

黑素瘤相关抗原-A9 和-A11 在食管鳞状细胞癌组织中的表达及其临床意义

谷丽娜¹, 桑梅香², 刘飞², 范晓杰³, 连易水¹, 杜彦艳⁴, 于凡¹, 单保恩^{1,2} (1. 河北医科大学第四医院 科研中心, 河北石家庄 050011; 2. 河北医科大学第四医院 肿瘤研究所 免疫室, 河北石家庄 050011; 3. 河北医科大学第四医院 病理科, 河北石家庄 050011; 4. 河北医科大学第四医院 检验科, 河北石家庄 050011)

[摘要] **目的:** 探讨黑素瘤相关抗原(melanoma antigen, MAGE)-A9 和-A11 在食管鳞状细胞癌组织中的表达情况, 分析其与食管癌患者临床病理学特征及其预后的关系。 **方法:** 选取河北医科大学第四医院 2010 年 9 月至 2010 年 11 月住院手术切除的食管癌组织及距癌组织边缘 5 cm 以上且病理证实为正常组织的癌旁组织标本各 60 例, 同时选取 5 例该院前列腺癌住院患者术后的睾丸组织作为阳性对照, 应用免疫组织化学法检测食管鳞状细胞癌组织及相应癌旁组织中 MAGE-A9 和-A11 蛋白的表达。 **结果:** 食管鳞状细胞癌组织中 MAGE-A9 和 MAGE-A11 蛋白的阳性表达率分别为 45% (27/60) 和 66.67% (40/60), 而相应的癌旁组织未发现 MAGE-A9 和-A11 蛋白的表达。 MAGE-A9 蛋白的表达与食管鳞状细胞癌患者的年龄、临床分期、肿瘤大小、淋巴转移均无相关性 ($P > 0.05$), 但与组织学分级相关 ($P < 0.05$); MAGE-A11 蛋白表达与食管鳞状细胞癌患者的年龄、组织学分级、淋巴转移均无相关性 ($P > 0.05$), 但与临床分期、肿瘤大小呈正相关 ($P < 0.05$)。 Log-Rank 检验显示, MAGE-A9 ($P = 0.037$) 和-A11 ($P = 0.039$) 蛋白表达阳性的食管鳞状细胞癌患者和贲门腺癌患者的生存期均显著低于其表达阴性的患者。 Cox 多因素分析提示, MAGE-A9 ($P = 0.026$) 和 MAGE-A11 ($P = 0.038$) 蛋白表达、组织学分级 ($P = 0.026$)、临床分期 ($P = 0.008$) 及淋巴结转移 ($P = 0.010$) 可作为整体生存的独立预后因素。 **结论:** MAGE-A9 和-A11 蛋白是食管鳞状细胞癌的特异性抗原, 似可作为食管鳞状细胞癌预后不良的预测指标。

[关键词] 食管鳞状细胞癌; 抗原; 黑素瘤相关抗原-A9; 黑素瘤相关抗原-A11

[中图分类号] R735.1; R730.2

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-385X(2015)05-0630-07

Expression and clinical significance of melanoma antigen-A9 and -A11 in esophageal squamous cell carcinoma patients

Gu Lina¹, Sang Meixiang², Liu Fei², Fan Xiaojie³, Lian Yishui¹, Du Yanyan⁴, Yu Fan¹, Shan Baoen^{1,2} (1. Department of Science Research Center, Fourth Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050011, Hebei, China; 2. Department of Immunology, Tumor Research Institute, Fourth Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050011, Hebei, China; 3. Department of Pathology, Fourth Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050011, Hebei, China; 4. Department of Clinical Laboratory, Fourth Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050011, Hebei, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the expression of melanoma antigen (MAGE)-A9 and MAGE-A11 in esophageal squamous cell carcinomas in association with major clinical and biological variables. **Methods:** Cancerous ($n = 60$) and adjacent ($n = 60$) esophageal tissue specimens were collected from 60 patients with esophageal squamous cell carcinomas who underwent surgery in Hebei Medical University-Affiliated Fourth Hospital between September and November 2010. Testicular tissue specimens were collected from 5 prostate cancer patients in the same time as positive controls. MAGE-A9 and MAGE-A11 in these tissue specimens were assessed by immunohistochemical staining. Correlations of MAGE-A9 and MAGE-A11 levels with patients' major clinical and demographic variables were determined. **Results:** MAGE-A9 and -A11 were positive in 45% (27/60) and 66.67% (40/60) of cancerous tissue specimens respectively but were both negative in tumor-adjacent tissue specimens. While MAGE-A9 protein was not correlated with age, clinical stage, tumor size, and

[基金项目] 河北省财政支撑项目资助(No. [2012]2056); 河北省科技支撑计划项目资助(No. 14277732D)。Project supported by the Financial Support Program of Hebei Province (No. [2012]2056), and the Science and Technology Support Program of Hebei Province (No. 14277732D)

[作者简介] 谷丽娜(1989-), 女, 河北省衡水市人, 硕士生, 主要从事肿瘤免疫的基础研究, E-mail: gln081225@163.com

[通信作者] 单保恩(Shan Baoen, corresponding author), E-mail: baoenshan1962@hotmail.com

lymph node metastasis ($P > 0.05$), it was significantly correlated with the histological grade of the lesion in patients with esophageal squamous cell carcinoma ($P < 0.05$). While MAGE-A11 protein was not correlated with age, histological grade, lymph node metastasis ($P > 0.05$), it was significantly correlated with clinical stage and tumor size ($P < 0.05$) in patients with esophageal squamous cell carcinoma. Log-rank test showed that the survival time was significantly shorter in MAGE-A9-positive ($P = 0.037$) and MAGE-A11 positive ($P = 0.039$) patients than in MAGE-A9-negative and MAGE-A11-negative patients. Cox multivariate analysis suggested that MAGE-A9 protein ($P = 0.026$), MAGE-A11 protein ($P = 0.038$), histological grade ($P = 0.026$), TNM stage ($P = 0.008$) and lymph node metastasis ($P = 0.010$) were independent prognostic factors for overall survival. Conclusion: MAGE-A9 and -A11 are esophageal squamous cell carcinoma-specific antigens, thus having potential diagnostic and prognostic significance in clinical settings.

[**Key words**] esophageal squamous cell carcinomas(ESCC); antigens; melanoma antigen-A9; melanoma antigen-A11
[Chin J Cancer Biother, 2015, 22(5): 630-636]

2014 年美国癌症协会(American Cancer Society)统计数据显示,食管癌发病率呈上升趋势,病死率居美国男性恶性肿瘤第七位^[1]。我国是食管癌的高发国家,据国际癌症研究机构的统计显示,其发病率位居全球第四位^[2]。尽管先进的手术技术、放化疗等综合治疗已应用于临床,但食管癌的治愈率仍不容乐观^[3]。免疫疗法旨在激活生物防御机制对抗肿瘤细胞,该疗法的提出为治疗癌症指明了新的方向,而筛选新的肿瘤特异性抗原成为免疫治疗的关键。黑素瘤相关抗原(melanoma antigen, MAGE)最初发现于黑素瘤患者的肿瘤相关抗原^[4],该蛋白是一个超家族,由 60 余个人类基因组成^[5-6]。在人类多种肿瘤中,至少能检测到一种 MAGE-A 基因的表达。目前研究最多的是 MAGE-A1(15.0% ~ 64.1%) 和 MAGE-A3(27.6% ~ 51.3%)^[7-10],其他成员的研究并不多见,尤其是 MAGE-A9 和 MAGE-A11 蛋白在食管鳞状细胞癌(esophageal squamous cell carcinomas, ESCC)组织中的表达情况在国内外报道甚少。本研究利用免疫组织化学法从蛋白水平探讨 MAGE-A9 和 MAGE-A11 在 ESCC 组织及相应的癌旁组织中的表达情况,分析其与 ESCC 患者临床病理学特征及其预后的关系。

1 材料与方法

1.1 研究对象

选取河北医科大学第四医院 2010 年 9 月至 2010 年 11 月住院手术切除的 ESCC 组织及距离癌组织边缘 5 cm 以上且外观正常的相应癌旁组织标本各 60 例,同时选取该院 5 例前列腺癌住院患者术后的睾丸组织作为阳性对照。ESCC 患者均为首次发病,且术前未行放疗、化疗和内分泌治疗。

其中,按照年龄分组, < 60 岁 31 人(52%), ≥ 60 岁 29 人(48%);按照国际 TNM 分期, I 期 10 例

(17%), II 期 35 例(58%), III 期 15 例(25%)。因当时该院 ESCC IV 期住院患者已广泛转移并均首选放化疗,故本次研究未取到 IV 期标本。按照组织学分级, I 级 15 例(25%), II 级 33 例(55%), III 级 12 例(20%);按照有无淋巴转移分组,有淋巴结转移 15 例(25%),无淋巴结转移 45 例(75%);按照肿瘤大小分组, < 2 cm³ 者 8 例(13%), 2 ~ 5 cm³ 者 15 例(25%), > 5 cm³ 者 37 例(62%)。癌旁组织为距离癌组织 5 cm 以上的经病理检测证实为正常食管上皮组织;作为阳性对照的睾丸组织标本来自河北医科大学第四医院前列腺癌患者术后的正常睾丸组织。标本经 4% 多聚甲醛固定,常规石蜡包埋,制成厚 4 μm 的病理切片用于免疫组织化学检测。60 例 ESCC 患者中有 52 例获得完整随访资料,均采用电话回访方式。上述标本的获取均取得受试者或其家属的知情同意并签署知情同意书。

1.2 主要试剂

SP 免疫组化染色试剂盒及浓缩型 DAB 试剂盒购自北京中杉金桥生物技术有限公司,兔抗人 MAGE-A9、-A11 多克隆抗体均购自英国 Abcam 公司,抗原修复液购自基因科技上海有限公司。

1.3 免疫组织化学法检测 ESCC 组织、癌旁组织及正常睾丸组织中 MAGE-A9 和-A11 蛋白的表达

将石蜡病理切片按照 SP 免疫组织化学试剂盒说明书方法检测 MAGE-A9 和-A11 蛋白的表达情况。兔抗人 MAGE-A9 和-A11 多克隆抗体分别以 1:25, 1:500 稀释,生物素化山羊抗兔二抗和辣根过氧化物酶标记的链酶卵白素(三抗)为试剂盒中的原液,加 DAB 试剂显色后,用苏木精对比染色,中性树脂胶封片。以人正常睾丸组织作为阳性对照,以癌旁组织作为阴性对照。

免疫组化染色以细胞质内出现棕黄色颗粒为阳性,双盲法观察组织切片全部视野,采用半定量积分

法判断结果:首先确定阳性定位,然后按照下述标准进行评分^[11]:(1)阳性细胞数,≤5%为0分,6%~25%为1分,26%~50%为2分,51%~75%为3分,>75%为4分;(2)染色阳性强度,无色为0分,淡黄色为1分,黄色为2分,棕黄色为3分。将(1)和(2)两者评分相乘,其积0分为阴性、>0分为阳性。

1.3 统计学处理

采用 SPSS13.0 统计软件,计数数据以百分率表示,采用卡方检验或连续校正的卡方检验统计 MAGE-A9 和 MAGE-A11 的表达与 ESCC 的临床病理学指标间的关系,应用 Kaplan-Meier 方法对 ESCC 患者是否阳性表达 MAGE-A9、A11 蛋白进行生存分析,利用 Cox 回归模型针对阳性表达 MAGE-A9、A11 蛋白及相关临床病例资料进行多因素分析,以 $P < 0.05$ 和 $P < 0.01$ 表示 差异有统计学意义。

2 结果

2.1 MAGE-A9 和 MAGE-A11 蛋白在 ESCC 组织和癌旁组织中的表达

免疫组织化学染色结果(图 1、3,表 1)显示, MAGE-A9 和 MAGE-A11 在 ESCC 组织中的阳性染色产物主要定位于细胞质,部分定位于细胞核。60 例癌旁组织没有发现 MAGE-A9 及 MAGE-A11 蛋白表达。ESCC 组织 MAGE-A9 蛋白阳性表达率为 45.00%(27/60)明显高于癌旁组织(图 2A、B) ($P = 0.000$)。

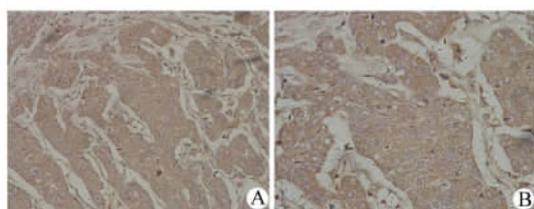


图 1 免疫组织化学检测 MAGE-A9 在 ESCC 组织中的表达(SP;A × 200,B × 400)

Fig.1 Immunohistochemical analysis of MAGE-A9 protein in esophageal sqamous cell carcinoma specimens (SP;A × 200,B × 400)

ESCC 组织 MAGE-A11 蛋白阳性表达率为 66.67%(40/60)(图 3A、B)明显高于癌旁组织(图 4A、B) ($P = 0.000$), (表 2)。以上结果提示, MAGE-A9 及 MAGE-A11 是 ESCC 特异性抗原。

在 60 例 ESCC 标本中,同时表达 MAGE-A9 和

MAGE-A11 蛋白的表达率为 38.3%(23/60),该两种蛋白阳性率之间有明显差异($P < 0.05$)。结果提示 MAGE-A 家族的表达具有聚集性。

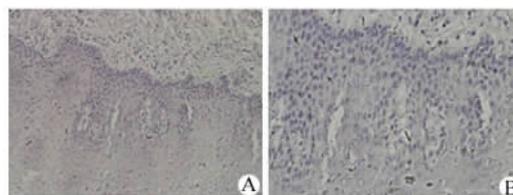


图 2 免疫组织化学检测 MAGE-A9 在食管癌旁组织中的表达(SP;A × 200,B × 400)

Fig.2 Immunohistochemical analysis of MAGE-A9 protein in esophageal para-carcinoma tissue specimens (SP;A × 200,B × 400)

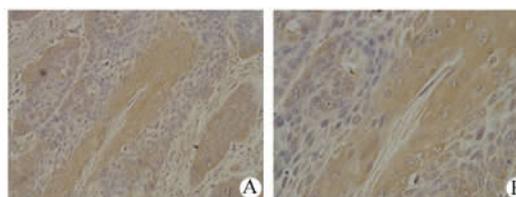


图 3 免疫组化染色检测 MAGE-A11 在 ESCC 组织中的表达(SP;A × 200,B × 400)

Fig.3 Immunohistochemical analysis of MAGE-A11 protein in esophageal sqamous cell carcinoma tissue specimens (SP;A × 200,B × 400)

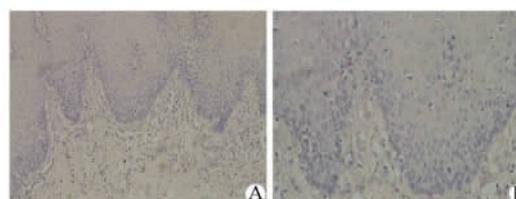


图 4 免疫组化染色检测 MAGE-A11 在食管癌旁组织中的表达(SP;A × 200,B × 400)

Fig.4 Immunohistochemical analysis of MAGE-A11 protein in esophageal para-carcinoma tissue specimens (SP;A × 200,B × 400)

2.2 MAGE-A9 和 MAGE-A11 蛋白表达与 ESCC 临床病理指标间的关系

统计学分析(表 2)显示, MAGE-A9 蛋白表达与 ESCC 患者的年龄($\chi^2 = 2.509, P = 0.113$)、临床分期($\chi^2 = 2.700, P = 0.259$)、肿瘤大小($\chi^2 = 2.048, P = 0.359$)、淋巴转移($\chi^2 = 0.022, P = 0.881$)均无相关性($P > 0.05$),但与组织学分级($\chi^2 = 23.733, P$

=0.000)呈正相关。

MAGE-A11 蛋白表达与 ESCC 患者的年龄($\chi^2 = 0.534, P = 0.465$)、组织学分级($\chi^2 = 3.857,$

$P = 0.145$)、淋巴转移($\chi^2 = 1.600, P = 0.206$)均无相关性($P > 0.05$),但与临床分期($\chi^2 = 14.482, P = 0.001$)、肿瘤大小($\chi^2 = 8.964, P = 0.011$)呈正相关。

表 1 免疫组化染色检测 MAGE-A9 和-MAGE-A11 在 ESCC 组织中的表达[n(%)]

Tab. 1 MAGE-A9 and MAGE-A11 expression in esophageal sqamous cell carcinomas tissue specimens detected by immunohistochemistry [n(%)]

| Group | N | MAGE-A9 | MAGE-A11 | χ^2 | P |
|------------------------------|----|-------------|-------------|----------|-------|
| Esophageal carcinoma tissues | 60 | 27(45.00) | 40(66.67) | 5.711 | 0.017 |
| para-carcinoma tissues | 60 | 0 | 0 | | |
| χ^2 | | 34.839 | 60.000 | | |
| P | | 0.000 | 0.000 | | |

表 2 ESCC 组织 MAGE-A9 和-A11 蛋白的阳性表达与患者临床病理特征之间的关系(n)

Tab. 2 Correlations of MAGE-A9 and MAGE-A11 protein levels with major clincipathological variables in patients with esophageal sqamous cell carcinoma (n)

| Feature | N | MAGE-A9 | | χ^2 | P | MAGE-A11 | | χ^2 | P |
|----------------------------------|----|---------|-------|----------|-------|----------|-------|----------|-------|
| | | (-) | (+) | | | (-) | (+) | | |
| Gender | | | | 0.433 | 0.511 | | | 2.194 | 0.139 |
| Men | 35 | 18 | 17 | | | 9 | 26 | | |
| Women | 25 | 15 | 10 | | | 11 | 14 | | |
| Age/year | | | | 2.509 | 0.113 | | | 0.534 | 0.465 |
| <60 | 31 | 14 | 17 | | | 9 | 22 | | |
| ≥60 | 29 | 19 | 10 | | | 11 | 18 | | |
| Histological grade | | | | 23.733 | 0.000 | | | 3.857 | 0.145 |
| I | 10 | 9 | 1 | | | 2 | 8 | | |
| II | 35 | 10 | 25 | | | 10 | 25 | | |
| III | 15 | 14 | 1 | | | 8 | 7 | | |
| Clinical stage | | | | 2.700 | 0.259 | | | 14.482 | 0.001 |
| I | 15 | 10 | 5 | | | 11 | 4 | | |
| II | 33 | 15 | 18 | | | 7 | 26 | | |
| III | 12 | 8 | 4 | | | 2 | 10 | | |
| Tunmor size(V/cm ³) | | | | 2.048 | 0.359 | | | 8.964 | 0.011 |
| <2 | 8 | 6 | 2 | | | 6 | 2 | | |
| 2~5 | 15 | 9 | 6 | | | 2 | 13 | | |
| >5 | 37 | 18 | 19 | | | 12 | 25 | | |
| Metastatic state of lymph node | | | | 0.022 | 0.881 | | | 1.600 | 0.206 |
| Yes | 15 | 8 | 7 | | | 3 | 12 | | |
| No | 45 | 25 | 20 | | | 17 | 28 | | |

2.3 MAGE-A9 和 MAGE-A11 蛋白表达与患者的生存关系

对 MAGE-A9 和 MAGE-A11 蛋白表达阳性及阴性患者的生存曲线分别进行 Log-Rank 检验,结果

(图 5A)显示,MAGE-A9 蛋白表达阳性组和阴性组的 4 年总生存率分别为 11.1% 和 15.16%,差异有统计学意义($P < 0.037$)(图 5A)。MAGE-A11 蛋白阳性组和阴性组的 4 年总生存率分别为 10.00% 和

20.00%, 差异有统计学意义($P < 0.039$) (图 5B)。

Cox 回归模型多因素分析结果提示, MAGE-A9 蛋白表达($P = 0.026$)、MAGE-A11 蛋白表达($P =$

0.038)、组织学分级($P = 0.026$)、TNM 分期($P = 0.008$)及淋巴结转移($P = 0.010$)可作为 ESCC 患者生存的独立预后因素(表 3)。

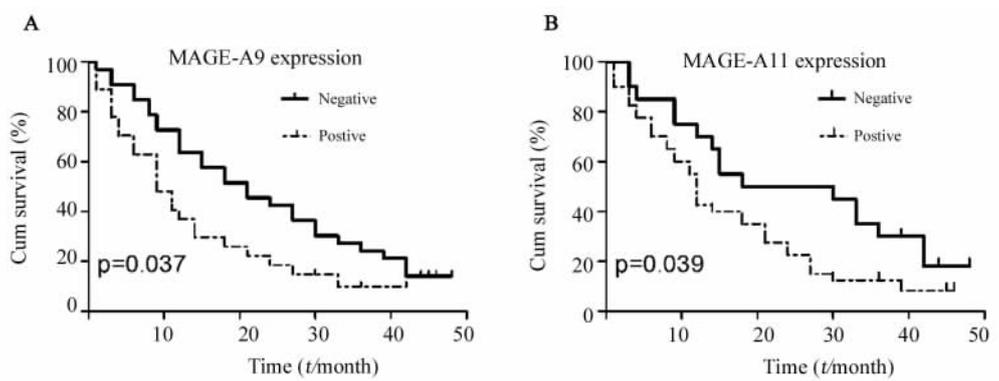


图 5 应用 Kaplan-Meier 方法对 ESCC 患者进行生存分析

Fig. 5 Survival analysis of patients with esophageal squamous cell carcinomas by Kaplan-Meier method

A: Overall survival rate in patients with positive MAGE-A9 expression (green line) was significantly lower than that in patients with negative MAGE-A9 expression (blue line); B: Overall survival rate in patients with positive MAGE-A11 expression (green line) was significantly lower than that in patients with negative MAGE-A11 expression (blue line)

表 3 影响食管癌患者总体生存预后因素的多因素分析

Tab. 3 Multivariate analysis of prognostic factors in esophageal squamous cell carcinoma for overall survival

| | HR | 95% CI | P |
|--|-------|--------------|-------|
| MAGE-A9 expression high vs low or no | 2.509 | 1.118-5.630 | 0.026 |
| MAGE-A11 expression high vs low or no | 2.133 | 1.041-4.368 | 0.038 |
| Histological grade Grade I vs II vs III | 2.415 | 1.112-5.246 | 0.026 |
| Clinical stage I vs II vs III | 2.627 | 1.286-5.365 | 0.008 |
| Metastatic state of lymph node Yes vs No | 9.694 | 1.741-53.980 | 0.010 |

3 讨论

自从 Van der bruggen 等^[4](1991 年)发现了第一个 MAGE-A1 以来,越来越多的同类基因被发现,目前为止已经发现了至少 60 个人类 MAGE 抗原^[6]。MAGE-A 不仅表达于黑素瘤细胞,也表达于其他多种人类肿瘤细胞,例如卵巢癌、肺癌、脑胶质瘤、肾细胞癌、乳腺癌及膀胱癌等^[7-10,12-13]。因 MAGE 蛋白的高度保守性,MAGE 成员需研制特定抗体以及测定特定 MAGE mRNA 水平,研究受到了限制。研究者大多采用 RT-PCR 和微阵列分析等技术检测 MAGE 家族的基因表达情况^[14],而很少研究其在蛋白水平上的表达。Dyrskj 等^[15]通过 qRT-PCR 对 350 例膀胱癌的研究发现 MAGE-A3 的表达率为 43%。Lee 等^[16]通过 RT-PCR 对 85 例乳头状

甲状腺癌进行研究,结果表明, MAGE-A1-6 mRNA 的表达率为 36.5%。

在肿瘤组织中关于 MAGE-A9 和-A11 蛋白的研究不在少数, Xu 等^[12]报道,用实时定量 PCR 检测 82 例乳腺癌组织中 MAGE-A9 的表达情况。Hou 等^[17]也通过 RT-PCR 研究了 60 例乳腺癌组织中 MAGE-A9 和 MAGE-A11 的表达情况,阳性率分别为 45% 和 66.67%。Guo 等^[9]利用免疫组织化学法检测了 78 例脑胶质瘤组织中 MAGE-A11 表达情况,阳性率为 57.7%。连易水等^[18]用免疫组织化学法检测其在 MAGE-A1175 例乳腺癌组织中的表达,阳性率 52%。

目前关于 MAGE-A9 和-A11 在 ESCC 中表达的相关研究报道甚少。本实验利用免疫组织化学染色法研究了 MAGE-A9 和 MAGE-A11 蛋白在 60 例 ES-

CC 组织及相应癌旁组织中的表达,并分析其表达与 ESCC 临床病理特征之间的关系,以期发现 ESCC 的免疫治疗提供新线索。有研究显示,食管癌^[11]、膀胱癌^[19]、肺癌^[20]等恶性肿瘤中 MAGE 的表达率与肿瘤临床分期等临床病理指标间存在着密切关系。本研究结果发现,MAGE-A9 的表达与 ESCC 的组织学分级相关,且中等程度分化的 ESCC 组织中 MAGE-A9 表达率最高,提示 MAGE-A9 可能参与肿瘤细胞的分化过程。MAGE-A9 蛋白在中等分化组表达率最高,而非低分化组,这可能与病例数有限,各组间数量不均衡有关,有待进一步扩大样本量加以研究论证。

MAGE-A11 的表达与 ESCC 临床分期、肿瘤大小呈正相关,印证了上述观点。组织学分级和临床分期与患者预后密切相关,推测 MAGE-A9 可能可以预测患者的不良预后。生存期分析结果提示,MAGE-A9 和 MAGE-A11 均与 ESCC 患者的总体生存率呈负相关,提示 MAGE-A9 和 MAGE-A11 可作为 ESCC 预后不良的判断指标。

Kaplan-Meier 曲线分析表明, MAGE-A9、MAGE-A11 蛋白表达阳性患者的生存率显著短于 MAGE-A9、MAGE-A11 蛋白表达阴性的患者。多因素 Cox 回归模型分析进一步提示,MAGE-A9 蛋白及 MAGE-A11 蛋白表达、组织学分级、临床分期和淋巴结转移可作为总体生存的独立预后因素。与相关文献报道一致,MAGE-A9 蛋白高表达是非转移性肾细胞癌患者^[21]和乳腺浸润性导管癌患者^[12]低生存率的独立影响因子。

本实验发现,在 ESCC MAGE-A9 和 MAGE-A11 存在共表达的现象,60 例 ESCC 标本中有 75%(45/60)至少表达 MAGE-A9 或 MAGE-A11 的其中一种蛋白,38.3%(23/60)的标本共同表达该两种蛋白,由此推测可能可以制备以 MAGE-A9 和 MAGE-A11 为靶点的肿瘤免疫疫苗。HLA-I 类分子可将 MAGE-A 基因的编码产物提呈给 CTL 细胞,从而进行识别和特异性杀伤肿瘤细胞。例如,针对早期非小细胞肺癌术后患者的 II 试验阶段显示,利用 MAGE-A3 疫苗治疗组的复发率是对照组的三分之一^[22]。本实验仅是一个初步研究,仍需筛选出 ESCC 中更多、更具特异性的抗原,为癌症的免疫治疗提供有效靶点。

综上所述,MAGE 蛋白在 ESCC 组织中的高表达,提示 MAGE-A9 和 MAGE-A11 可作为免疫治疗的潜在靶点。

[参考文献]

- [1] Siegel R, Ma J, Zhao HZ, et al. Cancer statistics, 2014 [J]. *CA Cancer J Clin*, 2014, 64(1): 9-29.
- [2] Ferlay J, Shin HR, Bray F, et al. Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008 [J]. *Cancer*, 2010, 127(12): 2893-2917.
- [3] Haier J, Owzcareck M, Guller U, et al. Expression of MAGE-A cancer/testis antigens in esophageal squamous cell carcinomas [J]. *Anticancer Res*, 2006, 26(3B): 2281-2288.
- [4] 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]. *Science*, 1991(254): 1643-1647.
- [5] 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 [J]. *Cancer Res*, 2001(61): 5544-5551.
- [6] Simpson AJ, Caballero OL, Jungbluth A, et al. Cancer/testis antigens, gametogenesis and cancer [J]. *Nat Rev Cancer*, 2005, 5(8): 615-625.
- [7] Daudi S, Eng KH, Mhawech FP, et al. Expression and immune responses to MAGE antigens predict survival in epithelial ovarian cancer [J]. *PLoS ONE*, 2014, 9(8): e104099.
- [8] Grah JJ, Katalinic D, Juretic A, et al. Clinical significance of immunohistochemical expression of cancer/testis tumor-associated antigens (MAGE-A1, MAGE-A3/4, NY-ESO-1) in patients with non-small cell lung cancer [J]. *Tumori*, 2014, 100(1): 60-68.
- [9] Guo L, Sang M, Liu Q, et al. The expression and clinical significance of melanoma-associated antigen-A1, -A3 and -A11 in glioma [J]. *Oncol Lett*, 2013, 6(1): 55-62.
- [10] Yin B, Zeng Y, Wang X, et al. Expression and clinical significance of cancer-testis genes in clear cell renal cell carcinoma [J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2014 15; 7(7):4112-4119.
- [11] 李佳,潘林娜,张志燕,等. MAGE-A1 在食管癌中的表达及其与肿瘤细胞增殖的关系 [J]. *世界华人消化杂志*, 2007, 15(7): 706-711.
- [12] Xu X, Tang X, Lu M, et al. Overexpression of MAGE-A9 predicts unfavorable outcome in breast cancer [J]. *Exp Mol Pathol*, 2014, 97(3): 579-584.
- [13] Mengus C, Schultz-Thater E, Coulot J, et al. MAGE-A10 cancer/testis antigen is highly expressed in high-grade non-muscle-invasive bladder carcinomas [J]. *Int J Cancer*, 2013, 132(10): 2459-2463.
- [14] Olarte I, Martinez A, Ramos-Penafiel C, et al. MAGE-A3 expression is an adverse prognostic factor in diffuse large B-cell lymphoma [J]. *Hematology*, 2011, 16(6): 368-372.
- [15] Dyrskjot L, Zieger K, Kissow Lildal T, et al. Expression of MAGE-A3, NY-ESO-1, LAGE-1 and PRAME in urothelial carcinoma [J]. *Br J Cancer*, 2012, 107(1): 116-122.
- [16] Hyoung SL, Sung WK, Jong CH, et al. Expression of MAGE A1-6 and the clinical characteristics of papillary thyroid carcinoma [J]. *Anticancer Res*, 2013, 33(4): 1731-1735.

- [17] Hou SY, Sang MX, Geng CZ, et al. Expressions of MAGE-A9 and MAGE-A11 in breast cancer and their expression mechanism [J]. Arch Med Res, 2014, 45(1): 44-51.
- [18] Lian Y, Sang M, Ding C, et al. Expressions of MAGE-A10 and MAGE-A11 in breast cancers and their prognostic significance: a retrospective clinical study [J]. Cancer Res Clin Oncol, 2012, 138(3): 519-527.
- [19] Mengus C, Schultz-Thater E, Coulot J, et al. MAGE-A10 cancer/testis antigen is highly expressed in high-grade non-muscle-invasive bladder carcinomas [J]. Cancer, 2013, 132(10): 2459-2463.
- [20] John T, Starmans MH, Chen YT, et al. The role of cancer-testis antigens as predictive and prognostic markers in non-small cell lung cancer [J]. PLoS ONE, 2013, 8(7): e67876.
- [21] Hatiboglu G, Pritsch M, Macher-Goeppinger S, et al. Prognostic value of melanoma-associated antigen A9 in renal cell carcinoma [J]. Scand J Urol Nephrol, 2013, 47(4): 311-322.
- [22] Mellstedt H, Vansteenkiste J, Thatcher N. Vaccines for the treatment of non-small cell lung cancer: investigational approaches and clinical experience [J]. Lung Cancer, 2011, 73(1): 11-17.
- [收稿日期] 2015 - 04 - 30 [修回日期] 2015 - 09 - 05
- [本文编辑] 阮芳铭

· 科技动态 ·

酪氨酸激酶 SHP2 影响机体的抗真菌免疫

上海巴斯德研究所肖晖教授和美国加利福尼亚大学圣地亚哥医学院冯根生教授的合作研究,发现了酪氨酸磷酸酶 SHP-2 参与了 C 型凝集素受体介导的巨噬细胞和树突状细胞抗真菌免疫反应,该成果发表在 2015 年 4 月份的 Nat Immunol 杂志中。

真菌,是一种广泛存在的病原微生物。相对于细菌和病毒而言,真菌不易引起全身性的感染。大多数由真菌感染引起的疾病,都只存在于皮肤和黏膜层。因此,真菌的感染机制和人体的抗真菌反应也一直没有得到很多的关注。但是,最近的 10 ~ 20 年间,由于艾滋病患者数目的急剧增加和免疫抑制剂的广泛应用,越来越多的全身性真菌感染的病例出现在这些免疫系统受损的病人中。最近的数据统计,每年大概有 62 万的艾滋病患者死于全身性隐球菌(真菌中的一类)感染,所以近 10 年里,在一批新的科学家的努力探索下,真菌的感染机制和机体的抗真菌反应也开始慢慢被人们所了解。

机体的抗真菌反应主要是由巨噬细胞、树突状细胞以及 Th17 细胞参与,而巨噬细胞和树突状细胞能够对真菌产生反应主要依赖于模式识别受体中的 C 型凝集素受体 CLR 和 NOD 样受体 NLR。C 型凝集素受体有以下一些成员: Dectin-1、Dectin-2、Dectin-3 和 Mincl。肖晖教授研究团队发现,在真菌以及 Dectin 家族配体刺激下,酪氨酸磷酸酶 SHP-2 能够被酪氨酸磷酸化,说明 SHP-2 很可能参与到了 C 型凝集素介导的抗真菌反应。

肖晖教授研究团队发现, *shp2* 基因缺失的骨髓诱导树突状细胞(BMDC)在真菌刺激下,介导炎症反应的关键酪氨酸磷酸酶 SYK 磷酸化活化水平降低,并且 SYK 也不能正常地被招募到细胞膜上发挥作用。因此, *shp2* 基因缺失的骨髓诱导树突状细胞在真菌刺激下所释放的炎性因子和趋化因子都显著减少,说明 SHP2 确实正向调控了骨髓诱导树突状细胞的抗真菌反应。进一步研究还发现, SHP2 可通过 N 端的 SH2 蛋白结构域和受体 Dectin-1 相结合,也能够和 SYK 相结合。于是, SHP2 就发挥了类似于接头蛋白的作用,帮助受体 Dectin-1 募集了酪氨酸磷酸酶 SYK,从而向下游传递了抗真菌反应的炎性信号。

为了进一步说明 SHP2 在抗真菌反应中的作用,肖晖教授研究团队还利用 DC 细胞特异性敲除 *shp2* 基因的小鼠通过静脉注射感染真菌,发现其体重减少得更严重,死亡率也更高,说明机体的抗真菌能力明显受到了抑制。DC 细胞特异性敲除 *shp2* 基因的小鼠的脾脏炎性因子分泌量也有明显降低;不仅如此,脾脏中促进 Th17 细胞反应性的炎性因子 IL-17 和 IFN γ 产生量也受到明显的抑制, TH17 细胞对于机体的抗真菌反应也有不可或缺的作用,这也再次说明了 SHP2 在机体抗真菌免疫反应中的重要作用。

肖晖教授研究团队的工作揭示了 SHP2 在机体抗真菌免疫反应中的作用机制,让人们对于自身是如何抵抗真菌感染又多了一份了解,也为对抗真菌的药物治疗提供了一个可供筛选的靶点。

[胡翔 摘译, 韩超峰 审阅. Deng Z, Ma S, Zhou H, Zang A, et al. Nat Immunol, 2015, 16(6): 642-652.]