

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2018.08.009

· 临床研究 ·

## 黑色素瘤相关抗原 A 基因家族在食管癌患者外周血中的表达及其临床意义

谷丽娜<sup>a</sup>, 尹丹静<sup>a</sup>, 桑梅香<sup>ab</sup>, 刘飞<sup>a</sup>, 吴云艳<sup>a</sup>, 刘世娜<sup>b</sup>, 李娟<sup>a</sup>, 单保恩<sup>ab</sup>(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 A 家族(melanoma antigen A, *MAGE-As*)在食管癌患者外周血中的表达, 分析其与食管癌患者临床病理学指标及预后的关系。 **方法:** 采用多重巢式 PCR(multiplex semi-nested PCR)法检测 153 例食管癌患者和 30 例健康人外周血中 *MAGE-As* mRNA 表达水平, 并利用酶切的方法鉴定该家族成员 *MAGE-A1*、*A2*、*A3*、*A4* 和 *A6* 的表达情况。 **结果:** *MAGE-As* 在食管癌患者外周血中阳性表达率为 19.61%(30/153), *MAGE-A1*、*A2*、*A3*、*A4*、*A6* 的阳性表达率分别为 10.46%(16/153)、16.34%(25/153)、9.8%(15/153)、11.11%(17/153)和 18.30%(28/153)。 *MAGE-As* 阳性表达与临床分期、远处转移、淋巴结转移呈正相关(均  $P < 0.05$ ), *MAGE-As* 及其亚型基因的阳性表达均与食管癌患者 5 年生存率较差相关(均  $P < 0.05$ ); *MAGE-As* 表达、肿瘤大小、淋巴结转移及远处转移可作为食管癌患者生存的独立预后因素(均  $P < 0.01$ )。 **结论:** *MAGE-As* 在食管癌患者外周血中的表达与食管癌预后相关, 有可能作为监测食管癌预后的重要指标。

**[关键词]** 食管癌; 黑色素瘤相关抗原 A; 外周血; 预后

**[中图分类号]** R730.7; R739.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2018)08-0803-07

## Expression and clinical significance of melanoma antigen A gene family in peripheral blood of esophageal carcinoma patients

GU Lina<sup>a</sup>, YIN Danjing<sup>a</sup>, SANG Meixiang<sup>ab</sup>, LIU Fei<sup>a</sup>, WU Yunyan<sup>a</sup>, LIU Shina<sup>b</sup>, LI Juan<sup>a</sup>, SHAN Baoen<sup>ab</sup>(a. Scientific of Research Center; b. Department of Immunology, Tumor Research Institute, Fourth Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050011, Hebei, China)

**[Abstract] Objective:** To evaluate the expression of melanoma antigen A family (*MAGE-As*) in the peripheral blood of patients with esophageal carcinoma (EC), and to analyze its correlations to the clinicopathological features and the prognosis of EC patients. **Methods:** mRNA expression of *MAGE-As* in peripheral blood from 153 EC patients and 30 healthy donors was detected using multiplex semi-nested PCR. In addition, restriction endonuclease treatment was used to determine the expression of *MAGE-As* family members, including *MAGE-A1*, *A2*, *A3*, *A4* and *A6*. **Results:** The positive expression of *MAGE-As* was observed in 30 of 153 EC patients (19.61%) in peripheral blood. The positive expression rate of *MAGE-A1*, *A2*, *A3*, *A4*, *A6* was 10.46% (16/153), 16.34%(25/153), 9.8% (15/153), 11.11% (17/153) and 18.30%(28/153), respectively. Additionally, the expression of *MAGE-As* was positively associated with clinical stage, lymphatic metastasis and distant metastasis (all  $P < 0.05$ ). The positive expressions of *MAGE-As* and its sub-type genes were all associated with low 5-year overall survival of ES patients (all  $P < 0.05$ ). Expression of *MAGE-As*, tumor volume, lymphatic metastasis and distant metastasis can be used as independent prognostic factors for the survival of EC patients (all  $P < 0.01$ ). **Conclusion:** The expression of *MAGE-As* in peripheral blood of EC patients was associated with the prognosis of EC, and may be used as an important indicator for the prognosis of esophageal carcinoma.

**[Key words]** esophageal carcinoma; melanoma antigen A; peripheral blood; prognosis

[Chin J Cancer Biother, 2018, 25(8): 803-809. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2018.08.009]

**[基金项目]** 河北省财政支撑项目资助(No.[2014]1257);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(冀财 No. [2016]361006)。Project supported by the Financial Supporting Program of Hebei Province(No. [2014]1257), the Foundation for Distinguished Young Scholars of Hebei Province (No. H2016206410), and the Supporting Program from Financial Department of Hebei Province (No. [2016] 361006)

**[作者简介]** 谷丽娜(1989 - ),女,硕士,实习研究员,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),博士,教授,博士生导师,主要从事肿瘤分子生物学和肿瘤免疫学研究,E-mail:baoen-shan1962@hotmail.com

食管癌是临床上最常见的恶性肿瘤之一,具有侵袭性强、病死率高等临床特点,严重影响人类的健康<sup>[1-2]</sup>。食管癌患者的预后较差,未发生淋巴结转移的食管癌患者术后5年生存率为20%~30%,而存在淋巴结转移患者术后5年生存率仅为13%<sup>[3-5]</sup>。改善患者预后,提高生存质量和生存时间十分重要。因此需寻找监测预后的分子标志物。黑色素瘤相关抗原(melanoma-associated antigens, MAGE)是一群分化较好的癌睾丸抗原(cancer testis antigens, CTA)家族成员<sup>[6]</sup>。基于其基因表达和基因结构的不同, MAGE家族分为两大亚家族: MAGE-I和MAGE-II。其中MAGE-I家族包括MAGE-A、MAGE-B和MAGE-C,其大部分属于肿瘤相关抗原,在除睾丸外的正常人体组织中不表达,而在多种类型的肿瘤组织中高表达<sup>[7-10]</sup>。其中MAGE-As研究最多,包含12个亚家族成员: MAGE-A1~A12。MAGE-II主要包括MAGE-D,其广泛表达于正常人体组织,而在肿瘤组织中不表达。然而,食管癌患者外周血中MAGE-As基因水平的表达状态尚不清楚。由于MAGE-A1、-A2、-A3、-A4和-A6的序列高度相似,很难设计单独引物检测相关基因。为了进一步探讨MAGE-As在食管癌患者外周血中的表达与预后的关系,本研究采用多重巢式PCR(multiplex semi-nested PCR)和酶切方法检测153例食管癌患者和30例健康人外周血中MAGE-As (MAGE-A1, -A2, -A3, -A4和-A6) mRNA以及单个基因亚型的表达情况,分析基因表达与临床病理参数及预后的关系,旨在明确外周血中MAGE-As表达能否作为食管癌患者指导临床治疗和监测预后的分子标志物。

## 1 材料与方法

### 1.1 研究对象

选取河北医科大学第四医院2012年10月至2015年5月期间住院治疗的153例食管癌患者,收集外周血5 ml;另选取河北医科大学第四医院检验科30例健康志愿者外周血5 ml作为阴性对照;正常睾丸组织作为阳性对照,其标本取自前列腺癌去势治疗中取的正常睾丸组织。153例食管癌患者均为首次发病,且经病理检测证实为食管癌,术前未行放疗、化疗和内分泌治疗。

临床病理参数主要包括年龄、性别、吸烟史、饮酒史、病理学类型、组织学分级、临床分期、肿瘤大小、淋巴结转移情况和远处转移情况。上述样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,研究方案已获得医院伦理委员会审查批准。

### 1.2 主要试剂

RNAprepPure血液总RNA提取试剂盒购自北京天根生化科技有限公司,反转录试剂盒购自上海捷瑞生物工程有限公司,Go Taq Green Master Mix购自美国Thermo公司,琼脂糖购自英国OXOID公司,PCR引物购自北京鼎国昌盛生物技术有限责任公司, QIAquick PCR产物纯化试剂盒购自QIAGEN公司, *Bcl* I、*Eco*R I、*Sph* I购自普洛麦格(北京)生物技术有限公司, *Eco*47 III购自Thermo公司, *Afl* III购自New England Biolabs公司。

### 1.3 引物设计

引物选自前期课题组的研究<sup>[11]</sup>。第一轮PCR引物, MAGE-1 F: 5'-ACTGGCCCTGGCTGCAAC-3', R: 5'-GCCCTGACCAGAGTCATCAT-3' (993 bp); MAGE-1-1 F: 5'-ACTGGCCTTGGCTGCAAC-3', R: 5'-CCCTGACGAGAGTCATCATG-3' (目的片段965 bp)。第二轮PCR引物, MAGE-2 F: 5'-ACTGGCCCTGGCTGCAAC-3', R: 5'-AGGCCCTGGGCTGGTG-3' (目的片段914 bp); MAGE-2-2 F: 5'-ACTGGCCTTGGCTGCAAC-3', R: 5'-AGGCCCTGGGCTGGTG-3' (目的片段893 bp)。GAPDH引物: F: 5'-ACCTGACCTGCCGTCTAGAA-3', R: 5'-TCCACCACCCTGTTGCTGTA-3'。引物由上海生工公司合成与纯化。

### 1.4 多重巢式PCR检测食管癌患者外周血中MAGE-As mRNA表达水平

用血液总RNA提取试剂盒分别从食管癌患者和健康人血浆中提取总RNA,用反转录试剂盒进行反转录。第一轮PCR反应体系为模板cDNA 5 μl, MAGE-1F(10 μmol/L)和MAGE-1R(10 μmol/L)各1 μl, MAGE-1-1F(10 μmol/L)和MAGE-1-1R(10 μmol/L)各0.2 μl, 2×Taq Master Mix(含染料) 25 μl, 去离子水加至总体积为50 μl。第二轮PCR反应体系为首轮PCR产物5 μl, MAGE-2F(10 μmol/L)和MAGE-2R(10 μmol/L)各2 μl, MAGE-1-2F(10 μmol/L)和MAGE-1-2R(10 μmol/L)各0.4 μl, 2×Taq Master Mix(含染料) 50 μl, 去离子水加至总体积为100 μl。两轮反应条件均为: 95 °C 5 min, 95 °C 45 s, 65 °C 45 s, 72 °C 90 s, 31个循环, 72 °C 6 min。取PCR产物6 μl, 用1.5%琼脂糖凝胶进行电泳, 凝胶成像系统中观察扩增结果。

### 1.5 限制性内切酶处理获取MAGE-As基因片段

使用QIAquick PCR产物纯化试剂盒,按照说明书将以上获得的PCR进行产物纯化。将纯化后PCR产物分组,分别用限制性内切酶*Bcl* I、*Sph* I、*Eco*R I、*Eco*47 III和*Afl* III进行单酶切,得到MAGE-A1、-A2、-A3、-A4和-A6的不同基因片段(表1)。酶切产

物用 1.5% 琼脂糖凝胶进行电泳, 凝胶成像系统中观察 结果。

表 1 限制性内切酶处理 *MAGE-As* 多重巢式 PCR 产物后的酶切片段  
**Tab. 1 Restriction fragments of the multiplex semi-nested PCR products of *MAGE-As* after restriction endonuclease treatment**

Restriction endonuclease	<i>MAGE-As</i>	Product length (bp)	Fragment length (bp)
<i>Bcl</i> I	A1	893	106,787
<i>Sph</i> I	A2	914	21,22,151,720
<i>Eco</i> R I	A3	914	167,747
<i>Eco</i> A7 III	A4	917	375,542
<i>Afl</i> III	A6	914	22,172,282,438

1.6 统计学处理

用 SPSS13.0 统计学软件对所有数据进行统计学处理, *MAGE-As* 基因及单个 *MAGE-A* 基因表达与临床生物学参数的关系采用卡方检验或 Fisher 检验, 应用 Kaplan-Meier 方法对食管癌患者是否阳性表达 *MAGE-As* mRNA 进行生存分析, 应用 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。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* 在食管癌患者外周血中的表达

利用多重巢式 PCR 检测了 *MAGE-As* 基因在 153 例食管癌患者和 30 例健康志愿者外周血中的表达情况, 同时利用酶切的方法检测了 *MAGE-A1*、*MAGE-A2*、*MAGE-A3*、*MAGE-A4* 和 *MAGE-A6* 的表达情况。结果(图 1)显示, *MAGE-As* 基因在睾丸组织(阳性对照)、食管癌患者外周血中阳性表达, 健康人外周血中并不表达。

表 2 显示, 食管癌患者外周血中 *MAGE-As* 的表达率为 19.61% (30/153), 该家族各成员在食管癌患者

外周血中的表达水平由高到低为  $A6 > A2 > A4 > A1 > A3$ 。本组患者中 18 号患者的外周血 *MAGE-As* 表达及酶切实验结果(图 2)显示, *MAGE-A1*、*A2*、*A3*、*A4* 和 *A6* 的片段被检测到。

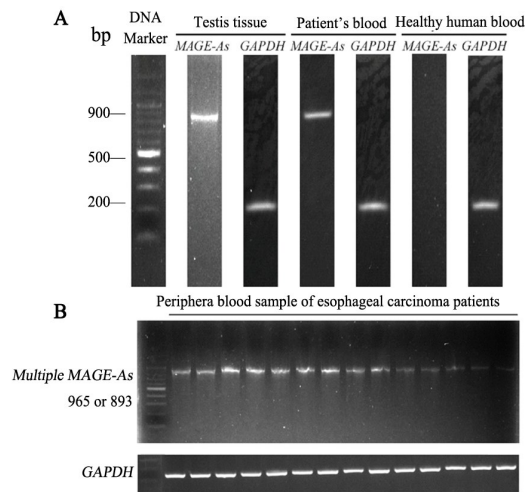


图 1 食管癌患者和健康者外周血中 *MAGE-As* 的表达  
**Fig.1 Expression of *MAGE-As* in the peripheral blood of EC patients and healthy controls**

表 2 153 名食管癌患者外周血中 *MAGE-As* 基因的表达率  
**Tab. 2 Expression rate of *MAGE-As* genes in peripheral blood of 153 EC patients**

Group	<i>MAGE-As</i>	<i>MAGE-A1</i>	<i>MAGE-A2</i>	<i>MAGE-A3</i>	<i>MAGE-A4</i>	<i>MAGE-A6</i>
Positive number (n)	30	16	25	15	17	28
Positive rate (%)	19.61	10.46	16.34	9.80	11.11	18.30

2.2 *MAGE-As* 的表达与患者临床病理特征的关系

统计分析(表 3)显示, *MAGE-As* 在外周血的表达与食管癌患者的性别( $\chi^2=0.381, P=0.537$ )、年龄( $\chi^2=0.483, P=0.487$ )、吸烟史( $\chi^2=0.530, P=0.467$ )、饮酒史( $\chi^2=0.033, P=0.857$ )、病理学类型( $\chi^2=0.245, P=$

0.885)、组织学分级( $\chi^2=2.826, P=0.243$ )、肿瘤大小( $\chi^2=0.208, P=0.648$ )均无关( $P > 0.05$ ), 但与临床分期( $\chi^2=29.111, P=0.000$ )、淋巴结转移( $\chi^2=95.301, P=0.000$ )和远处转移( $\chi^2=36.735, P=0.000$ )呈正相关。

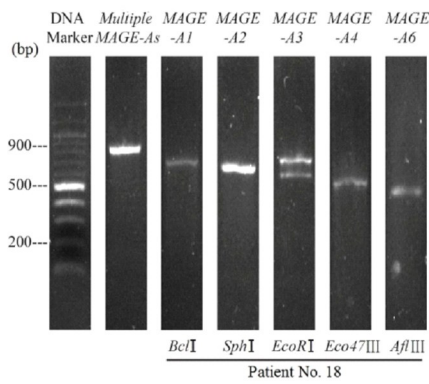


图2 18号食管癌患者外周血中MAGE-As经5种限制性内切酶处理后其家族成员的表达  
 Fig.2 Expression patterns of MAGE-As family members in peripheral blood of patient No. 18 after treatment with 5 restriction endonucleases

MAGE-A1 ( $\chi^2=22.052, P=0.000$ )、MAGE-A2 ( $\chi^2=$

37.580,  $P=0.000$ )、MAGE-A3 ( $\chi^2=25.303, P=0.000$ )、MAGE-A4 ( $\chi^2=14.780, P=0.000$ ) 和 MAGE-A6 ( $\chi^2=34.157, P=0.000$ ) 基因在外周血的表达与食管癌患者的临床分期呈正相关。MAGE-A1 ( $\chi^2=60.243, P=0.000$ )、MAGE-A2 ( $\chi^2=90.568, P=0.000$ )、MAGE-A3 ( $\chi^2=56.068, P=0.000$ )、MAGE-A4 ( $\chi^2=46.308, P=0.000$ ) 和 MAGE-A6 ( $\chi^2=76.350, P=0.000$ ) 基因在外周血的表达与食管癌患者的淋巴结转移呈正相关。MAGE-A1 ( $\chi^2=25.167, P=0.000$ )、MAGE-A2 ( $\chi^2=50.778, P=0.000$ )、MAGE-A3 ( $\chi^2=21.912, P=0.000$ )、MAGE-A4 ( $\chi^2=35.296, P=0.000$ ) 和 MAGE-A6 ( $\chi^2=41.724, P=0.000$ ) 基因在外周血的表达与食管癌患者的远处转移呈正相关。MAGE-A1、-A2、-A3、-A4 和 -A6 基因的表达与食管癌患者年龄、性别、吸烟史、饮酒史、病理学类型、组织学分级和肿瘤大小无关 (均  $P>0.05$ )。

表3 食管癌患者外周血中MAGE-As的表达与临床病理参数的关系 [n(%)]

Tab. 3 Correlations between MAGE-As expression in peripheral blood and clinicopathological factors of patients with esophageal carcinoma [n(%)]

Clinicopathological feature	N	MAGE-As	MAGE-A1	MAGE-A2	MAGE-A3	MAGE-A4	MAGE-A6
Age (t/a)							
<60	75	13 (8.5)	7(4.6)	3(2.0)	8(5.2)	7(4.6)	13(8.5)
≥60	78	17(11.1)	9(5.9)	22(14.4)	7(4.6)	10(6.5)	15(9.8)
Gender							
Female	44	10(6.5)	7(4.6)	9(5.9)	5(3.3)	8(5.2)	10(6.5)
Male	109	20(13.1)	9(5.9)	16(10.5)	10(6.5)	9(5.9)	18(11.8)
Smoking history							
Yes	83	16(10.5)	7(4.6)	11(7.2)	9(5.9)	9(5.9)	14(9.2)
No	70	14(9.2)	9(5.9)	14(9.2)	6(3.9)	8(5.2)	14(9.2)
Drinking history							
Yes	80	15(9.8)	7(4.6)	13(8.5)	8(5.2)	6(3.9)	15(9.8)
No	73	15(9.8)	9(5.9)	12(7.8)	7(4.6)	11(7.2)	13(8.5)
Pathological type							
Squamous	131	25(16.3)	15(9.8)	21(13.7)	10(6.5)	15(9.8)	23(15.0)
Adenoid	10	2(1.3)	0(0)	2(1.3)	2(1.3)	1(0.7)	2(1.3)
Others	12	3(2.0)	1(0.7)	2(1.3)	3(2.0)	1(0.7)	3(2.0)
Histologic grade							
Well	45	11(7.2)	5(3.3)	9(5.9)	7(4.6)	5(3.3)	10(6.5)
Moderately	72	10(6.5)	4(2.6)	7(4.6)	5(3.3)	6(3.9)	9(5.9)
Poorly	36	9(5.9)	7(4.6)	9(5.9)	3(2.0)	6(3.9)	9(5.9)
Clinical stage							
I-II	100	7(4.6)**	2(1.3)**	6(3.9)**	1(0.7)**	4(2.6)**	5(3.3)**
III-IV	53	23(15.0)	14(9.2)	19(12.4)	14(9.2)	13(8.5)	23(15.0)
Tumor size (V/cm <sup>3</sup> )							
≤5	72	13(8.5)	7(4.6)	10(6.5)	6(3.9)	8(5.2)	12(7.8)
>5	81	17(11.1)	9(5.9)	15(9.8)	9(5.9)	9(5.9)	16(10.5)
Lymph node metastasis							
No	118	3(2.0)**	0(0)**	1(0.7)**	0(0)**	2(1.3)**	2(1.3)**
Yes	35	27(17.6)	16(10.5)	24(15.7)	15(9.8)	15(9.8)	22(14.4)
Distant metastases							
No	116	10(6.5)**	4(2.6)	5(3.3)**	4(2.6)**	3(2.0)**	8(5.2)**
Yes	37	20(13.1)	12(7.8)	20(13.1)	11(7.2)	14(9.2)	20(13.1)

\*\*  $P<0.01$  vs another group in the same feature

### 2.3 *MAGE-As* 表达与食管癌患者 5 年生存期的关系

对 *MAGE-As* 和单个基因亚型 *MAGE-A1*~*A4* 和 *A6* mRNA 表达阳性及阴性的患者生存曲线分别进行 Log-Rank 检验, 结果显示, *MAGE-As* mRNA 表达阳性患者的 5 年生存期显著低于 *MAGE-As* mRNA 表达

阴性的患者 ( $P < 0.01$ ) (图 3A); 单个基因亚型 mRNA 表达阳性患者的生存期显著低于阴性的患者: *MAGE-A1*,  $P < 0.01$ ; *MAGE-A2*,  $P < 0.01$ ; *MAGE-A3*,  $P < 0.01$ ; *MAGE-A4*,  $P < 0.01$ ; *MAGE-A6*,  $P < 0.01$  (图 3B-F)。

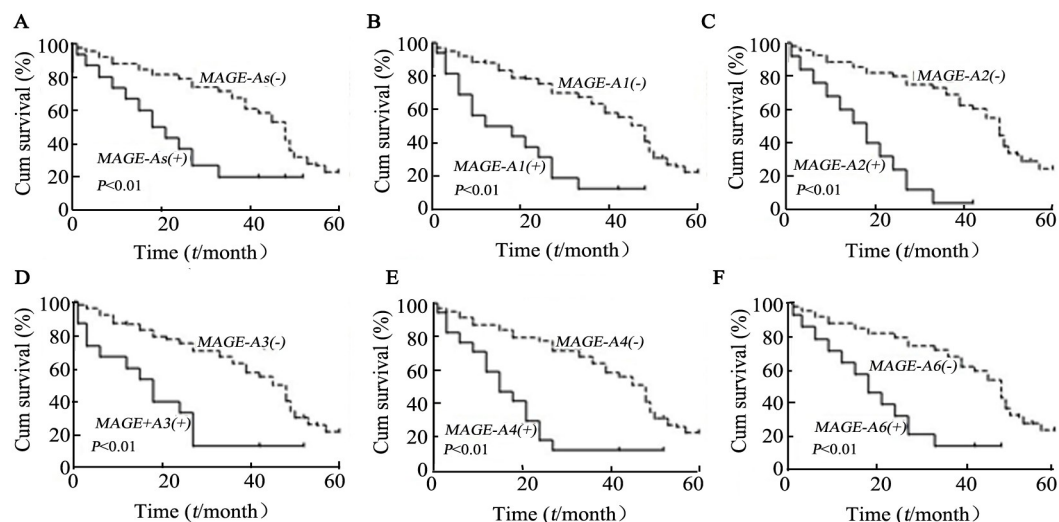


图 3 应用 Kaplan-Meier 曲线分析食管癌患者 5 年 OS 与 *MAGE-As* (A) 及其家族成员 (B-F) 基因表达的关系

Fig. 3 Correlations between *MAGE-As* (A) as well as each *MAGE-A* member (B-F) and the 5-year OS of EC patients by Kaplan-Meier curve analysis

### 2.4 外周血 *MAGE-As* 表达是食管癌患者 5 年生存的独立危险因素之一

单因素分析结果提示, 仅有 *MAGE-As* 基因表达 ( $P < 0.01$ )、TNM 分期 ( $P < 0.01$ )、淋巴结转移 ( $P < 0.01$ ) 和远处转移 ( $P < 0.01$ ) 可进入回归模型进一步分析。然而 TNM 分期包括淋巴结转移和远处转移, 故仅淋巴结转移和远处转移进入回归模型。多因素分析结果提示 *MAGE-As* 基因表达 ( $P < 0.01$ )、肿瘤大小 ( $P < 0.01$ )、淋巴结转移 ( $P < 0.01$ ) 及远处转移 ( $P < 0.01$ ) 可作为食管癌患者生存的独立预后危险因素 (表 4)。

## 3 讨论

循环肿瘤细胞 (circulating tumor cell, CTC) 起源于原发肿瘤部位, 迁移至血液循环进而播散到全身细胞, 在恶性肿瘤的转移过程中起重要作用<sup>[12-13]</sup>。基于免疫磁珠技术的 Cell Search™ 系统是检测 CTC 的金标准, FDA 批准其可预测乳腺癌、前列腺癌和结直肠癌的转移<sup>[14-15]</sup>。这项技术通过检测细胞表面的标记物而识别 CTC, 当标志物下调或缺失时, 将影响检出率。因此有必要寻找新的标志物来识别恶性肿瘤患者外周血中的 CTC。

目前, 大多数研究者通过免疫组化和 RT-PCR 检测 CTC, 国外学者利用 Real-time PCR 研究了胰腺癌和非小细胞肺癌患者外周血 CTC 中某些基因 mRNA

的表达水平<sup>[16-17]</sup>。多种标志物联合应用相比单个标志物而言, 更易于检测出隐匿性肿瘤细胞。由于 *MAGE-As* 基因的高度同源性很难设计针对单个 *MAGE-As* 基因序列的引物。本研究利用多重巢式 PCR 和酶切的方法检测了 153 例食管癌患者和 30 例健康人外周血中 *MAGE-As* mRNA 及单个基因亚型 (*MAGE-A1*、*-A2*、*-A3*、*-A4* 和 *-A6*) 的表达情况, 并分析了其表达与临床病理参数及预后的关系。尽管多种肿瘤组织表达 *MAGE-As* 基因, 目前尚无研究表明 *MAGE-As* 基因可作为检测 CTC 的标志物。

本研究在 19.61% 食管癌患者外周血中检出 *MAGE-As* mRNA 的表达, 家族各成员 (*MAGE-A1*、*-A2*、*-A3*、*-A4* 和 *-A6*) 在食管癌患者外周血中的阳性表达率分别为 10.46%、16.46%、9.80%、11.11% 和 18.30%。统计分析结果显示, *MAGE-As* 基因在外周血的表达与食管癌患者的临床分期、淋巴结转移和远处转移呈正相关, 单个基因型均与临床分期、淋巴结转移和远处转移呈正相关, 由于临床分期, 淋巴结转移和远处转移情况与患者预后关系密切, 由此推测 *MAGE-As* 基因及其单个基因型可以预测患者的不良预后。Kaplan-Meier 曲线分析表明, *MAGE-As* mRNA 表达阳性食管癌患者的 5 年生存率显著短于 *MAGE-As* 表达阴性的患者。多因素分析进一步分析提示 *MAGE-As* 基因表达、淋巴结转移和远处转移可

作为患者生存的独立危险因素。这与 *MAGE-As* 在胃癌和肺癌中的最新研究结果一致<sup>[18-19]</sup>。

表4 影响食管癌患者5年生存率预后因素的单因素及多因素分析  
Tab.4 Univariate and multivariate analyses of prognostic factors for 5-year OS of EC patients

Variable	Univariate analysis			Multivariate analysis		
	HR	P	95% CI	HR	P	95% CI
<i>MAGE-As</i>						
High vs Low	2.513	<0.01	1.575-4.010	5.267	<0.01	2.159-12.848
Gender						
Male vs Female	1.346	0.119	0.926-1.955			
Age(t/a)						
<60 vs ≥60	1.377	0.085	0.956-1.982			
Smoking history						
Yes vs No	1.158	0.431	0.804-1.669			
Drinking history						
Yes vs No	1.086	0.656	0.756-1.560			
Pathological type						
Adenoid vs squamous vs others	1.842	0.297	0.584-5.811			
Tumor size(V/cm <sup>3</sup> )						
≤5 vs >5	1.301	0.157	0.904-1.872			
Histological grade						
I vs II vs III	1.064	0.638	0.821-1.375			
Clinical stage						
I and II vs III and IV	1.983	<0.01	1.361-2.888			
Metastatic of lymph node						
Yes vs No	4.658	<0.01	2.978-7.286	12.877	<0.01	5.063-32.752
Distant metastases						
Yes vs No	5.731	<0.01	3.766-8.720	4.139	<0.01	2.569-6.669

由于 *MAGE-As* 是肿瘤相关基因, 仅在肿瘤组织中高表达, 因此仅当肿瘤细胞进入肿瘤患者外周血中, *MAGE-As* 基因才可被检测, 由此推测 *MAGE-As* 基因可能成为食管癌患者外周血中的相关标志物, 可通过检测外周血中 *MAGE-As* 基因的表达, 预测食管癌的发生发展及预后。由于 *MAGE-As* 的检出率均高于单个 *MAGE-As* 基因型, *MAGE-As* 相比其单个家族成员基因更能准确的预测食管癌患者的预后。

[参考文献]

[1] SPECHLER S J. Barrett esophagus and risk of esophageal cancer: a clinical review[J]. JAMA, 2013, 310(6): 627-636. DOI: 10.1001/jama.2013.226450.  
 [2] SIEGEL R, MILLER K D, JEMAL A. Cancer statistics, 2017[J]. CA Cancer J Clin, 2017, 67(1):7-30. DOI: 10.3322/caac.21387.  
 [3] ZHU H, HUO X, CHEN L, et al. Clinical experience with radio-, chemo- and hyperthermotherapy combined trimodality on locally advanced esophageal cancer[J]. Mol Clin Oncol, 2013, 1(6): 1009-1012. DOI: 10.3892/mco.2013.161.  
 [4] JEMAL A, CENTER M M, DESANTIS C, et al. Global patterns of cancer incidence and mortality rates and trends[J]. Cancer Epidemi-

ol Biomarkers Prev, 2010, 19(8):1893-1907. DOI: 10.1158/1055-9965.EPI-10-0437.  
 [5] MA J, GUO X, ZHANG S, et al. Trichostatin A, a histone deacetylase inhibitor, suppresses proliferation and promotes apoptosis of esophageal squamous cell lines[J]. Mol Med Rep, 2015, 11(6): 4525-4531. DOI: 10.3892/mmr.2015.3268.  
 [6] 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.  
 [7] 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.  
 [8] 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]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2015, 22(5): 630-636. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X. 2015. 05.014.  
 [9] 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.  
 [10] 谷丽娜, 桑梅香, 尹丹静, 等. 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[J]. 中国肿瘤生物治疗杂

- 志, 2017, 24(6): 632-639. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2017.06.010.
- [11] SANG M X, WU X H, FAN X J, et al. Multiple MAGE-A genes as surveillance marker for the detection of circulating tumor cells in patients with ovarian cancer[J]. *Biomarkers*, 2014, 19(1): 34-42. DOI: 10.3109/1354750X.2013.865275.
- [12] KIM M Y, OSKARSSON T, ACHARYYA S, et al. Tumor self-seeding by circulating cancer cells[J]. *Cell*, 2009, 139(7): 1315-1326. DOI: 10.1016/j.cell.2009.11.025.
- [13] VALASTYAN S, WEINBERG R A. Tumor metastasis: molecular insights and evolving paradigms[J]. *Cell*, 2011, 147(2): 275-292. DOI: 10.1016/j.cell.2011.09.024.
- [14] BALIC M, LIN H, WILLIAMS A, et al. Progress in circulating tumor cell capture and analysis: implications for cancer management [J]. *Expert Rev Mol Diagn*, 2012, 12(3): 303-312. DOI: 10.1586/erm.12.12.
- [15] VAN DE STOLPE A, PANTEL K, SLEIJFER S, et al. Circulating tumor cell isolation and diagnostics: toward routine clinical use[J]. *Cancer Res*, 2011, 71(18): 5955-5960. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-11-1254.
- [16] LIN M, ALNAGGAR M, LIANG S Z, et al. Using circulating tumor cells to evaluate the efficacy of irreversible electroporation for unresectable pancreatic cancer[J]. *Immunol Res*, 2017, 66(1): 172-178. DOI: 10.1007/s12026-017-8959-2.
- [17] LIN M, LIANG S Z, SHI J, et al. Circulating tumor cell as a biomarker for evaluating allogenic NK cell immunotherapy on stage IV non-small cell lung cancer[J]. *Immunol Lett*, 2017, 191: 10-15. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0165247817303231?via%3Dihub>. DOI: 10.1016/j.imlet.2017.09.004.
- [18] LIAN Y, SANG M, GU L, et al. MAGE-A family is involved in gastric cancer progression and indicates poor prognosis of gastric cancer patients[J]. *Pathol Res Pract*, 2017, 213(8): 943-948. DOI: 10.1016/j.prp.2017.05.007.
- [19] SANG M, GU L, YIN D, et al. MAGE-A family expression is correlated with poor survival of patients with lung adenocarcinoma: a retrospective clinical study based on tissue microarray[J]. *J Clin Pathol*, 2017, 70(6): 533-540. DOI: 10.1136/jclinpath-2016-203718.

[收稿日期] 2018-03-24

[修回日期] 2018-05-19

[本文编辑] 黄静怡