进行了分析(图 3A)。结果显示,EPPK1 在多种肿瘤中均存在一定程度的基因变异,其中在子宫内膜癌中突变频率相对较高,主要为突变、扩增和深度缺失。进一步分析不同组织学亚型发现,混合型子宫内膜样癌中 EPPK1 变异频率最高,其次为子宫内膜样癌,最低为浆液性癌(图 3B)。EPPK1 变异在 G3 及高级别肿瘤中显著富集(图 3C),在 POLE 型和 MSI 型分子亚型中更为集中(图 3D)。

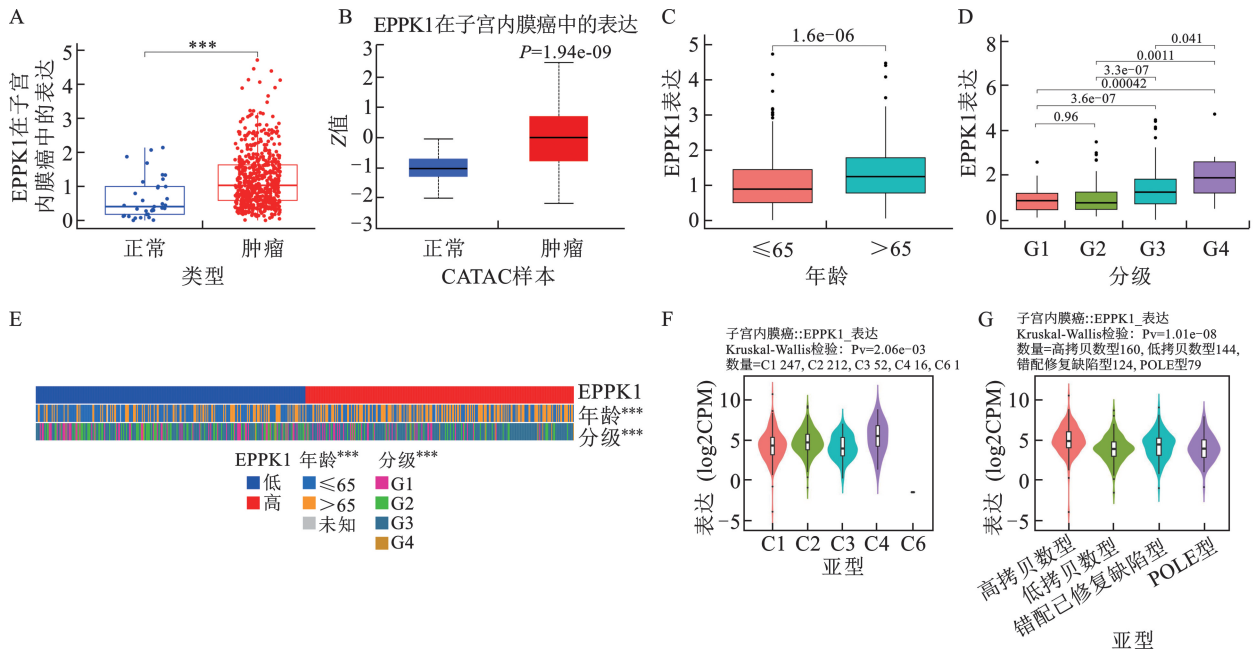
EPPK1 变异与免疫相关生物标志物之间的相关性分析显示, EPPK1 变异组的 TMB 水平显著升高(图 4A), 且在 MSI MANTIS 评分和 MSIsensor 评分中亦显著高于非变异组(图 4B、C)。此外, 尽管 EPPK1 变异仅与 POLE 突变相关, 而与 TP53 及 CTNNB1 突变状态无显著相关性(图 4D), 其 mRNA 表达水平却与 POLE、CTNNB1 呈正相关, 与 TP53 负相关(图 4E~4G)。



注: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ 。

图 1 TIMER2.0 数据库分析 EPPK1 在泛癌中的表达

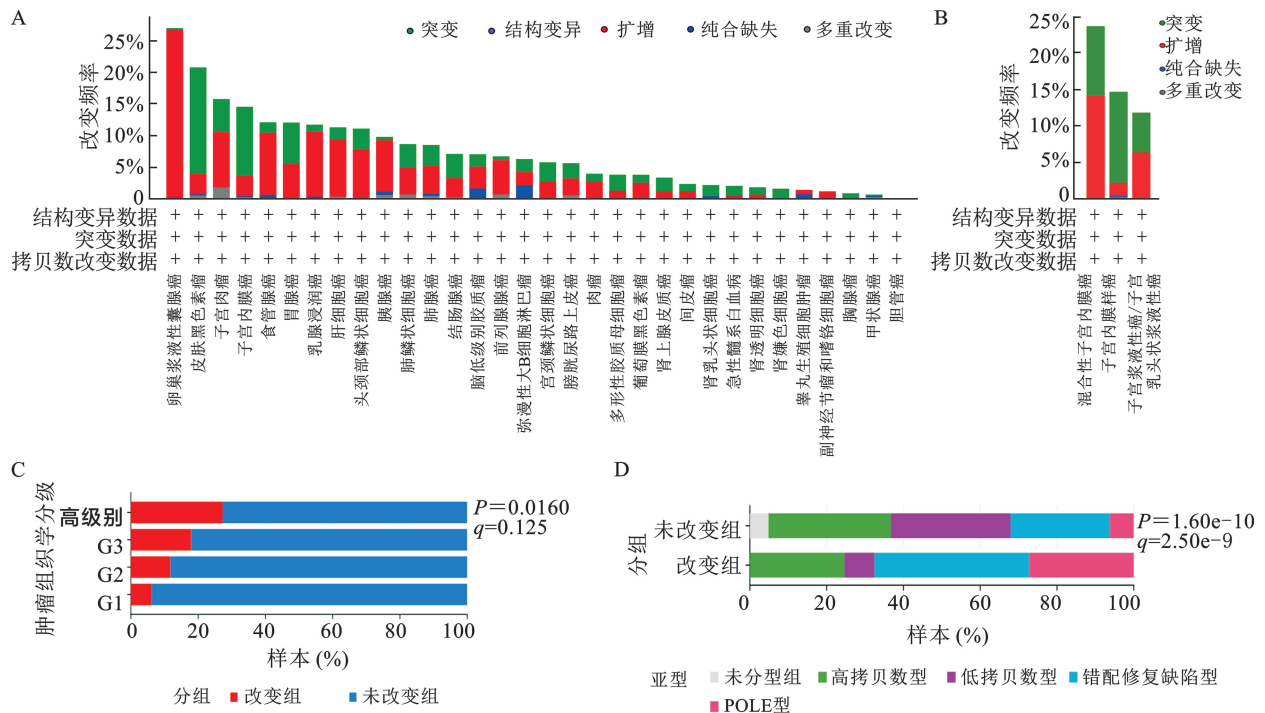
Fig. 1 EPPK1 expression across pan-cancer analyzed by TIMER2.0 database



注:A;EPPK1 在子宫内膜癌与正常内膜组织中的 mRNA 表达差异(TCGA+GTEx 数据)(*** $P<0.001$);B;EPPK1 在子宫内膜癌与正常内膜组织中的蛋白表达差异(UALCAN 数据库);C;不同年龄患者组间 EPPK1 的表达差异;D;不同病理分级患者组间 EPPK1 的表达差异;E;EPPK1 表达状态与年龄及肿瘤分级的人群分布热图(*** $P<0.001$);F;EPPK1 在不同免疫分型子宫内膜癌中的表达差异;G;EPPK1 在不同分子分型的子宫内膜癌中的表达差异。

图 2 EPPK1 在子宫内膜癌中的表达分析

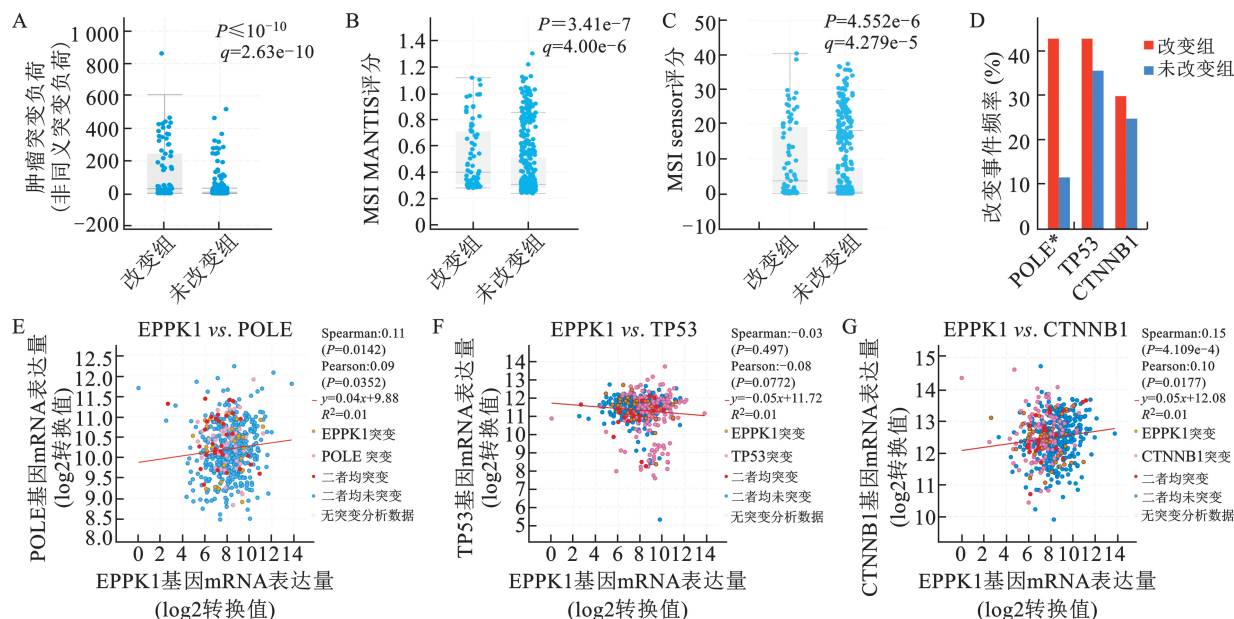
Fig. 2 Expression of EPPK1 in endometrial carcinoma tissues



注:A;基于 cBioPortal 数据库展示 EPPK1 在 TCGA 泛癌队列中的基因变异频率;B;EPPK1 在子宫内膜癌不同组织学亚型中的突变频率差异;C;EPPK1 基因变异与子宫内膜癌病理分级的相关性;D;EPPK1 基因变异与 TCGA 分子分型的相关性。

图 3 EPPK1 在子宫内膜癌中的突变特征及与关键基因突变的相关性分析

Fig. 3 Mutational profile of EPPK1 in endometrial cancer tissues and its correlation with key gene mutations



注: A: EPPK1 基因变异与 TMB 水平的关系; B: EPPK1 变异组与非变异组的 MSI MANTIS 评分差异; C: EPPK1 变异组与非变异组的 MSIsensor 评分差异; D: EPPK1 变异与 POLE、TP53、CTNNB1 三种基因突变状态的关系; E: EPPK1 与 POLE 表达的相关性; F: EPPK1 与 TP53 表达的相关性; G: EPPK1 与 CTNNB1 表达的相关性。

图 4 EPPK1 基因变异与子宫内膜癌分子特征及免疫相关指标的关联分析

Fig. 4 Association of EPPK1 genetic alterations with molecular characteristics and immune markers in endometrial cancer

2.3 EPPK1 表达与肿瘤免疫微环境的相关性

为进一步探讨 EPPK1 在肿瘤免疫调控中的潜在作用,本研究利用 TIMER2.0 平台分析其表达水平与子宫内膜癌中多种免疫细胞浸润程度之间的相关性(图 5)。结果显示,EPPK1 表达与 $CD8^+$ T 细胞 (partial. cor = -0.282, $P < 0.001$) 和巨噬细胞 (partial. cor = -0.230, $P < 0.001$) 浸润水平呈显著

负相关,与 $CD4^+$ T 细胞 (partial. cor = 0.142, $P = 0.016$) 及中性粒细胞 (partial. cor = 0.170, $P = 0.004$) 呈正相关,而与肿瘤纯度、B 细胞和树突状细胞的相关性不显著 (均 $P > 0.05$)。这些结果提示,EPPK1 可能通过调控肿瘤免疫微环境影响子宫内膜癌的免疫状态。

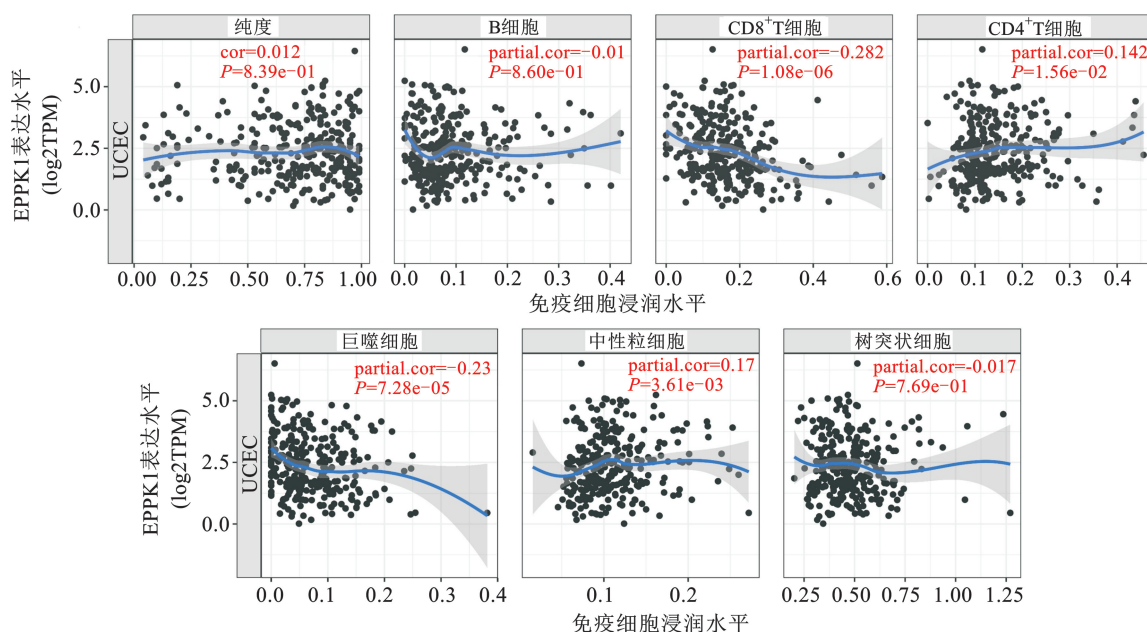


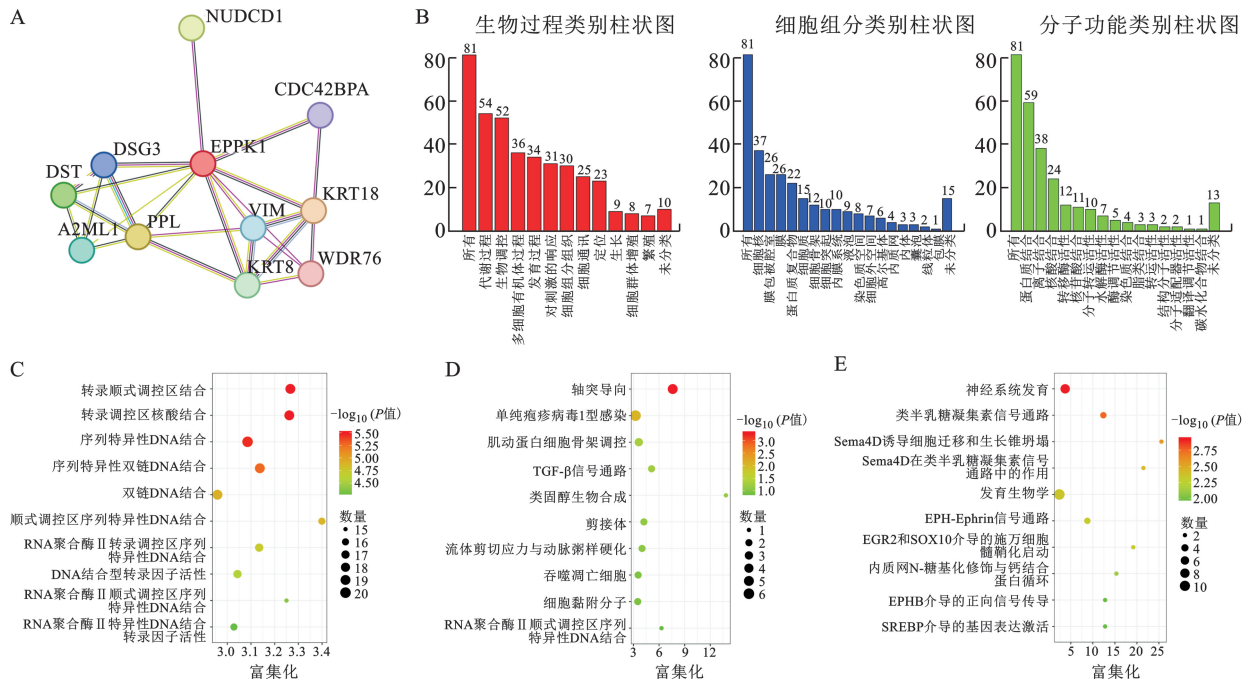
图 5 EPPK1 表达与肿瘤免疫微环境的相关性

Fig. 5 Correlation of EPPK1 expression with tumor immune microenvironment

2.4 EPPK1 相关的功能富集与信号通路分析

为进一步揭示 EPPK1 的潜在功能机制,本研究基于 STRING 数据库构建了其蛋白互作网络(图 6A),结果显示 EPPK1 与多种细胞骨架相关蛋白,包括角蛋白 8(keratin 8, KRT8)、角蛋白 18(keratin 18, KRT18)、波形蛋白(vimentin, VIM)、桥粒芯糖蛋白 3(desmoglein 3, DSG3)、肌张力障碍蛋白(dystonin, DST)等,存在直接或间接互动关系,提示其可能参与细胞结构与黏附等生物学过程。进一步使用 WebGestalt 工具进行功能富集分析,GO 富集分析结果提示,EPPK1 相关基因广泛参与代谢调控、细胞结构重塑与基因表达调控等多个生物学过

程。在细胞组分层面上,这些基因显著富集于细胞骨架、膜结合结构及胞质组分等区域;在分子功能方面,主要涉及 DNA 结合、转录调控活性和蛋白相互作用等功能模块(图 6B、C)。KEGG 通路分析表明其显著富集于轴突导向、TGF- β 信号通路、胞吞作用、剪接体等通路(图 6D);Reactome 通路富集分析进一步揭示其与神经系统发育、Semaphorin 介导的信号转导与细胞迁移等通路、SREBP 介导的基因激活等过程密切相关(图 6E)。这些结果表明,EPPK1 可能通过参与多种调控转录、信号转导及黏附相关通路,在子宫内膜癌的发生发展中发挥重要作用。



注:A:STRING 数据库预测的 EPPK1 蛋白互作网络;B:GO 分析结果,分别展示生物过程、细胞组分、分子功能三类显著条目;C:GO 富集分析综合气泡图;D:KEGG 通路富集分析气泡图;E:Reactome 通路富集分析气泡图。点大小代表富集条目包含的基因数,颜色代表 P 值的显著性。

图 6 EPPK1 相关蛋白互作网络与功能富集分析

Fig. 6 EPPK1-associated protein-protein interaction (PPI) network and functional enrichment analysis

2.5 EPPK1 蛋白表达水平与关键信号通路的关联分析

为探讨 EPPK1 在子宫内膜癌中的功能潜能,本研究利用 UALCAN 数据库分析其蛋白表达与多个癌症相关通路基因变异状态之间的关系(图 7)。结果显示,EPPK1 蛋白表达在以下通路变异组中显著上调:HIPPO(图 7A)、WNT(图 7B)、mTOR(图 7C)、RTK(图 7E)、p53/Rb 相关通路(图 7F)、SWI-SNF 复合物(图 7G)、MYC/MYCIN(图 7H)及染色

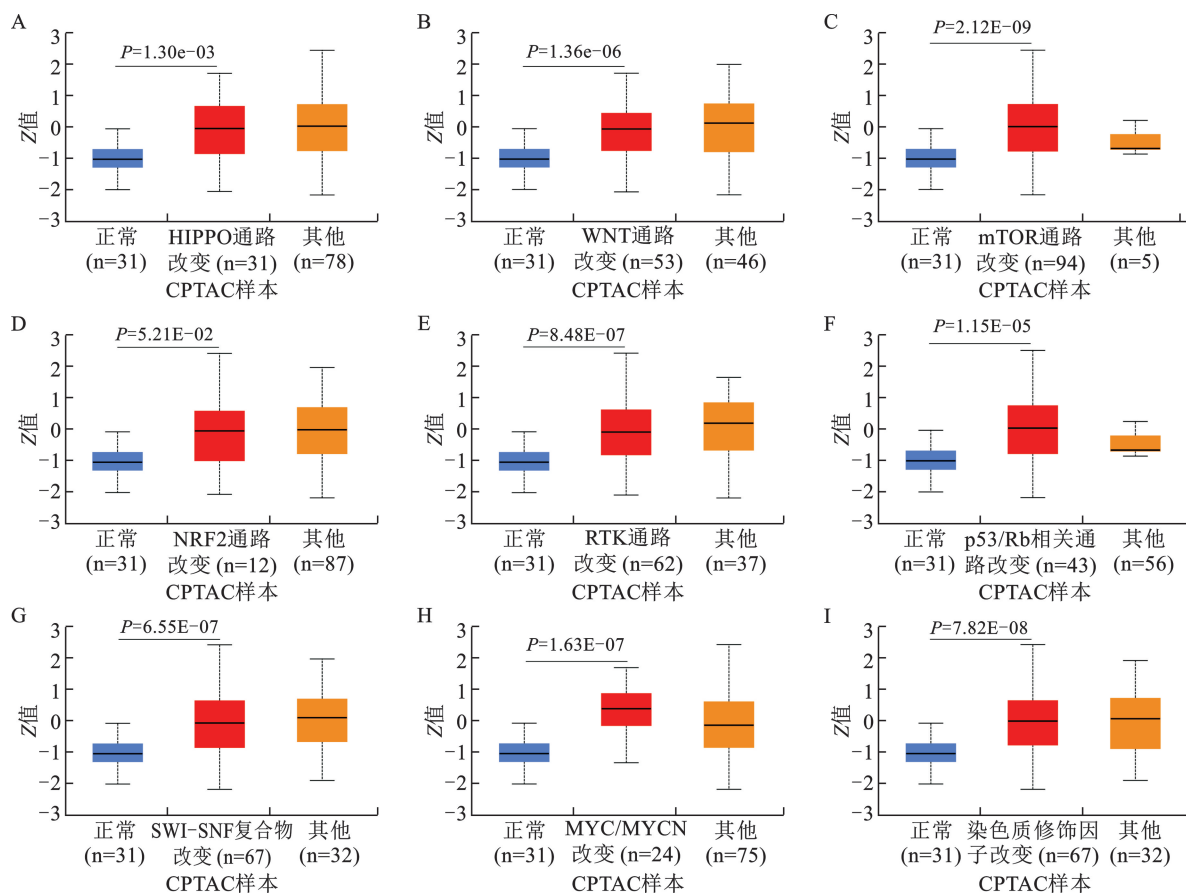
质修饰因子(图 7I),上述差异均具有统计学意义(P 均 <0.001)。NRF2 通路(图 7D)组中虽呈上调趋势,但差异不显著($P=0.052$)。该结果提示 EPPK1 可能参与多条关键致癌信号通路的调控,在子宫内膜癌发生发展中具有广泛的分子交互基础。

2.6 EPPK1 表达水平与子宫内膜癌患者预后相关

为评估 EPPK1 在子宫内膜癌中的临床意义,本研究基于 TCGA 队列,分析了 EPPK1 表达水平与

患者生存结局的关系。Kaplan-Meier 生存分析显示,EPPK1 高表达组的总体生存率(OS)显著低于低表达组($HR = 1.91, 95\% CI: 1.26 \sim 2.09, P = 0.020$),提示其高表达可能预示较差的预后(图 8A)。在无进展间隔期(PFI)方面,EPPK1 高表达组亦表现出 PFI 下降趋势($HR = 1.51, 95\% CI:$

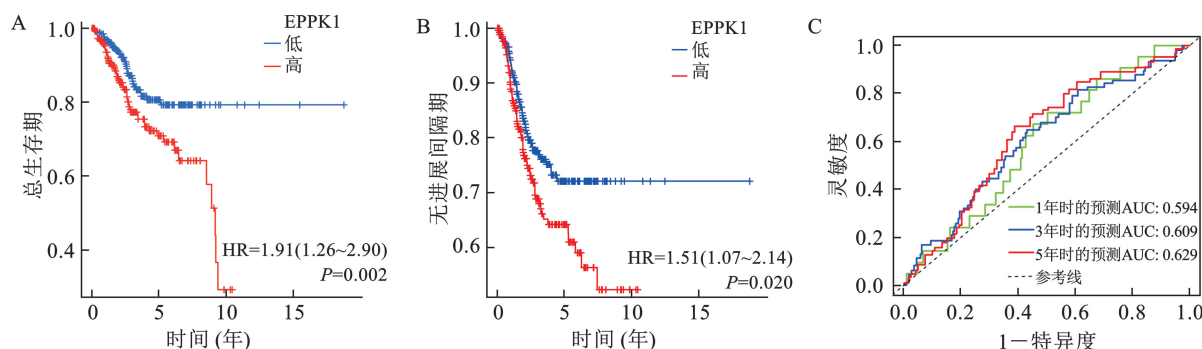
$1.07 \sim 2.14, P = 0.020$;图 8B)。为评估 EPPK1 的预后预测效能,进一步绘制 ROC 曲线。结果显示,EPPK1 预测 1 年、3 年和 5 年总生存的 AUC 值分别为 0.594、0.609 和 0.629(图 8C),提示其具有一定的时间依赖性预后判别价值,但预测能力仍需结合其他指标进一步验证。



注:基于 UALCAN 数据库的 CPTAC 蛋白组数据,比较 EPPK1 在不同通路变异状态下的表达水平(Z 值表示标准化蛋白表达水平)。A:HIPPO 通路;B:WNT 通路;C:mTOR 通路;D:NRF2 通路;E:RTK 通路;F:p53/Rb 相关通路;G:SWI-SNF 复合物;H:MYC/MYCIN 通路;I:染色质修饰因子通路。

图 7 EPPK1 蛋白表达与关键通路基因变异状态的关系分析

Fig. 7 Relationship of EPPK1 expression with key pathway gene alteration status



注:A:总体生存(OS)分析;B:无进展生存(PFI)分析;C:1 年、3 年、5 年生存的 ROC 曲线。

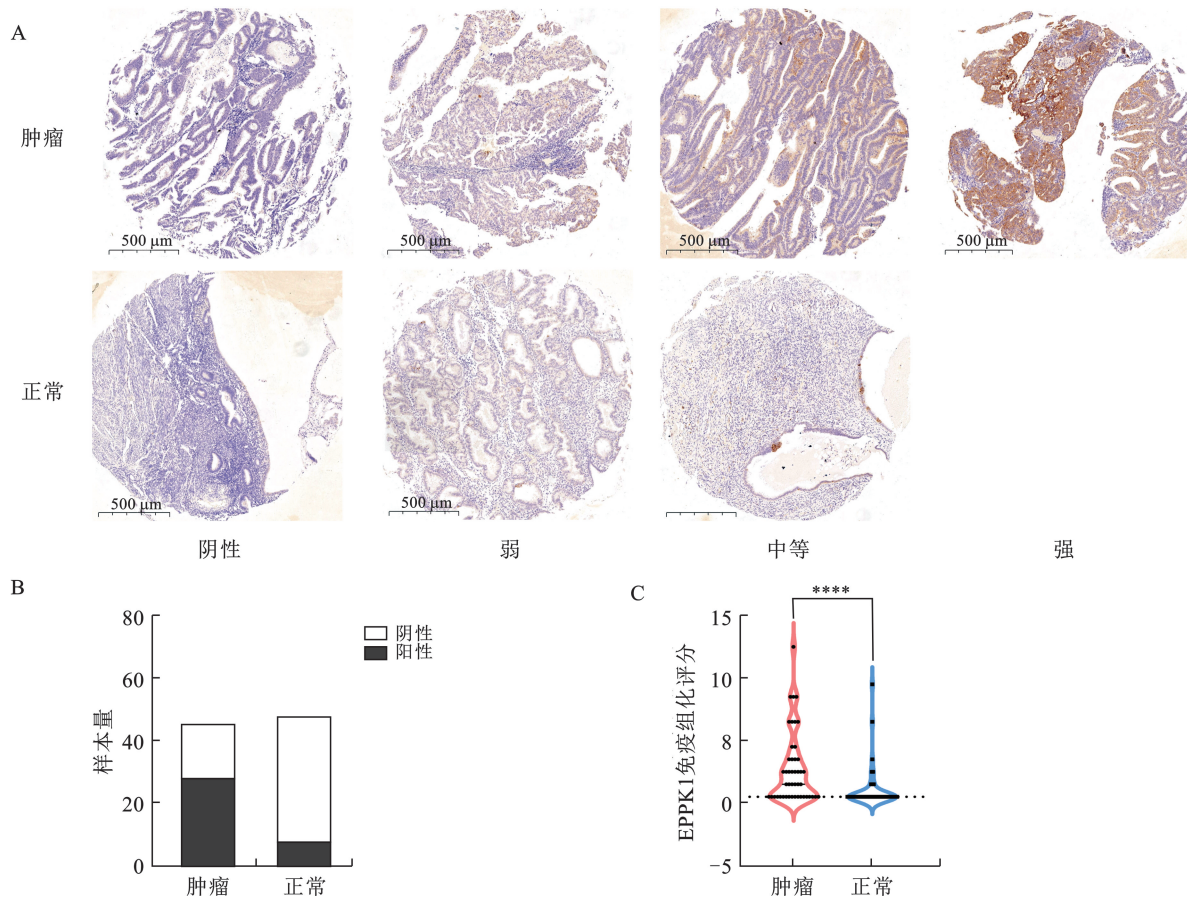
图 8 EPPK1 表达水平与子宫内膜癌预后的关系

Fig. 8 Association of EPPK1 expression level with prognosis of endometrial cancer

2.7 EPPK1 在子宫内膜癌组织中呈高表达

为验证 EPPK1 在子宫内膜癌中的表达特征,本研究采用组织芯片结合免疫组化方法对其蛋白水平进行了检测与评分。结果显示,EPPK1 在癌组织中呈现由弱至强不同程度的阳性表达,而在正常子宫内膜组织中以阴性或弱阳性为主(图 9A)。卡方分析显示,肿瘤组织中 EPPK1 阳性率显著高于正常组

织(图 9B)。进一步对两组的免疫组化评分(H-score)进行比较分析,结果显示子宫内膜癌组织中的 EPPK1 表达水平显著高于正常组织,差异经 Mann-Whitney U 检验确认具有统计学意义($U=598$,效应量 $r=0.458$, $P<0.0001$,图 9C)。该结果进一步验证了数据库分析结果,提示 EPPK1 在子宫内膜癌中可能具有重要的功能作用。



注:A:组织芯片免疫组化图像示例,显示 EPPK1 在子宫内膜癌(Tumor)和正常组织(Normal)中的表达强度分布,包括阴性、弱阳性、中等阳性和强阳性;B:卡方检验分析 EPPK1 免疫染色阳性率在肿瘤与正常组织中的分布比较;C:子宫内膜癌与正常组织中 EPPK1 免疫组化评分(H-score)差异,采用 Mann-Whitney U 检验(**** $P<0.0001$)。

图 9 EPPK1 在子宫内膜癌与正常组织中的免疫组化分析

Fig. 9 IHC analysis of EPPK1 expression in endometrial cancer tissues and normal tissues

3 讨论

3.1 EPPK1 在不同肿瘤中的作用

子宫内膜癌是发生于子宫内膜上皮的常见妇科恶性肿瘤,其发病率在全球范围内持续上升。据美国癌症协会统计,自 2000 年以来,子宫内膜癌在美国每年发病率平均增长 0.6%,死亡率也呈上升趋势,2013—2022 年死亡率年增长约 1.6%。在我国,随着肥胖率的上升和生活方式的改变,子宫内膜癌

呈现年轻化趋势,已成重要公共卫生问题^[10]。近年来,越来越多研究尝试通过开发新的分子或蛋白标志物以提升子宫内膜癌的诊断与风险分层能力,例如血清 S100A8 与 PD-L1 联合检测已显示出一定的诊断及预后价值^[11]。细胞骨架在维持肿瘤细胞形态、黏附、迁移及信号传导等方面的关键作用逐渐受到重视^[12-13]。作为连接中间纤维、稳定细胞骨架结构的重要成分,EPPK1 在细胞应激反应与结构重建中扮演核心角色。已有研究提示,12%的肺腺癌存

在 EPPK1 改变,可促进上皮-间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)与肿瘤进程,与吸烟及早期预后不良相关^[14];在宫颈癌中, EPPK1 表达受 KLF5 调控,并通过 p38 MAPK 通路促进细胞增殖^[9];在食管鳞癌中,其也参与 PI3K/AKT 信号调节并促进肿瘤转移^[15];子宫内膜癌中也有报道提示 EPPK1 高表达可作为 I 型子宫内膜癌不良预后独立标志物^[16]。尽管 EPPK1 的功能在多种肿瘤中已初露端倪,其在子宫内膜癌中的表达模式、分子机制及临床意义仍缺乏系统研究。因此,本研究采用多维度策略,综合 TCGA 及多平台数据,从临床特征、组织学分级、TCGA 分子分型、TISIDB 免疫分型及蛋白表达多个层面系统评估 EPPK1 在子宫内膜癌中的表达特征、突变背景、分子分型关联、免疫微环境作用及其对患者预后的潜在影响,力图为 EPPK1 在子宫内膜癌中的功能定位与临床应用提供理论依据。

3.2 EPPK1 在子宫内膜癌中的变化

对多种肿瘤类型的泛癌分析显示, EPPK1 在不同癌种中的表达水平及变异频率存在显著差异,其中在子宫内膜癌中表达显著上调,并伴有较高的突变发生率,提示其可能具有组织特异性的致癌作用与分子分型关联价值。在子宫内膜癌队列中, EPPK1 呈现出从 mRNA 至蛋白水平均一致的高表达特征,且在肿瘤分级和年龄临床亚组中表现出一定的相关性。进一步分析发现,其表达在免疫及分子分型中亦存在差异性特征。尤其在免疫抑制特征明显的 C4 亚型中表达水平较高,提示其可能参与调控免疫耗竭或免疫逃逸过程;而在 TCGA 定义的分型中, EPPK1 在高拷贝数型(CN-high)中表达最高,亦在 MSI 和 POLE 型中保持较高水平,提示其表达水平可能与基因组不稳定状态密切相关。

进一步从基因变异层面分析发现, EPPK1 在子宫内膜癌中虽整体突变比例不及 POLE、TP53 等经典驱动基因,但在 POLE 超突变型与 MSI 型亚型中,其变异检出率显著升高,提示其可能参与这些特定分子背景下的异常生物学过程。根据 TCGA 提出的分子分型体系,子宫内膜癌可划分为 POLE 超突变型、微卫星不稳定型(MSI-H)、低拷贝数型(CN-low)与高拷贝数型(CN-high)四种亚型,具有

不同的基因组特征与临床结局。其中, POLE 突变型常伴极高的肿瘤突变负荷(TMB)、丰富的免疫细胞浸润及良好的预后,被认为是适合实施保守治疗的关键人群,常作为孕激素治疗的优选对象^[17],已被纳入多项临床指南作为治疗分层的重要依据^[18]。本研究发现, EPPK1 基因变异显著集中于 POLE 与 MSI 亚型,且 EPPK1 变异组的 TMB 与 MSI 评分水平均显著高于非变异组,支持其可能在免疫原性较高的肿瘤环境中具有潜在功能。然而值得注意的是, EPPK1 的表达水平在 CN-high 亚型中反而最高,而在 MSI 与 POLE 型中次之, CN-low 型最低。这个现象说明其在基因变异与转录表达层面可能存在不同调控机制。在结肠癌的相关研究中指出,某些微生物可以诱导错配修复功能缺陷突变模式,并伴随 EPPK1 突变的富集现象^[19]。这一观察表明, EPPK1 突变可能并不总是肿瘤细胞自主演变的结果,而在微环境刺激或炎症状态下也可能被免疫相关机制所驱动。这为本研究观察到的变异与表达不一致情况提供了一种可能的解释。总之,这种表达与变异不对称的分布特征反映了其在特定背景下的复杂角色,亦为理解其在子宫内膜癌中是否发挥驱动或协同作用提供了重要启示。

此外, TP53 作为 CN-high 和 CN-low 亚型的核心驱动基因,其突变在浆液型肿瘤中尤为常见,往往提示较强的侵袭性及不良预后;而 CTNNB1(编码 β -catenin 蛋白)突变则被广泛认为是无特异性分子谱型(NSMP 型)^[20]再分层的重要依据,在低级别、I 期子宫内膜样癌中与较高复发风险密切相关,并已被多个专家共识纳入辅助治疗决策推荐^[21]。尽管本研究未观察到 EPPK1 变异与 TP53 或 CTNNB1 突变的直接关联,其表达水平却与上述驱动基因呈一定共表达趋势,尤其在 CN-high 型中高度表达,进一步暗示其可能参与与染色体不稳定及关键分子信号轴相关的功能调控过程。

3.3 EPPK1 与免疫微环境及关键分子的关系

EPPK1 的表达水平亦与免疫细胞浸润特征密切相关,其高表达倾向于与细胞毒性 T 细胞和巨噬细胞的浸润降低相关,而与辅助性 T 细胞和炎性细胞如中性粒细胞的浸润增强相关。这种偏向性提示 EPPK1 可能在免疫逃逸过程中发挥一定作用,或通

过影响免疫细胞的募集与活性,调节肿瘤局部免疫平衡,进而参与免疫抑制型微环境的维持。结合前述其在 C4(淋巴细胞耗竭型)免疫分型中的高表达特征,进一步支持了其可能与免疫耗竭、TME(肿瘤微环境)免疫逃逸等关键通路相关。

进一步机制探讨显示,EPPK1 通过与 VIM 等细胞骨架相关分子的互作,可能参与调控肿瘤细胞的结构稳定与迁移能力。值得注意的是,VIM 作为上皮-间质转化(EMT)的核心标志物,其激活通常与肿瘤细胞获得更强侵袭性、转移性相关^[22]。本研究的富集分析亦显示,EPPK1 相关基因高度富集于细胞黏附与细胞骨架重塑等通路,提示其可能通过影响 VIM 介导的 EMT 过程,促进子宫内膜癌细胞的恶性进展。文献报道,EPPK1 缺失不仅可下调肺癌中 MYC 的表达,还会同时上调 p53 蛋白和 mRNA^[14],这与本研究在 MYC 通路相关变异组 EPPK1 蛋白显著上调的观察形成呼应。MYC 不仅在调控细胞周期、代谢和凋亡方面扮演中心角色,也被证实能够与细胞骨架和黏附结构相互作用,参与细胞迁移与肿瘤扩散。因此,EPPK1 可能通过整合 MYC、VIM 等信号轴,协同调控细胞骨架稳态和转录调控网络,影响肿瘤细胞的动态行为。此外,本研究观察到 EPPK1 蛋白表达与 p53/Rb 通路相关变异组高度相关,结合其对 p53 表达的调控作用,提示 EPPK1 可能在肿瘤抑制机制失活及细胞周期紊乱中发挥桥梁作用。上述结果不仅强调了 EPPK1 在信号网络中的多面性,还为后续深入揭示其功能提供了理论基础。

3.4 EPPK1 的预后意义

在预后层面上,本研究观察到 EPPK1 高表达与不良预后指标呈一致趋势。Kaplan-Meier 生存分析显示,EPPK1 高表达组的总生存(OS)及无进展生存间隔期(PFI)显著差于低表达组,提示其在子宫内膜癌中可能为不良预后的独立危险因素。结合其在 CN-high 亚型中高表达、与 TP53 通路共表达以及在免疫耗竭亚型中活跃的特征,进一步支持其可能参与促进免疫逃逸与侵袭性进展的过程。

需要指出的是,本研究在系统性生物信息学分析基础上,进一步通过组织芯片免疫组化实验,对 EPPK1 蛋白在子宫内膜癌与癌旁组织中的表达情

况进行了验证。结果与生物信息学分析的趋势保持一致,即 EPPK1 在癌组织中的阳性表达率及免疫组化评分均显著高于正常组织,有效提升了数据的可靠性与研究结论的说服力,也为 EPPK1 未来在子宫内膜癌临床分层及诊断中的潜在应用提供了基础性证据。

3.5 展望与局限性

尽管本研究通过多维数据整合和组织实验证实了 EPPK1 在子宫内膜癌中的表达特征及其潜在作用,但仍存在一定局限。首先,样本来源及规模有限,可能影响部分亚组分析的代表性。其次,体外实验仅聚焦于蛋白表达的现象性描述,尚未深入探讨 EPPK1 具体分子机制与功能后果。最后,缺乏更大样本、多中心队列及前瞻性临床结局随访等进一步验证,后续研究仍需深入探讨 EPPK1 在子宫内膜癌发生、发展中的潜在作用机制。

[参考文献]

- [1]Sung H,Ferlay J,Siegel R L,et al.Global Cancer Statistics 2020;GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries[J].CA Cancer J Clin,2021,71(3):209-249.
- [2]Liang B,Tan J,Li J,et al.Epidemiology, molecular typing, microbiome-immune interactions and treatment strategies of endometrial cancer: a review [J]. Front Immunol,2025,16:1595638.
- [3]Panyavaranant P,Rattanachaipipat J,Manchana T. Clinicopathological characteristics and survival outcomes of women aged ≤ 45 and >45 years with endometrial adenocarcinoma in tertiary referral hospital: a 21-year cohort study[J]. BMJ Open,2025,15(1):e089434.
- [4]Zouzoulas D,Tsolakidis D,Sofianou I,et al. Molecular classification of endometrial cancer: Impact on adjuvant treatment planning[J]. Cytojournal,2024,21:47.
- [5]Kühtreiber H,Drexler C,Salek M,et al. Epiplakin expression is lost in psoriatic skin lesions and is downregulated by IFN- γ in ex vivo skin cultures[J]. Front Cell Dev Biol,2025,13:1617737.
- [6]Yang L,Huang W,Bai X,et al. Androgen dihydrotestosterone promotes bladder cancer cell proliferation and invasion via EPPK1-mediated MAPK/JUP signaling[J]. Cell Death Dis,2023,14(6):363.

- [7] Kumar U, Castellanos-Urbe M, May ST, et al. Adaptive resistance is not responsible for long-term drug resistance in a cellular model of triple negative breast cancer[J]. *Gene*, 2023, 850:146930.
- [8] Jia J, Yu L. METTL3-mediated m6A modification of EPPK1 to promote the development of esophageal cancer through regulating the PI3K/AKT pathway[J]. *Environ Toxicol*, 2024, 39(5):2830-2841.
- [9] Ma D, Pan Z, Chang Q, et al. KLF5-mediated Eppk1 expression promotes cell proliferation in cervical cancer via the p38 signaling pathway [J]. *BMC Cancer*, 2021, 21(1):377.
- [10] Makker V, MacKay H, Ray-Coquard I, et al. Endometrial cancer. *Nat Rev Dis Primers* 2021, 7(1):88.
- [11] 张莉莉, 谢丽娟. 血清 S100A8 和 PD-L1 联合超声检测在子宫内膜癌诊断及预后中的价值分析 [J]. *中国妇幼健康研究*, 2024, 35(10):79-84.
- [12] Halim C E, Deng S, Crasta K C, et al. Interplay between the cytoskeleton and DNA damage response in cancer progression[J]. *Cancers (Basel)*, 2025, 17(8):1378.
- [13] Yan X L, Wu J J, Ti H B, et al. Decoding TAGLN2 in cancer: the molecular linchpin bridging actin remodeling, immune dysregulation and therapeutic challenges [J]. *Int J Biol Macromol*, 2025, 321(Pt 2):146062.
- [14] Arimura K, Kammer M, Rahman S M J, et al. Elucidating the role of EPPK1 in lung adenocarcinoma development[J]. *BMC Cancer*, 2024, 24(1):441.
- [15] Qiao Z, Dai C, Wang Z, et al. Epiplakin1 promotes the progression of esophageal squamous cell carcinoma by activating the PI3K-AKT signaling pathway[J]. *Thorac Cancer*, 2022, 13(8):1117-1125.
- [16] Liu L, Yuan S, Yao S, et al. EPPK1 as a Prognostic Biomarker in Type I Endometrial Cancer and Its Correlation with Immune Infiltration [J]. *Int J Gen Med*, 2024, 17:1677-1694.
- [17] 李乐赛, 戴森, 薛艳, 等. 妇科恶性肿瘤保器官的临床诊治[J]. *中国妇幼健康研究*, 2025, 36(9):68-74.
- [18] Wang C W, Firdi N P, Lee Y C, et al. Deep learning for endometrial cancer subtyping and predicting tumor mutational burden from histopathological slides [J]. *npj Precision Oncology*, 2024, 8(1):287.
- [19] Hu D, Zhao J, Wu M, et al. Microbial interactions induce the mutational signature of mismatch repair deficiency in colorectal cancer and associated with EPPK1 mutations[J]. *Cancer Lett*, 2025, 625:217807.
- [20] Berek J S, Matias-Guiu X, Creutzberg C, et al. FIGO staging of endometrial cancer; 2023 [J]. *Int J Gynaecol Obstet*, 2023, 162(2):383-394.
- [21] Concin N, Matias-Guiu X, Vergote I, et al. ESGO/ESTRO/ESP guidelines for the management of patients with endometrial carcinoma [J]. *Int J Gynecol Cancer*, 2021, 31(1):12-39.
- [22] Tabatabaee A, Nafari B, Farhang A, et al. Targeting vimentin: a multifaceted approach to combating cancer metastasis and drug resistance [J]. *Cancer Metastasis Rev*, 2024, 43(1):363-377.

[专业责任编辑: 侯惠莲]

[中文编辑: 刘昕田; 英文编辑: 杨周岐]