

肿瘤抗原 MAGE-A:潜在的肿瘤标志物

单保恩

基金项目:河北省自然科学基金资助项目(H2012206077)

作者单位:050011 石家庄市,河北医科大学第四医院科研中心

doi:10.3969/j.issn.1674-7151.2013.01.001

黑色素瘤抗原基因(melanoma antigen gene, MAGE)家族是肿瘤相关抗原,包括 60 多个家族成员。基于组织特异性表达和基因结构的不同,MAGE 家族被分成两个大的子家族,MAGE-I 和 MAGE-II。MAGE-I 包含 MAGE-A,MAGE-B 和 MAGE-C 亚家族,在多种癌组织中高表达,并且在肿瘤发生和生长方面起重要的作用^[1]。MAGE-II 包括 MAGE-D 亚家族,其在正常人体内普遍表达。MAGE-A 肿瘤相关抗原在极少的正常组织中表达,典型的包括精原细胞、胸腺、胚胎。相反,其在多种组织来源的恶性肿瘤中表达,包括黑色素瘤、肺癌、前列腺癌、乳腺癌、肝细胞癌和头颈部肿瘤^[2,3]。在这些肿瘤中,其表达可为肿瘤的免疫治疗提供有意义的靶点。

1 MAGE-A 家族的发现

早在 1991 年, Van der Bruggen 等^[4]通过细胞毒性 T 淋巴细胞(cytolytic T lymphocytes, CTL)从人类黑色素瘤细胞株中成功分离克隆出第一个黑色素瘤相关抗原基因,命名为 MAGE-1(其后命名为 MAGE-A1)。所有的 MAGE 基因产物均含有一个长为 165-171 的氨基酸残基组成的保守序列,此为神秘的 MAGE 同源结构域(MAGE homeodomain, MHD),通过此同源序列,MAGE 家族其他基因随后也被鉴定出来^[5]。MAGE-A 家族基因定位于染色体 Xq28 区域,包括 12 个家族成员 MAGE-A1~MAGE-A12^[6,7]。

2 MAGE-A 家族的表达

目前 MAGE-A 表达在分子水平上的检测主要是通过反转录聚合酶链反应(reverse transcription polymerase chain reaction, RT-PCR)的方法来进行的,仅有少量的单克隆抗体用来检测相应蛋白水平的表达^[3]。由于不同类型的肿瘤中均有 MAGE-A 抗原的表达,而且总体上说,大多数肿瘤中至少表达一种 MAGE-A 抗原^[8]。Kim 等^[9]用逆转录-巢式聚合酶链反应研究了 MAGE-A1~A6 在肺癌中的表达情况,结果表明 87.2% 的肺癌存在 MAGE-A 的表达,其中腺癌中 MAGE-A 的阳性表达率为 80%,非小细胞癌为 10%。Yanagawa 等^[10]的研究发现 MAGE-A1 在 29.9% 的非小细胞肺癌中表达,MAGE-A3 在 38.8% 的非小细胞肺癌中表达。Han 等^[11]用

RT-PCR 的方法研究表明 47.3% 的非霍奇金淋巴瘤中存在 MAGE-A3 表达。Schultz-Thater 等^[12]用免疫组化的方法检测了 2587 例标本,包括肺癌、食管癌、乳腺癌等多种癌组织及良性肿瘤和癌旁正常组织中 MAGE-A10 蛋白的表达情况,结果表明 MAGE-A10 在乳腺髓样癌和子宫内膜癌表现为相同的阳性表达率,10% 以上的患者中大于 40% 的癌细胞表达 MAGE-A10 蛋白。用免疫组化染色的方法发现,卵巢癌和子宫内膜癌血清中 MAGE-A10 表达更频繁,30% 的卵巢癌中大于 50% 的癌细胞表达 MAGE-A10 蛋白,20% 的子宫内膜癌中大于 30% 癌细胞表达 MAGE-A10。在食管鳞状细胞癌中和喉鳞状细胞癌中发现 MAGE-A10 特异性染色分别为 25% 和 60%。MAGE-A10 蛋白在肺癌中频繁表达,分别在 34% 以上的鳞状细胞癌中,12% 的腺癌,15% 的大细胞癌和 13% 的小细胞癌中均有表达,并且每种组织学类型的肺癌中均大于 50% 的癌细胞表达 MAGE-A10 蛋白。MAGE-A10 在间皮瘤中表达同样也得到证实,28 例间皮瘤中的 5 例有阳性着色,虽然仅有 20% 癌细胞被染色。恶性皮肤癌频繁表达 MAGE-A10,尤其是 59 例基底细胞癌中的 19 例观察到 50% 的癌细胞表达 MAGE-A10 蛋白。Bergeron 等^[13]用免疫组化方法检测了 MAGE-A9 和 MAGE-A4 蛋白在 493 例膀胱癌和 33 例转移淋巴结中的表达情况,研究结果表明,MAGE-A9 和 MAGE-A4 在非侵入肌层的膀胱癌中表达率分别是 63% 和 38%,在已侵入肌层的膀胱癌中的表达率分别是 57% 和 48%,在原位癌中的表达率分别是 84% 和 65%,在转移淋巴结中的表达率分别是 85% 和 73%。MAGE-A 家族成员在多种恶性肿瘤中表达,且低分化肿瘤中比高分化肿瘤中表达率高,转移癌比原位癌表达率高^[12,14]。进一步的研究^[15]显示,MAGE-A 的表达与肿瘤的组织学分级之间存在相关性。

3 MAGE-A 家族表达的调节

癌睾丸抗原(cancer testis antigen, CTA)由于其在多种恶性肿瘤中特定的表达模式而命名,但是其在正常组织中仅限于睾丸生殖细胞中表达。表遗传现象似乎是调节 CTA 家族在肿瘤细胞中表达的特有机理^[16]。所谓的表遗传现象指的是基

因的核苷酸序列不发生改变的情况下,基因表达了可遗传的变化的现象。DNA 甲基化和组蛋白翻译后修饰可能是控制 CTA 表达的最具特征的表现遗传性因素^[17]。MAGE 家族是 CTA 家族中具有代表性的一类,相关研究报道^[18]显示,DNA 甲基化在 MAGE 基因的激活和表达过程中起重要作用。在正常成熟的体细胞中,MAGE-I 类基因静止不表达。当细胞受刺激转化为肿瘤细胞时,MAGE-A 基因激活,进而相应的 MAGE-A 蛋白表达。在肿瘤中这种基因的激活是由于启动子的去甲基化。Weber 等^[19]首先提出 DNA 甲基化可调节 MAGE-A 基因的表达,其证明用 DNA 甲基转移酶抑制剂 5-氮杂-2'-脱氧胞苷作用于人类黑色素瘤细胞株可促进 MAGE-A1 的表达。相关研究^[20]发现,DNA 甲基化可导致 MAGE-A 在肿瘤内的不均一表达,从而阻止 MAGE-A 来源的疫苗在黑色素瘤患者体内的作用。同时发现,MAGE-A3 低表达的克隆细胞株在应用 DNA 甲基转移酶抑制剂后 MAGE-A3 表达上调。Yanagawa 等^[10]的研究结果发现,在 20 例表达 MAGE-A1 的非小细胞肺癌中 18 例存在 MAGE-A1 去甲基化,26 例表达 MAGE-A3 的非小细胞肺癌中 24 例 MAGE-A3 去甲基化。Tachibana 等^[21]报道了组蛋白甲基化在调节 MAGE-A 基因表达过程中最初的潜在途径。组蛋白 H3-赖氨酸 9 (H3-K9) 甲基化是转录沉默的重要表遗传标志。G9a 是哺乳动物 H3-K9 重要的甲基转移酶,其靶向常染色质区域,对鼠的胚胎形成具有重要作用。研究表明在灵长类中存在与 G9a 相关的甲基化转移酶称之为 GLP 甲基转移酶。敲除组蛋白甲基化转移酶 G9a 或 GLP,可以诱导大鼠胚胎干细胞中 MAGE-A 基因的表达。然而,目前的研究表明人类结肠癌细胞中基因敲除 G9a 或 GLP 不会诱导 MAGE-A 表达,但其可诱导 MAGE-A 基因启动子上的 H3-K9 甲基化^[22]。G9a 抑制剂与 DNA 甲基转移酶抑制剂协同作用于人类结肠癌细胞可诱导 MAGE-A 的表达,同时证明组蛋白甲基化在 DNA 甲基化抑制 MAGE-A 表达过程中起重要的辅助作用。

4 循环中的 MAGE-A: 肿瘤的标志物

恶性肿瘤是全世界首要的死亡原因之一。据世界卫生组织估计,如不进行干预,2005 年至 2015 年期间将有 8400 万人死于肿瘤^[23]。肿瘤是细胞不受控制的增长和扩散,可影响人体的几乎任何部分,其常常侵入周围的组织,并可随血运转移或淋巴转移到其他部位。目前恶性肿瘤患者的 5 年生存率不到 20%。恶性肿瘤被发现的越早,患者的 5 年生存率越高,因而恶性肿瘤的早期诊断越来越受到人们的重视。外周血循环中的肿瘤标志物检测是应用于临床的重要辅助治疗观察方法。

目前的研究^[24]普遍认为,肿瘤的微转移灶来源于外周血循环中的肿瘤细胞(circulating tumor cells, CTCs)可能是肿瘤远处转移的一种途径。在疾病早期阶段,CTCs 可反映肿瘤特

征,有助于鉴别肿瘤的良恶性,预测肿瘤转移的风险;在疾病进展期,CTCs 可辅助建立疾病的治疗方案;在疾病预后治疗期,CTCs 可提示预后信息,并可作为靶向治疗的靶点^[25]。且外周血 CTCs 的取样方便、重复性较好,适合作为检测肿瘤转移的敏感指标。由于 MAGE-A 属于肿瘤特异性抗原,除在睾丸和胎盘组织中表达外,在其他正常组织中极少表达,而在肿瘤组织呈高表达^[26]。因此在肿瘤患者外周血中若检测到 MAGE-A 的表达,即证明该患者外周血中也存在 CTCs,该患者可能存在肿瘤远端转移的风险。Otte 等^[27]的研究结果显示,存在远端转移的患者外周血中 MAGE-A 基因的表达率显著高于不存在远端转移的患者。Kwon 等^[28]的研究发现,32 例良性肿瘤外周血中未发现 MAGE-A 基因的表达,52 例存在转移的肿瘤患者外周血中 20 例表达 MAGE-A 基因。Zhao 等^[29]在对肝细胞癌外周血中 MAGE-I 和甲胎蛋白的检测中证明,外周血 MAGE-I mRNA 的检测有助于提高肝细胞癌的诊出率。有研究^[30]表明 CTCs 更多见于晚期转移的恶性肿瘤,存在远端转移的乳腺癌外周血中比早期乳腺癌外周血中有更多的 CTCs。美国食品药品监督管理局的调查^[31]发现,CTCs 可作为评估转移性癌症患者生存期和总生存率的独立性预测指标。综合上述结果表明,远端转移的肿瘤患者外周血中存在 CTCs,CTCs 中可能存在 MAGE-A 基因的表达,CTCs 是肿瘤远端转移的标志。因此推测,MAGE-A 可作为检测远端转移的重要肿瘤标志物。

5 MAGE-A 家族在肿瘤免疫治疗中的作用

靶向 MAGE-A 蛋白的抗肿瘤治疗基于以下三种途径^[8]: ①制备靶向 MAGE-A 多肽的肿瘤疫苗; ②破坏 MAGE-A 基因在肿瘤发生发展中的表达模式; ③阻断调节 MAGE-A 蛋白表达的通路从而影响 MAGE-A 蛋白功能。前两种方案的由来得益于 MAGE-A 蛋白在正常组织中表达的高度限制性。因此,临床需制备适合的小分子蛋白疫苗,在阻断肿瘤效应的同时将副作用降低到最小。此外,表达 MAGE-A 蛋白的生殖细胞中本身就存在不表达组织相容性抗原 I 类抗原的天然免疫屏障。因此蛋白疫苗在睾丸组织中不会产生自体免疫反应。靶向调节 MAGE-A 蛋白表达的通路的方案似乎可以提供潜在的治疗靶点,但其对 MAGE-A 蛋白表达的调节是间接的,其在抑制 MAGE-A 蛋白表达的同时会引起其他重要的分子生物学事件的产生。由此认为,抑制 MAGE-A 蛋白的生物学作用最好采用直接的方法—制备靶向 MAGE-A 多肽的肿瘤疫苗。

目前的研究^[32]发现,至少一种肿瘤生殖细胞抗原在肿瘤患者体内引起体液和细胞介导的免疫反应。由于这种抗原具有免疫原性和肿瘤表达高度限制性,因而促进了抗原特异性肿瘤疫苗的产生。现已开展了一些针对 MAGE 蛋白,特别是针对 MAGE-A3 蛋白的临床试验。两个关于 MAGE-A3 重组

蛋白在转移性黑色素瘤患者和非小细胞癌患者中免疫作用的评价研究显示非小细胞癌患者行手术切除后进行 MAGE-A3 抗原特异性肿瘤免疫治疗, 相对危险度下降 27%^[33]。Svobodová 等^[34]的研究表明与其他已知的预后因子相比, CTA 的表达是一个与复发率相关的重要独立预测指标。Karn 等^[35]的研究发现 MAGE-A 基因是三阴性乳腺癌中非常易受攻击的亚群, 尤其是在肿瘤微环境中缺少免疫防御的情况下。这些发现提供了一种治疗假说: 靶向伴有 MAGE-A 表达的三阴性乳腺癌的肿瘤疫苗将有益于增强抗原特异性免疫治疗的效果。新的免疫刺激药的定向治疗为这个假说在临床上提供了一个现实可检测的机会。因此, 靶向于 MAGE-A 的抗黑色素瘤免疫治疗将有助于疾病的自然病程的恢复。

6 结束语

虽然 MAGE 家族早在 1991 就被发现, 但其生物学功能仍不十分清楚。在正常人体中除生殖细胞、胸腺、胚胎组织外, 其他正常组织极少表达 MAGE-A, 但在肿瘤组织中呈现不同程度的表达。这提示, 在胚胎时期 MAGE-A 基因很少被甲基化, 在正常体细胞中 MAGE-A 基因处于甲基化状态而保持沉默, 肿瘤形成过程中 MAGE-A 基因去甲基化被激活并表达, 成为免疫系统识别并攻击的靶抗原。基于上述研究, MAGE-A 可作为潜在的肿瘤标志物, 为肿瘤治疗提供了新的免疫治疗靶点的可能性有待进一步验证。

7 参考文献

- Ladelfa MF, Peche LY, Toledo MF, et al. Tumor-specific MAGE proteins as regulators of p53 function. *Cancer Lett*, 2012, 325: 11-17.
- Caballero OL, Chen YT. Cancer/testis(CT) antigens: potential targets for immunotherapy. *Cancer Sci*, 2009, 100: 2014-2021.
- Suri A. Cancer testis antigens--their importance in immunotherapy and in the early detection of cancer. *Expert Opin Biol Ther*, 2006, 6: 379-389.
- Van der Bruggen P, Traversari C, Chomez P, et al. A gene encoding an antigen recognized by cytolytic T lymphocytes on a human melanoma. *J Immunol*, 2007, 178: 2617-2621.
- Chomez P, De Backer O, Bertrand M, et al. An overview of the MAGE gene family with the identification of all human members of the family. *Cancer Res*, 2001, 61: 5544-5551.
- Sang M, Wang L, Ding C, et al. Melanoma-associated antigen genes--An update. *Cancer Lett*, 2011, 302: 85-90.
- Rogner UC, Wilke K, Steck E, et al. The melanoma antigen gene (MAGE) family is clustered in the chromosomal band Xq28. *Genomics*, 1995, 29: 725-731.
- Meek DW, Marcar L. MAGE-A antigens as targets in tumour therapy. *Cancer Lett*, 2012, 324: 126-132.
- Kim H, Kim SJ, Lee SH, et al. Usefulness of melanoma antigen (MAGE) gene analysis in tissue samples from percutaneous needle aspiration biopsy of suspected lung cancer lesions. *Lung Cancer*, 2010, 69: 284-288.
- Yanagawa N, Tamura G, Oizumi H, et al. MAGE expressions mediated by demethylation of MAGE promoters induce progression of non-small cell lung cancer. *Anticancer Res*, 2011, 31: 171-175.
- Han MH, Eom HS, Park WS, et al. Detection of circulating lymphoma cells in patients with non-Hodgkin lymphoma using MAGE-A3 gene expression in peripheral blood. *Leuk Res*, 2010, 34: 1127-1131.
- Schultz-Thater E, Piscuoglio S, Iezzi G, et al. MAGE-A10 is a nuclear protein frequently expressed in high percentages of tumor cells in lung skin and urothelial malignancies. *Int J Cancer*, 2011, 129: 1137-1148.
- Bergeron A, Picard V, LaRue H, et al. High frequency of MAGE-A4 and MAGE-A9 expression in high-risk bladder cancer. *Int J Cancer*, 2009, 125: 1365-1371.
- Russo V, Traversari C, Verrecchia A, et al. Expression of the MAGE gene family in primary and metastatic human breast cancer: implications for tumor antigen-specific immunotherapy. *Int J Cancer*, 1995, 64: 216-221.
- Lurquin C, Brasseur F, Boon T, et al. The activation of human gene MAGE-1 in tumor cells is correlated with genome-wide demethylation. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1996, 93: 7149-7153.
- Kulkarni P, Shiraishi T, Rajagopalan K, et al. Cancer/testis antigens and urological malignancies. *Nat Rev Urol*, 2012, 9: 386-396.
- Atanackovic D, Luetkens T, Kloth B, et al. Cancer-testis antigen expression and its epigenetic modulation in acute myeloid leukemia. *Am J Hematol*, 2011, 86: 918-922.
- Miranda EI. MAGE, biological functions and potential clinical applications. *Leukemia Res*, 2010, 34: 1121-1122.
- Weber J, Salgaller M, Samid D, et al. Expression of the MAGE-1 tumor antigen is up-regulated by the demethylating agent 5-aza-20-deoxycytidine. *Cancer Res*, 1994, 54: 1766-1771.
- De Smet C, De Backer O, Faraoni I, et al. The activation of human gene MAGE-1 in tumor cells is correlated with genome-wide demethylation. *Proc Natl Acad Sci*, 1996, 93: 7149-7153.
- Tachibana M, Ueda J, Fukuda M, et al. Histone methyltransferases G9a and GLP form heteromeric complexes and are both crucial for methylation of euchromatin at H3-K9. *Genes Dev*, 2005, 19: 815-826.
- Link PA, Gangisetty O, James SR, et al. Distinct roles for histone methyltransferases G9a and GLP in cancer germ-line antigen gene regulation in human cancer cells and murine embryonic stem cells. *Mol Cancer Res*, 2009, 7: 851-862.

23 Jemal A, Siegel R, Naishadham D, et al. Cancer statistics, 2012. *CA Cancer J Clin*, 2013, 63: 11-30.

24 Joosse SA, Pantel K. Biologic challenges in the detection of circulating tumor cells. *Cancer Res*, 2013, 73: 8-11.

25 Kazuo K, Steven J, Peter B, et al. Serial monitoring of circulating tumor cells predicts outcome of induction biochemotherapy plus maintenance biotherapy for metastatic melanoma. *Clin Cancer Res*, 2010, 16: 2402-2408.

26 Ohman Forslund K, Nordqvist K. The melanoma antigen genes any clues to their functions in normal tissues? *Exp Cell Res*, 2001, 265: 185-194.

27 Otte M, Zafrakas M, Riethdorf L, et al. MAGE-A gene expression pattern in primary breast cancer. *Cancer Res*, 2001, 61: 6682-6687.

28 Kwon S, Kang SH, Ro J, et al. The melanoma antigen gene as a surveillance marker for the detection of circulating tumor cells in patients with breast carcinoma. *Cancer*, 2005, 104: 251-256.

29 Zhao L, Mou DC, Peng JR, et al. Diagnostic value of cancer-testis antigen mRNA in peripheral blood from hepatocellular carcinoma patients. *World J Gastroenterol*, 2010, 16: 4072-4078.

30 Stemke-Hale K, Hennessy B, Mills GB, et al. Molecular screening for breast cancer prevention, early detection and treatment planning: combining biomarkers from DNA, RNA and protein. *Curr Oncol Rep*, 2006, 8: 484-491.

31 Giordano A, Cristofanilli M. CTCs in metastatic breast cancer. *Recent Results Cancer Res*, 2012, 195: 193-201.

32 Peled N, Oton AB, Hirsch FR, et al. MAGE-A3 antigen-specific cancer immunotherapeutic. *Immunotherapy*, 2009, 1: 19-25.

33 Sang M, Lian Y, Zhou X, et al. MAGE-A family: Attractive targets for cancer immunotherapy. *Vaccine*, 2011, 29: 8496-8500.

34 Svobodová S, Browning J, MacGregor D, et al. Cancer-testis antigen expression in primary cutaneous melanoma has independent prognostic value comparable to that of Breslow thickness, ulceration and mitotic rate. *Eur J Cancer*, 2011, 47: 460-469.

35 Karn T, Pusztai L, Ruckhaberle E, et al. Melanoma antigen family A identified by the bimodality index defines a subset of triple negative breast cancers as candidates for immune response augmentation. *Eur J Cancer*, 2012, 48: 12-23.

(收稿日期: 2013-02-05)

(本文编辑: 杨军)

消 息

2013 年第 23 届国际输血协会地区会议

2013 年第 23 届国际输血协会地区会议 (ISBT) 将于 2013 年 6 月 2 日-5 日在荷兰阿姆斯特丹举行。国际输血协会是于 1935 年成立的国际学术组织, 目标是促进输血医学的研究。学会总部设在荷兰阿姆斯特丹, 共有超过 95 个国家参与。

此次地区会议包括临床输血, 输液输血技术和基础科学, 质量和新细胞疗法等内容并且伴随教育会议、热点话题以及海报会议来开展此次会议。

为了扩大中国在此次会议的影响力, 同时也为了更好的和输血领域的中国专家、学者交流, 共同促进该领域的国际合作, 会议组委会与 FWS 国际医学会议网作为本次会议在中国地区的组团机构, 欢迎该领域各单位的中国专家和学者

积极报名并参加此次会议!

请参加会议的代表认真填写会议报名表, 并于 2012 年 11 月 30 日前传真或发电子邮件至会务组 (收到报名表后将由会议组委会发正式邀请函和后续会议通知)。相关具体参会事宜请来电话咨询。

1 会议时间及地点

会议时间: 2013-06-02 至 2013-06-05

会议地点: 荷兰阿姆斯特丹

2 联系方式

联系人: 王杰

传真: 010-64135055

电子邮件: fws1012@fwsevents.com