

DOI:10.3872/j.issn.1007-385X.2017.06.010

非小细胞肺癌组织中黑色素瘤相关抗原 A 家族部分成员的表达及其意义

谷丽娜^a, 桑梅香^b, 尹丹静^a, 刘飞^a, 刘世娜^b, 黄卫娜^b, 王芃堉^a, 连易水^a, 单保恩^{a,b} (河北医科大学第四医院 a. 科研中心; b. 肿瘤研究所免疫室, 河北石家庄 050011)

[摘要] **目的:**探讨黑色素瘤相关抗原(melanoma antigen, MAGE)-As 在非小细胞肺癌(Non-small cell carcinoma, NSCLC)组织中的表达,并分析其与临床病理学特征和预后的关系。**方法:**选取河北医科大学第四医院2015年9月至2016年3月住院手术切除的NSCLC组织及相应癌旁组织标本90例,应用免疫组织化学法检测NSCLC组织及相应癌旁组织中MAGE-As蛋白的表达,分析MAGE-As蛋白表达与NSCLC临床病理指标之间的相关性;利用荧光原位杂交技术检测EGFR基因扩增和ALK基因重排情况,Spearman检验MAGE-A表达与EGFR扩增和ALK重排的关系;应用Kaplan-Meier方法对NSCLC患者是否阳性表达MAGE-As蛋白进行生存分析,利用Cox回归模型针对阳性表达MAGE-As及相关的临床病理资料进行单因素和多因素分析。**结果:**NSCLC组织中MAGE-As蛋白的阳性表达率明显高于癌旁组织($P < 0.05$)。MAGE-As蛋白的表达与患者的临床病理学特征、EGFR扩增和ALK重排均无关联($P > 0.05$)。MAGE-As蛋白表达阳性的NSCLC患者生存期显著低于其表达阴性患者($P < 0.05$),而EGFR扩增和ALK重排与患者的整体生存率无关($P > 0.05$)。多因素分析结果显示,MAGE-As表达、临床分期和淋巴结转移是NSCLC患者较差预后的独立危险因素。**结论:**MAGE-As蛋白是NSCLC的相关抗原,MAGE-As蛋白可作为NSCLC患者预后不良的预测指标。

[关键词] 非小细胞肺癌;黑色素瘤相关抗原-As;预后;EGFR扩增;ALK重排

[中图分类号] R734.2; R730.2

[文献标识码] A

[文章编号] 1007-385X(2017)06-0632-07

Expressions of the melanoma antigen-A family member in non-small cell carcinoma tissues and its significance

GU Lina^a, SANG Meixiang^b, YIN Danjing^a, LIU Fei^a, LIU Shina^b, HUANG Weina^b, WANG Pengyu^a, LIAN Yishui^a, SHAN Baoen^{a,b} (a. Department of Research Center, b. Department of Immunology, Tumor Research Institute; Fourth Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050011, Hebei, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the expression of melanoma antigen (MAGE)-As in non-small cell carcinoma (NSCLC), and to explore its correlation with clinical pathological indicators and the prognosis. **Methods:** NSCLC tissue samples ($n = 90$) and para-carcinoma tissue samples ($n = 90$) were collected from 90 patients with NSCLC who were surgically treated in Fourth Hospital of Hebei Medical University between September of 2005 and March of 2006. The expression of MAGE-As protein in the 90 paired tissues was detected by immunohistochemistry assay, and its correlation to NSCLC clinical pathological indicators was analyzed. In addition, EGFR amplification and ALK rearrangements of NSCLC patients were detected by fluorescent in situ hybridization, and the association between MAGE-As expression and EGFR amplification and ALK rearrangements was analyzed with Spearman correlation analysis. The survival of NSCLC patients with positive MAGE-As expression was analyzed by Kaplan-Meier method. Cox regression model was used for univariate analysis and multivariate analysis of correlations between positive expression of MAGE-As and clinical pathological indica-

[基金项目] 河北省财政支撑资助项目(No. 20141257);河北省杰出青年基金资助项目(No. H2016206410);河北省财政厅资助项目(No. 2016361006)。Project supported by the Financial Supporting Program of Hebei Province(No. 20141257), the Foundation for Distinguished Young Scholars of Hebei Province (No. H2016206410), and the Financial Department of Hebei Province (No. 2016361006)

[作者简介] 谷丽娜(1989-),女,硕士生,主要从事肿瘤免疫的基础研究,E-mail:gh081225@163.com

[通信作者] 单保恩(SHAN Baoen, corresponding author),博士,教授,博士生导师,主要从事肿瘤免疫学、基因诊断、抗肿瘤中药研究和肿瘤生物治疗的研究,E-mail:baoshan1962@hotmail.com

[优先发表] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/31.1725.R.20170603.1025.002.html>

tors. **Results:** The positive rates of MAGE-As protein in NSCLC were significantly higher than that of non-cancerous tissues ($P < 0.05$). MAGE-As expression was not correlated with clinical pathological indicators of NSCLC patients, EGFR amplification and ALK rearrangements ($P > 0.05$). Log-rank test showed that the survival time of NSCLC patients with positive MAGE-As expression were lower than those with negative expression ($P < 0.05$); However, EGFR amplification and ALK rearrangements were not associated with the overall survival of NSCLC patients. Results from multivariate analyses showed that the expression of MAGE-As, clinical stage, lymph node metastasis were independent risk factors of NSCLC. **Conclusion:** MAGE-As proteins are NSCLC-associated antigens, thus having potential diagnostic and prognostic significance in clinical settings.

[**Key words**] non-small cell carcinoma (NSCLC); melanoma antigen-As; prognosis; EGFR amplification; ALK rearrangements

[Chin J Cancer Biother, 2017, 24(6): 632-639. DOI:10.3872/j.issn.1007-385X.2017.06.010]

非小细胞肺癌(non-small-cell lung cancer, NSCLC)严重威胁着人类健康,新发病例和新增病死病例均居于恶性肿瘤首位^[1-2]。NSCLC 占肺癌的 85%, 主要分为鳞状细胞癌、腺癌和大细胞肺癌,其中肺腺癌(lung adenocarcinoma, LAC)是最常见的组织学类型。由于绝大多数 NSCLC 发现时已是晚期并伴随着局部转移,5 年生存率不足 20%。因此,寻找新的生物标记物诊疗手段在早期诊断及治疗中均起着重要作用。黑色素瘤相关抗原(melanoma-associated antigen, MAGE)家族属于主要的癌/睾丸抗原(cancer/testis antigen, CTA)家族。基于其组织表达模式的差异和基因结构, MAGE 家族分为两个亚家族: MAGE- I (MAGE-A、MAGE-B 和 MAGE-C) 和 MAGE- II (MAGE-D)^[3]。MAGE-A 家族包括 12 个成员(MAGE-A1 ~ 12), 表达于多种肿瘤组织, 包括喉鳞状细胞癌、食管癌、乳腺癌和头颈部肿瘤^[4-7]。然而 MAGE-A 家族在 NSCLC 组织中的表达模式尚不清楚。因此, 本课题利用免疫组化组对 90 例 NSCLC 组织及其癌旁组织法进行检测, 并分析 MAGE-A 家族蛋白表达与临床病理特征和预后的关系。由于 MAGE-A(6C1) mAb 抗体可同时检测 MAGE-A1 ~ 4、-A6、-A10 和 -A12 蛋白, 因此下文简称为 MAGE-As。此外, 笔者还分析了 NSCLC 患者 MAGE-As 表达和 EGFR 扩增与 ALK 重排之间的关系, 旨在明确 MAGE-As 表达是否可作为 NSCLC 患者诊疗和评估预后的理想标记物。

1 资料与方法

1.1 研究对象

选取河北医科大学第四医院 2005 年 9 月至 2016 年 3 月住院肺癌患者 90 例, 手术切除的 NSCLC 组织及距离癌灶边缘 5 cm 以上且外观正常的相应癌旁组织标本。90 例 NSCLC 患者均为首次

发病, 且术前未行放疗、化疗和内分泌治疗。90 例 NSCLC 标本中, 按照性别分组, 男性 48 例(53.3%), 女性 42 例(46.67%); 按照年龄分组, < 60 岁 44 例(48.89%), ≥ 60 岁 46 例(51.11%); 按照美国肿瘤联合会第 7 版临床分期, I ~ II 期 51 例(56.67%), III ~ IV 期 39 例(43.33%); 按照病理类型分级, 肺腺癌 70 例(77.78%), 肺鳞状细胞癌 10 例(11.11%), 大细胞肺癌 10 例(11.11%); 按照组织学分组, I 级 12 例(13.33%), II 级 40 例(44.44%), III 级 38 例(42.22%); 按照有无淋巴转移分组, 有淋巴转移 43 例(47.78%), 无淋巴转移 47 例(52.22%); 按照肿瘤大小分组, ≤ 5 cm 者 43 例(47.78%), > 5 cm 者 47 例(52.22%)。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的肺组织。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 5 例前列腺癌患者且经病理证实为正常的睾丸组织。90 例 NSCLC 患者中有 86 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, 并通过医院伦理委员会批准。

1.2 组织芯片的制备

组织芯片由上海国家工程研究中心制备。所有组织蜡块病理切片后行 H-E 染色, 并在切片上根据典型部位作标记, 利用组织芯片制作仪在受体蜡块打孔(直径 1.5 mm), 然后根据标记好的典型病理部位获取相应组织芯片, 放入受体蜡块列阵孔中, 并记录组织编号。利用切片机(Leica 德国) 以 4 μm 厚度进行连续切片以制备成组织芯片切片, 每个点均再次经过 H-E 染色以进行病理诊断。

1.3 主要试剂

鼠抗人 MAGE-A(6C1) 单克隆抗体购自英国 Abcam 公司, 抗原修复液购自基因科技上海有限公司, 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, ALK FISH 试

剂盒购自美国雅培分析公司, EGFR FISH 试剂盒购自北京金菩嘉医疗科技有限公司。

1.4 免疫组织化学法检测 NSCLC 组织中 MAGE-As 蛋白的表达

将石蜡病理切片按照 S-P 免疫组织化学试剂盒说明书方法检测 MAGE-As 蛋白的表达情况。鼠抗人 MAGE-As 单克隆抗体以 1:200 稀释, 生物素化山羊抗鼠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: (1) 阳性细胞数, $\leq 5\%$ 为 0 分, $6\% \sim 25\%$ 为 1 分, $26\% \sim 50\%$ 为 2 分, $51\% \sim 75\%$ 为 3 分, $> 76\%$ 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)两者积分相乘, 0 分为阴性, > 0 分为阳性。

1.5 荧光原位杂交(FISH)法检测 NSCLC 组织中 EGFR 基因扩增情况

将 $4 \mu\text{m}$ 石蜡切片放置在预先处理好的载玻片上, 切片 50°C 烤过夜, 然后进行二甲苯脱蜡、水化及梯度酒精去离子水 3 min, 置于 20% 酸性亚硫酸钠处理组织切片 75°C 20 min 后, 用 $2 \times \text{SSC}$ 洗涤。 $200 \mu\text{g/ml}$ 蛋白酶 K (Amresco LCC, Solon, OH, USA) 37°C 消化 30 min, $2 \times \text{SSC}$ 洗涤, 梯度酒精脱水。随后与经变性后的 EGFR 和 CEP7 探针 42°C 杂交过夜。 0.1% NP-40/ $2 \times \text{SSC}$ 洗涤 5 min, DAPI 复染, 最后在荧光显微镜下判读。

结果判读标准: 计数至少 100 个细胞, 统计 Ratio 值。 Ratio 值 = 100 个细胞核中红信号总数/100 个细胞核中绿信号总数。若 Ratio < 2 为阴性结果, 提示该样本无 EGFR 基因扩增; 若 Ratio > 2 为阳性结果, 提示样本中 EGFR 基因发生扩增; 此外, 若 $> 10\%$ 的细胞中存在 ≥ 15 个红色信号或存在成簇的红色信号的, 或 $> 40\%$ 的细胞中存在 ≥ 4 个红色信号, 均评判为阳性结果, 提示样本中 EGFR 基因发生扩增。以上红色信号(EGFR)和绿色信号(CEP7)均由 2 名病理医生和技术人员手动计数。

1.6 FISH 法检测 NSCLC 组织中 ALK 基因重排情况

FISH 法检测 ALK 基因重排, 具体步骤按照说明书进行。结果判读标准: 试剂盒中混合 2 种 DNA 探针, 绿色荧光(ALK 基因着丝粒端)和橙色荧光(ALK

基因端粒端), 细胞核蓝色(DAPI 染色)。如果 2 个探针重叠融合出现黄色信号, 则 ALK 没有发生重排。如橙色信号与绿色信号分离时, 出现一个橙色和绿色分离信号; 除外一个或多个融合信号外, 又多出一个或多个橙色信号, 即为 ALK 基因重排阳性, 否则为阴性。其中橙色和绿色信号之间的距离大于一个信号的直径距离才能定为分离信号。在不同视野计数 50 个细胞, 阳性细胞 ≥ 25 个判定为 ALK 重排阳性, < 5 个判定为 ALK 重排阴性。若 5 个 \leq 异常细胞数 < 25 个则换人判读, 2 次计数阳性细胞数之和 $< 15\%$ 为阴性, $\geq 15\%$ 则为阳性。

1.7 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-As 的表达与临床病理学指标间的关系, MAGE-As 蛋白表达与 EGFR 扩增和 ALK 重排之间的关系采用 Spearman 相关性检验, 应用 Kaplan-Meier 方法对 NSCLC 患者进行生存分析, 利用 Cox 回归模型进行单因素和多因素分析。以 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 MAGE-As 蛋白在 NSCLC 组织中呈高表达

免疫组织化学染色结果(图 1)显示, MAGE-As 蛋白在 NSCLC 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。90 例相应癌旁组织均未发现 MAGE-As 蛋白表达, NSCLC 组织 MAGE-As 蛋白阳性表达率为 45.56% ($41/90$) (图 1 A3、B3、C3), 明显高于癌旁组织(图 1 D1) ($P < 0.05$)。

2.2 MAGE-As 蛋白表达与 NSCLC 临床病理指标均无关联

分析结果(表 1)显示, MAGE-As 蛋白表达与 NSCLC 患者的性别、年龄、组织学分级、临床分期、肿瘤大小和淋巴转移均无关联($P > 0.05$)。

2.3 EGFR 扩增和 ALK 重排与 MAGE-As 蛋白表达均无关联

FISH 法检测结果显示, 90 例 NSCLC 患者中, 38.89% ($35/90$) 患者出现 EGFR 扩增(图 2A), 11.11% ($10/90$) 患者出现 ALK 重排(图 2B)。MAGE-A 表达与 EGFR 扩增和 ALK 重排均无关联(表 2)。

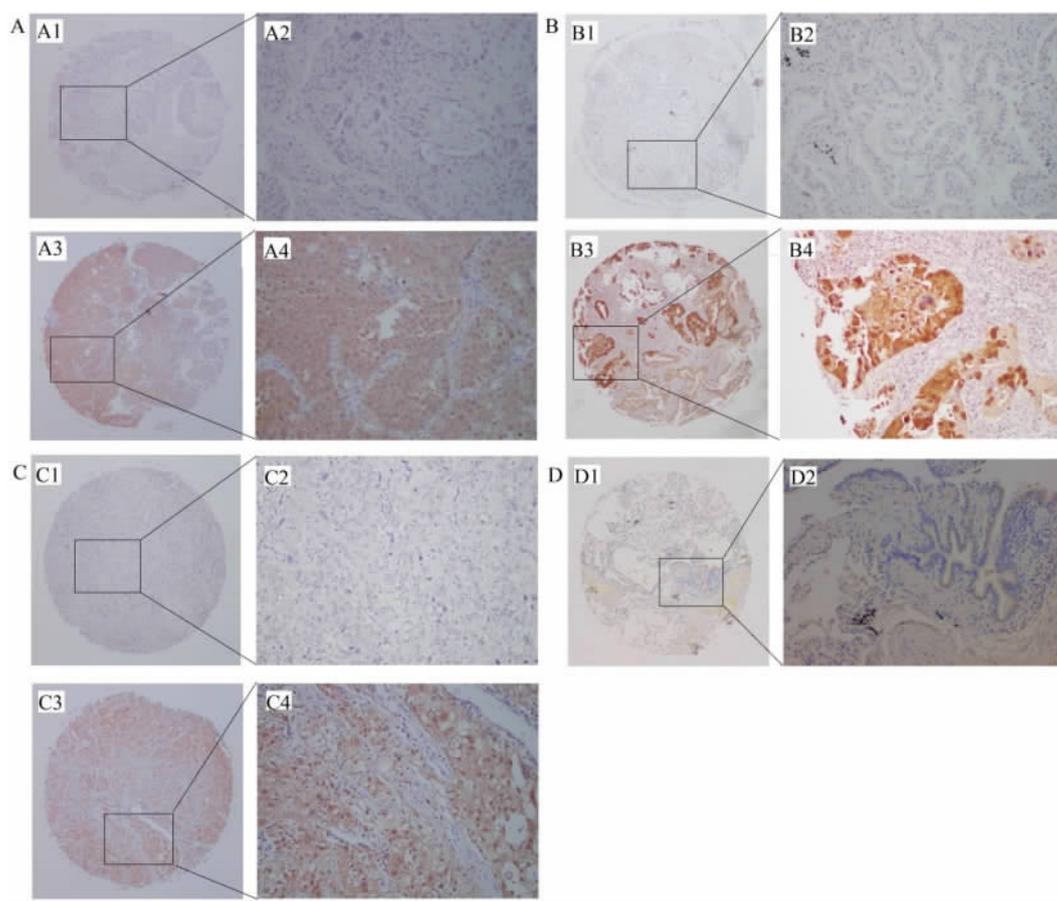
2.3 MAGE-As 蛋白表达阳性 NSCLC 患者的生存期显著低于阴性患者

NSCLC 患者生存分析(图 3)显示, MAGE-As 表达阳性患者生存期显著低于 MAGE-As 表达阴性患

者 ($P < 0.01$), 而与 *EGFR* 扩增和 *ALK* 重排无关 ($P > 0.05$)。

单因素分析(表 3)提示, 仅有 MAGE-As 蛋白表

达、TNM 分期和淋巴结转移可进入回归模型。多因素分析显示, MAGE-As 表达、TNM 分期和淋巴结转移可作为患者生存独立预后因素。



A: Squamous-cell carcinoma (A1: Negative, $\times 40$; A2: Negative, $\times 200$; A3: Positive, $\times 40$; A4: Positive, $\times 200$);

B: LAC tissues (B1: Negative, $\times 40$; B2: Negative, $\times 200$; B3: Positive, $\times 40$; B4: Positive, $\times 200$);

C: Large-cell lung cancer (C1: Negative, $\times 40$; C2: Negative, $\times 200$; C3: Positive, $\times 40$; C4: Positive, $\times 200$);

D: Normal lung tissues (D1: Negative, $\times 40$; D2: Negative, $\times 200$)

图 1 MAGE-As 在 NSCLC 组织中的表达高于癌旁组织(S-P 法)

Fig.1 Expressions of MAGE-As in NSCLC tissues were higher than that of para-carcinoma tissues (S-P staining)

3 讨论

由于早期症状隐匿, 大多数 NSCLC 患者确诊时已发生淋巴结或远处转移。新兴化疗药物和分子靶向药物仍不能提高患者的预后生存, 因此出现了新的治疗手段——免疫疗法^[8]。MAGE-As 作为分化良好的 CTA 家族成员, 已经应用于临床试验阶段^[9]。有研究^[10]显示, 在 NSCLC 患者中, MAGE-A4 和 MAGE-A10 的表达率分别为 29.6% 和 23.9%, 而其表达率在病理学类型方面存在差异, 肺鳞状细胞癌中 MAGE-A4 和 MAGE-A10 的表达率为 47.7% 和 33.8%, 均高于肺腺癌的 18.0% 和 18.0%。MAGE-

A9 在肺腺癌和 NSCLC 患者中的表达率分别为 42.78% 和 52.11%^[11-12]。然而, 由于高度保守的序列 MHD, 很难获得抗体来特异性检测 MAGE-As 家族成员, 从而阻碍了组织中 MAGE-As 表达的相关研究。因此, 大多数研究应用 Real-time PCR 检测 MAGE-As 基因表达。最近文献^[11-12]报道, MAGE-A9 在不同组织学类型肺癌中均高表达, 但 MAGE-As 的 12 个家族成员在肺癌组织中的表达情况仍不清楚。

为了评估 MAGE-As 家族成员是否可作为 NSCLC 免疫治疗的特殊靶点, 笔者对 NSCLC 组织中 MAGE-As 家族蛋白的表达模式进行分析。

表 1 NSCLC 组织中 MAGE-As 的阳性表达与患者临床病理特征之间的关系(n)

Tab.1 Correlations of positive expression of MAGE-As in NSCLC tissues with clinicopathological features(n)

Feature	N	MAGE-As		χ^2	P
		(-)	(+)		
Gender				0.135	0.713
Men	48	27	21		
Women	42	22	20		
Age(t/a)				0.196	0.658
< 60	44	25	19		
≥60	46	24	22		
Histological grade				3.354	0.187
I	12	5	7		
II	40	26	14		
III	38	18	20		
Clinical stage				0.278	0.598
I ~ II	51	29	22		
III ~ IV	39	20	19		
Tumor size(d/cm)				0.030	0.862
≤5	43	23	20		
>5	47	26	21		
Metastatic state of lymph node				0.062	0.803
Yes	43	24	19		
No	47	25	22		

患者的临床病理特征之间的关系。Kaplan-Meier 曲线分析表明, MAGE-As 蛋白表达阳性 NSCLC 患者的生存率显著短于 MAGE-As 蛋白表达阴性的患者。多因素分析进一步分析提示, MAGE-As 蛋白表达、临床分期和淋巴结转移可作为患者 10 年生存的独立危险因素。这些结果均与 MAGE-A4 和 A9 在肺癌中的最新研究相一致^[11-13]。

表 2 NSCLC 患者中 MAGE-As 的表达与 EGFR 扩增和 ALK 重排的关系(n)

Tab.2 Correlation between MAGE-As expression and EGFR amplification and ALK rearrangement in patients with NSCLC(n)

Variables	expression	N	MAGE-As		r	P
			-	+		
EGFR amplification					0.048	0.651
	-	55	31	24		
	+	35	18	17		
ALK rearrangement					-0.039	0.712
	-	80	43	37		
	+	10	6	4		

虽然 MAGE-As 蛋白的生物学功能尚不完全清楚。Sakurai 等^[14]发现, MAGE-A4 与 Myc 基因相关的锌指蛋白 1(Myc-interacting zinc finger protein 1, Miz1)相关, 从而导致了一系列肿瘤细胞的凋亡。MAGE-As 蛋白可能导致了肿瘤的高侵袭, 并且导致了三阴性乳腺癌的上皮间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)^[6]。有研究^[16]显示, MAGE 基因参与了早期肿瘤形成并调控细胞增值和侵袭^[15]。MAGE-A3 蛋白的表达可能与 NSCLC 表皮生长因子受体酪氨酸激酶抑制剂(epidermal growth factor receptor-tyrosine kinase inhibitor, EGFR-TKI)耐药相关, 而且 MAGE-A3 蛋白的表达率越高, 更易在较短的时间内获得耐药。以上结果可能揭示了 MAGE-As 与肿瘤生长之间存在一定关系, 由此推测 MAGE-As 可作为抗肿瘤治疗的靶点。

近十年来, 针对 EGFR 扩增和 ALK 重排的靶向治疗在 NSCLC 患者治疗方面发展迅速^[17]。越来越多研究^[18]表明, EGFR 是公认的癌基因, 其拷贝数可显著变化。有研究^[19]报道, EGFR 高拷贝数与吉非替尼治疗有效有关, NSCLC 的免疫疗法基于肿瘤相关抗原, 而其靶向治疗基于癌基因的突变。本文利用 FISH 法检测了 EGFR 扩增和 ALK 重排情况, 并

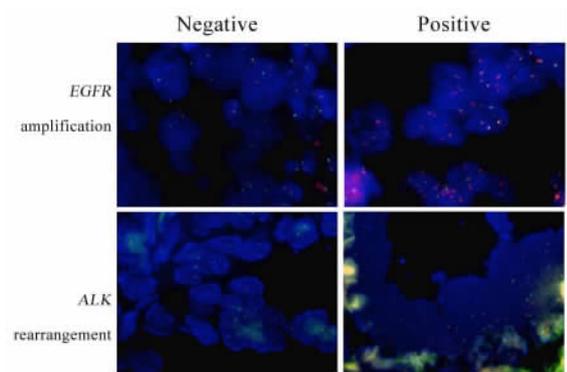


图 2 NSCLC 组织 EGFR 扩增和 ALK 重排情况(×40)
Fig.2 Assessment of EGFR amplification and ALK rearrangements in tumor tissues of NSCLC (×40)

本研究的结果显示, 45.56% 的 NSCLC 组织表达 MAGE-As 蛋白, 但未发现 MAGE-As 表达与 NSCLC

分析其与 MAGE-As 表达之间的关系,结果显示,90 例 NSCLC 患者分别出现 38.89% 的 EGFR 扩增和 11.11% 的 ALK 重排。但生存分析显示,EGFR 扩增和 ALK 重排并未影响 NSCLC 患者的整体生存期,并且与 MAGE-As 蛋白的表达无关。同样有研究^[20]证实,EGFR 突变并不影响 NSCLC 患者的整体生存率,MAGE-A 蛋白表达与肿瘤组织中是否存在野生型 EGFR 或突变型 EGFR 无相关性,而突变型 EGFR

可以与酪氨酸激酶抑制剂(tyrosine kinase inhibitor, TKI)结合进行肿瘤免疫治疗。本研究发现,MAGE-As 蛋白表达可影响 NSCLC 患者的整体生存率,而与患者是否存在 EGFR 扩增或 ALK 重排无关。这些数据表明,存在 EGFR 扩增和 ALK 重排的患者均可能受益于 EGFR 和 ALK 靶向治疗,而靶向 MAGE-As 的免疫治疗可能可作为未受益于 EGFR 和 ALK 靶向治疗患者的理想免疫治疗策略。

表 3 NSCLC 患者 10 年生存率预后因素的单因素及多因素分析

Tab.3 Univariate and multivariable analyses of prognostic factors in NSCLC patients for 10-year survival

Variable	Univariate analysis			Multivariate analysis		
	HR	95% CI	P	HR	95% CI	P
Expression of MAGE-As						
High vs Low	2.722	1.411-5.252	0.003	2.644	1.353-5.167	0.004
Gender						
Male vs Female	1.057	0.563-1.986	0.862			
Age(t/a)						
<60 vs ≥60	1.527	0.807-2.891	0.194			
Tumor size(d/cm)						
≤5 vs >5	1.613	0.845-3.078	0.147			
Histological grade						
I ~ II vs III	1.081	0.672-1.741	0.748			
Clinical stage						
I ~ II vs III ~ IV	1.902	1.397-2.590	0.001	1.672	1.138-2.456	0.009
Metastatic state of lymph node						
Yes vs No	3.727	1.872-7.420	0.001	2.264	1.053-4.867	0.036
ALK rearrangement	0.459	0.141-1.492	0.195			
EGFR amplification	1.384	0.735-2.608	0.314			

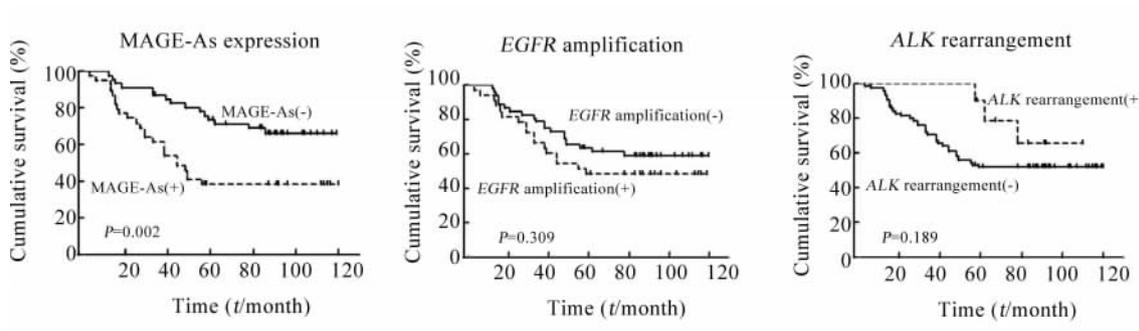


图 3 NSCLC 患者总体生存率与 MAGE-As 表达、EGFR 扩增和 ALK 重排关系的 Kaplan-Meier 曲线

Fig.3 Kaplan-Meier curves showing overall survival in relation to MAGE-As protein expression, EGFR amplification and ALK rearrangements

在相应的癌旁组织中,并未发现 MAGE-As 的阳性表达,这表明 MAGE-As 家族成员是肿瘤相关抗原。同时, MAGE-As 在不同病理学类型的肺癌中存在阳性表达,包括肺腺癌、肺鳞状细胞癌和大细胞肺癌。由于其例数有限,并未分别统计 MAGE-As 蛋白表达与这 3 种肺癌的临床病理资料之间的关系。未来本课题组将增加这 3 种肺癌的样本量,以期进一步分析 MAGE-As 家族与不同病理学类型的肺癌之间的关系及其作用机制。

[参 考 文 献]

- [1] REBECCA L, KIMBERLY D, AHMEDIN J, et al. Cancer statistics, 2015 [J]. CA Cancer J Clin, 2015, 63(1):11-30. DOI: 10.3322/caac.21254.
- [2] CHEN W Q, ZHENG R S, PETER D, et al. Cancer statistics in China, 2015 [J]. CA Cancer J Clin, 2016, 66(2):115-132. DOI: 10.3322/caac.21338.
- [3] 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 (5038):1643-1647.
- [4] LIU S H, SANG M X, XU Y R, et al. Expression of MAGE-A1, -A9, -A11 in laryngeal squamous cell carcinoma and their prognostic significance: a retrospective clinical study [J]. Acta Otolaryngol, 2016, 136(5):506-513. DOI: 10.3109/00016489.2015.1126856.
- [5] 谷丽娜, 桑梅香, 刘飞, 等. 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 [J]. 中国肿瘤生物治疗, 2015, 22(5):630-636. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2015.05.011.
- [6] WANG H Q, SANG M X, GENG C Z, et al. MAGE-A is frequently expressed in triple negative breast cancer and associated with epithelial-mesenchymal transition [J]. Neoplasma, 2016, 63 (1):44-56. DOI: 10.4149/neo_2016_006.
- [7] HARTMANN S, MEYER T J, BRANDS R C, et al. MAGE-A expression clusters and antineoplastic treatment in head and neck cancer [J]. Int J Mol Med, 2015, 35(6):1675-1682. DOI: 10.3892/ijmm.2015.2174.
- [8] PFISTER D G, JOHNSON D H, AZZOLI C G, et al. American society of clinical oncology american society of clinical oncology treatment of unresectable non-small-cell lung cancer guideline: update 2003 [J]. J Clin Oncol, 2004, 22(2): 330-353. DOI: 10.1200/JCO.2004.09.053.
- [9] PUJOL J L, VANSTEENKISTE J F, DE PAS T M, et al. Safety and immunogenicity of MAGE-A3 cancer immunotherapeutic with or without adjuvant chemotherapy in patients with resected stage I B to III MAGE-A3-positive non-small-cell lung cancer [J]. J Thorac Oncol, 2015, 10(10): 1458-1467. DOI: 10.1097/JTO.0000000000000653.
- [10] SU C, XU Y, LI X, et al. Predictive and prognostic effect of CD133 and cancer-testis antigens in stage I b-III A non-small cell lung cancer [J]. Int J Clin Exp Pathol, 2015, 8(5): 5509-5518.
- [11] ZHAI X, XU L, ZHANG S, et al. High expression levels of MAGE-A9 are correlated with unfavorable survival in lung adenocarcinoma [J]. Oncotarget, 2016, 7 (4):4871-4881. DOI: 10.18632/oncotarget.6741.
- [12] ZHANG S, ZHAI X, WANG G, et al. High expression of MAGE-A9 in tumor and stromal cells of non-small cell lung cancer was correlated with patient poor survival [J]. Int J Clin Exp Pathol, 2015, 8(1): 541-550.
- [13] YAO J, CABALLERO O L, YUNG W K, et al. Tumor subtype-specific cancer-testis antigens as potential biomarkers and immunotherapeutic targets for cancers [J]. Cancer Immunol Res. 2014, 2 (4):371-379. DOI: 10.1158/2326-6066.CIR-13-0088.
- [14] SAKURAI T, ITOH K, HIGASHITSUJI H, et al. A cleaved form of MAGE-A4 binds to Miz-1 and induces apoptosis in human cells [J]. J Biol Chem, 2004, 279(15):15505-15514. DOI: 10.1074/jbc.M310437200.
- [15] LIU X L, SUN N, DONG Y N, et al. Anticancer effects of adenovirus-mediated calreticulin and melanoma-associated antigen 3 expression on non-small cell lung cancer cells [J]. Int Immunopharmacol, 2015, 25(2): 416-424. DOI: 10.1016/j.intimp.2015.02.017.
- [16] JIN J, LIU B Z, WU Z M. Evaluation of melanoma antigen gene A3 expression in drug resistance of epidermal growth factor receptor-tyrosine kinase inhibitors in advanced non-small cell lung cancer treatment [J]. J Cancer Res Ther, 2015, 11(8):271-274. DOI: 10.4103/0973-1482.170549.
- [17] POLITI K, HERBST R S. Lung cancer in the era of precision medicine [J]. Clin Cancer Res, 2015, 21(10):2213-2220. DOI: 10.1158/1078-0432.
- [18] SHOLL L M, YEAP B Y, IAFRATE A J, et al. Lung adenocarcinoma with EGFR amplification has distinct clinicopathologic and molecular features in never-smokers [J]. Cancer Res, 2009, 69 (21):8341-8348. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-09-2477.
- [19] HIRSCH F R, VARELLA-GARCIA M, MCCOY J, et al. Southwest oncology group, increased epidermal growth factor receptor gene copy number detected by fluorescence in situ hybridization associates with increased sensitivity to gefitinib in patients with bronchioloalveolar carcinoma subtypes: a southwest oncology group study [J]. J Clin Oncol, 2005, 23(28): 6838-6845. DOI: 10.1200/JCO.2005.01.2823.
- [20] AYYOUB M, MEMEO L, ALVAREZ-FERNÁNDEZ E, et al. Assessment of MAGE-A expression in resected non-small cell lung cancer in relation to clinicopathologic features and mutational status of EGFR and KRAS [J]. Cancer Immunol Res, 2014, 2(10): 943-948. DOI: 10.1158/2326-6066.CIR-13-0211.

[收稿日期] 2017-01-10

[修回日期] 2017-03-03

[本文编辑] 王映红