

2007,27(6):988.

用护理杂志,1998,14(5):262-263.

- 2 王 玲,宋军平,王丽杰,等.老年人急性胰腺炎临床分析[J]. 职业与健康,2007,23(16):1459-1460.
- 3 芮红霞,高天颢,付 华.急性重症胰腺炎的营养支持护理[J]. 实

[收稿日期 2008-11-10][本文编辑 宋卓孙 黄晓红]

新进展综述

MAGE-A1 的研究进展

李小琳(综述), 廖 红(审校)

基金项目:广西科技厅基金课题(桂科基 0575059)

作者单位:530021 南宁,广西医科大学组织胚胎学教研室

作者简介:李小琳(1978-),女,主治医师,在读硕士研究生,研究方向:肿瘤分子生物学。E-mail:397784702@qq.com

[摘要] MAGE-A1 是一种肿瘤特异性抗原,很多研究表明它可以作为肿瘤免疫治疗的靶抗原。本文综述 MAGE-A1 在多种肿瘤中的表达及在肿瘤免疫治疗方面的应用前景

[关键词] 肿瘤; MAGE-A1; 免疫治疗

[中图分类号] Q 753 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1674-3806(2009)08-0876-04

doi:10.3969/j.issn.1674-3806.2009.08.41

Research progress on MAGE-A1 LI Xiao-lin, LIAO Hong. Department of Histology and Embryology, Guangxi Medical University, Nanning 530021, China

[Abstract] Mage-A1 is a kind of tumor specific antigen. Many studies indicate that it can be a target antigen for tumor immunotherapy. This article summarizes the expression of Mage-A1 in tumors and its promising clinical practice in the tumor immunotherapy.

[Key words] Tumor; MAGE-A1; Immunotherapy

MAGE-A1(黑色素瘤抗原,Melanoma Antigen)是癌-睾丸抗原(Carcinoma Testis Antigen,CTA)中黑色素瘤抗原(Melanoma Antigen,MAGE)家族中的一员,具有在多种肿瘤组织中表达,在正常组织中除睾丸外几乎不表达的特性。因此,它被称为肿瘤特异性抗原。由于这种特性的存在,应用 MAGE-A1 抗原作为肿瘤的免疫检测、诊断、治疗成为研究的热点。现就 MAGE-A1 的研究进展作以下综述。

1 MAGE-A1 基因

1991 年, van der Bruggen^[1] 使用基因转染技术发现了黑色素瘤细胞系上的 MAGE-A1 基因,该基因长约 45 kb,有 3 个外显子,开放阅读框(open-reading frame,ORF)位于第 3 号外显子上,其转录的 mRNA 全长 1 722 bp,编码一段长约 309~319 个氨基酸残基的蛋白 MZ2-E,即 MAGE-A1 蛋白,它不含信号肽序列,有一个潜在的跨膜区,因为该区域很小,可能只有与其它蛋白质的跨膜区一起才有作用。MAGE-A1 蛋白与其它 MAGE-A 蛋白有 57%~77% 的同源性。该表达产物是一种肿瘤排斥抗原(Tumor Rejection Antigen,TRA),即肿

瘤特异性抗原(Tumor Specific Antigen,TSA),是肿瘤细胞特有的或只存在于某种肿瘤细胞而不存在于正常细胞的抗原。目前有关 MAGE-A1 基因表达的调控主要有两种观点:第一种观点认为,MAGE-A1 基因的表达受甲基化的调控,即启动子中 CpG 岛(在 2% 的 DNA 中,约每 10 bp 出现一个 CpG 双核苷酸,它们呈低甲基化状态,这部分 DNA 以约 1 kb 片断散布于基因的启动子区域和第一个外显子^[2],又称 CpG 岛)的甲基化作用决定了基因的沉默即基因的不表达,其主要通过影响染色质结构以及阻止转录因子与 DNA 的结合而实现基因沉默^[3]。迄今为止,所有 CT-X(基因位于 X 染色体上的癌-睾丸抗原)基因的启动子的 CpG 岛在体细胞中都是甲基化的,而在精子形成时是去甲基化的。肿瘤细胞中甲基化程度的普遍降低导致了一些由于甲基化沉默的基因的重新表达,但只是低甲基化似乎还不能完全解释 CT 抗原的表达,因为在结肠癌中 DNA 甲基化程度普遍很低,却很少发现癌-睾丸抗原的表达。第二种观点认为,MAGE-A1 基因的表达与组蛋白的乙酰基化作用有关。组蛋白乙酰化指在组蛋白乙酰转移酶的作用下,使核心组蛋白 N 一端区上特定的赖氨

酸残基发生乙酰化反应。组蛋白乙酰化可以从以下两方面促进基因转录^[4]:(1)转录活化因子如 GCN5 能识别氨基末端乙酰化的核心组蛋白,使染色质松弛,核小体 DNA 暴露,利于转录因子结合;(2)组蛋白乙酰化可干扰组蛋白氨基末端与抑制因子(如 ISWI ATP 酶)之间的相互作用。Wischniewski 等^[5]对 MAGEA 蛋白在肿瘤中表达的研究发现,组蛋白脱乙酰酶抑制剂曲古抑菌素 A (trichostatin A) 可以显著增强 5-aza-CdR 诱导的 MAGE 基因的表达。

2 MAGE-A1 抗原

由 MAGE-A1 基因编码的产物为 MAGE-A1 抗原,呈单链的多肽,包含 309 个氨基酸残基:Msleqrslhekpealeaqealglvcvqaaassssplvltleevptagstddppqspqgasafptinfrqrqpsessreecgpstscileslfravittkvadlvaflllkyrarepvtkaemlesviknykhefpeifgkaseslqlvfgidvkeadptghsyvlvtelglsydgllgdnqimpktgllivlmiamegghapceeiweelsvmevydgrehsaygeprklltqdlvqekyleyrqvpdsdparyeflwgprralaetsykvlevyvikvsarvffpslreaalreeeev。该抗原具有在多数肿瘤组织中表达,而在正常组织除睾丸以外几乎不表达的特点,且具有人白细胞抗原 (Human Leukocyte Antigen, HLA)-I 类分子限制性细胞毒性 T 淋巴细胞 (Cytotoxic T Lymphocytes, CTL) 识别表位。目前,已发现 8 个由 MAGE-A1 基因编码的 HLA-I 类分子限制的 CTL 表位。因此应用该抗原作为肿瘤的免疫治疗具有广阔的应用前景。

3 MAGE-A1 基因水平和蛋白水平的表达差异

由于目前仅少数 CT 抗原具有相应的单克隆抗体,所以蛋白质水平表达的研究远少于基因水平的研究。蛋白质是生物学功能的执行者,在某种程度上而言,蛋白质水平的研究比基因水平的研究更具有生物学意义。表 1 列出了部分常见肿瘤中 MAGE-A1 在基因水平和蛋白水平的表达情况。

表 1 MAGE-A1 基因水平和蛋白水平在不同肿瘤中的表达情况

肿瘤类型	mRNA	抗原
	基因水平%	蛋白水平%
头颈部鳞癌	33.0	-
食管癌	>30.0	50.0 或 15.2
胃癌	41.0	-
肝癌	58.9 - 71.1	53.37
大肠癌	30.0	-
肺癌	20.9 或 35.0 不等	-
膀胱癌	21.2	-
卵巢癌	20.0	-
多形胶质母细胞瘤	39.5	38.0
神经母细胞瘤	66.0	85.7
视网膜母细胞瘤	-	33.33
骨肉瘤	62.5	-

注: - 尚无文献报道

上表中所列的研究结果表明, MAGE-A1 的基因水平与蛋白水平存在表达不平行现象。有学者对这些现象发生的机制进行了研究,以便更好地为 MAGE-A1 应用于肿瘤的免疫治疗提供依据。

3.1 关于基因有表达而蛋白无表达 考虑可能有以下原因所致:(1)蛋白翻译通路障碍,即 RNA 不能翻译成蛋白质;(2)PCR 方法远较免疫组化方法敏感,或者该蛋白表达量太低不足以检出;(3)抗原在肿瘤细胞中的位置不恒定,导致免疫组化显色困难而误认为无表达。

3.2 关于基因表达率低而蛋白表达明显 考虑可能有以下原因所致:(1)基因甲基脱落,诱发表达过度;(2)被检肿瘤组织的发展时期影响蛋白的检出,Alan 等研究发现 MAGE 基因水平的表达见于癌症发生的早期,而蛋白水平表达多见于中、晚期。

3.3 关于同一种肿瘤表达的差异 2007 年李秋泽等^[6]取肺癌组织标本 30 例,另取癌周组织作为对照,采用 RT-PCR 方法,检测 MAGE-A1 mRNA 在肺腺癌和肺鳞癌的表达,结果分别为 (3.89 ± 0.12)% 和 (2.97 ± 0.24)%, 即 MAGE-A1 mRNA 的表达率肺腺癌 > 肺鳞癌。Haier J 等^[7]使用 57B 单克隆抗体通过免疫组化检测 98 例食管鳞状细胞癌和腺癌患者,总共有 38 例 MAGE-A1 蛋白表达阳性,其中 66 例鳞状细胞癌患者中 33 例阳性 (50.0%), 32 例腺癌患者中 5 例阳性 (15.2%)。因国内外有较多研究已经证实了 MAGE 的表达与肿瘤患者的年龄、性别、肿瘤的 TNM 分期、肿瘤的直径、有无完整包膜、有无门静脉癌栓、生存期等均无关。因此,考虑这种差异主要与癌症患者肿瘤的不同病理类型、不同分化程度相关。但目前对这方面的研究相对较少。值得指出的是, Liu 等^[8]检测了原代培养的多形胶质母细胞瘤细胞和多形胶质母细胞瘤细胞株,发现 MAGE-A1 蛋白的表达率为 38.0%, 与 mRNA 表达水平 (39.5%) 基本相同。

3.4 在不同种肿瘤中表达的差异 考虑可能原因为:(1)不同肿瘤的病例类型不同;(2)不同肿瘤的进展阶段不同;(3)应用 PCR 或免疫组织化学检测的条件不完全相同;(4)不同的人种表达的 HLA 分子类型不尽相同;(5)抽样所造成的差异。

4 MAGE-A1 在多系统肿瘤中的表达

4.1 在消化系统肿瘤中, MAGE-A1 都呈中等以上表达, 且在其非癌组织中不表达, 这使 MAGE-A1 抗原用于大部分消化系统肿瘤的免疫治疗成为可能。如在肝细胞癌中, MAGE-A1 呈高比例表达, 均 > 50.0%。肖刚等^[9]应用组织芯片和免疫组化技术检测 178 例 HCC 组织及相应癌旁组织中的 MAGE-A1 抗原, 结果发现, 癌旁组织 MAGE-A1 抗原均不表达。Yu Qing Zhang 等^[10]收集了 86 例有肝细胞肝癌患者的外周血标本, 用实时 - 定量 - 聚合酶链反应 (real-time quantitative-PCR) 检测到 MAGE-A1 基因表达率为 34.9% (30/86), 提示 MAGE-A1 抗原诱导肿瘤患者体液免疫治疗成为可能。有研究表明, 在食管癌, MAGE-A1 基因的表达率均 > 30.0%, 呈中等表达。2006 年日本新圩大学医学研究所 Ak-

cakanat A 等^[11]用免疫组化的方法检测到食管癌病人 MAGE-A1 蛋白的表达与疾病的发展、分期及生存期无关。Inoue 等对 68 例胃癌组织和癌旁组织 MAGE 基因表达进行了研究,结果表明 MAGE-A1 基因在 68 例胃癌组织中阳性检出率为 41.0%,而在癌旁组织中未检测到 MAGE-A1 基因的表达。张颖等^[12]发现 MAGE-A1 基因表达与肿瘤分期、肿瘤浸润深度、局部淋巴结转移显著相关,与组织学分型、肿瘤大小无关。由此可见,MAGE-A1 在消化系统肿瘤中均有中等以上相对特异性的表达,可以作为肿瘤免疫治疗的靶抗原;其表达与肿瘤分期、肿瘤浸润深度、局部淋巴结转移显著相关,提示 MAGE-A1 可以作为肿瘤治疗效果、是否复发的检测指标。

4.2 在呼吸系统肿瘤中,肺癌 MAGE-A1 基因水平的研究较多,其表达率报道不一,多在 20.9%~35.0%之间。在造血系统肿瘤,Sudo T 等^[13]检测了 21 例骨肉瘤细胞株和 8 例癌组织 MAGE-A1 基因表达情况,发现细胞株的阳性率为 52.4%(11/21),癌组织的阳性率为 62.5%(5/8)。在泌尿系统肿瘤,2005 年,闫宏亮等^[14]报道 33 例膀胱癌标本中 MAGE-A1 基因的表达频率为 21.2%;Kufer P 等^[15]的研究发现,前列腺癌发生远处转移的危险因素(如肿块的大小 \geq T3、低分化、血清前列腺特异性抗原 $>$ 20 ng/ml)与 MAGE-A 基因的表达率有关联,即可通过 MAGE-A 基因的表达来预测前列腺癌患者的预后。在生殖系统肿瘤中,MAGE-A1 基因在卵巢癌^[16,17]也有较高的表达,为 20.0%。这些都仅限于基因水平。在这些系统中,其余肿瘤的研究报道也较少;并且,在这些系统中,MAGE-A1 的表达相对消化系统普遍呈低度表达。

4.3 在神经系统肿瘤中,Bodey B^[18]在研究中发现,MAGE-A1 细胞肿瘤抗原表达水平可应用于评估低级别星形细胞瘤的恶性程度及分化倾向,并且可预测其基因突变的可能性及向间变型星形细胞瘤(Ⅱ级)和多形性胶质母细胞瘤(Ⅳ级)恶性分化的趋势。因此,MAGE-A1 应用于多系统肿瘤的免疫检测、诊断、治疗,有待于对 MAGE-A1 蛋白水平的进一步研究,也可能通过 MAGE-A1 的去甲基化和组蛋白的乙酰化两条途径增强 MAGE-A1 的表达来提高 MAGE-A1 对肿瘤免疫检测、诊断、治疗的效能。

5 MAGE-A1 对肿瘤免疫治疗的临床应用

5.1 癌-睾丸抗原诱导的抗肿瘤反应主要通过细胞免疫途径:即通过肿瘤细胞表面 HLA-I 类分子提呈肿瘤抗原肽诱导 CTL 介导的免疫应答和通过抗原提呈细胞(Antigen-presenting cell,APC)表面的 HLA-II 类分子提呈抗原肽诱导辅助性 T 细胞介导的免疫应答。MAGE-A1 是用 T 细胞毒方法鉴定的第一个人类肿瘤抗原^[19]。免疫学研究发现,MAGE-A1 基因具有以下特点:(1)MAGE-A1 编码的蛋白具有与特定的组织相容性复合物(MHC)结合的结构;(2)MAGE-A1 编码蛋白与 MHC 分子结合的复合物可被特异性细胞毒性 T 淋巴细胞(CTL)识别;(3)MAGE-A1 编码蛋白与 MHC 分子结合的复合物在细胞表面达到一定水平,足以激活这一反应。

5.2 迄今为止,人们已找到了 5 条以 MAGE 基因/抗原为基础的肿瘤免疫治疗途径,MAGE-A1 已经用于其中多种免疫治疗途径并在临床取得了较好的治疗效果。(1)抗原呈递细胞途径:即用 MAGE 抗原肽孵育自体抗原呈递细胞,再将其制成疫苗接种到表达 MAGE 蛋白及相应 HLA-I 类分子的肿瘤细胞内,诱导特异性 CTL 应答,这一免疫效应能被白细胞介素(Interleukin,IL)-2 增强。(2)黑色素瘤细胞接种途径:即将表达 MAGE 蛋白的黑色瘤细胞制成疫苗接种肿瘤患者,Reynolds 等将表达 MAGE-A3 蛋白和 MelanA/MART.1 的黑色瘤细胞制成多价疫苗,将其注射到 15 例已切除黑色素瘤的 HLA-A2 阳性患者皮内,发现 9 例对该疫苗产生应答者至少有 12 个月的无病生存期,而 6 例未发生免疫应答者则在 3~5 个月内出现复发。(3)基因转染途径:这已在小鼠体内获得成功,Van pel 等将载有人鼠同源 MAGE 基因的腺病毒转染小鼠,在小鼠体内发现了明显的 CTL 应答;Tuting 等^[20]在这一方面也进行了尝试,他利用基因枪将 MAGE-A1 和 MAGE-A3 的基因转染人树突状细胞(Dendritic cell,DC)发现转染了 MAGE-A1 或 MAGE-A3 基因的 DC 能更有效地诱导产生特异性的 CTL,所诱导的 CTL 能溶破表达相应抗原的肿瘤细胞;将 IL-12 或肿瘤坏死因子(Tumor Necrosis Factor,IFN)- α 的基因与 MAGE-A1 或 MAGE-A3 基因一起转染人 DC,与单用 MAGE-A1 或 MAGE-A3 基因相比,进一步增强了疫苗激活 CTL 的能力,产生了更强的 CTL 应答。(4)树突状细胞接种途径:Andersen 等用 MAGE-A3 抗原肽孵育单核细胞来源的树突状细胞,再将其接种到Ⅳ期黑色素瘤患者体内,发现癌症停止进展,患者生存期延长。(5)抗原肽接种途径:即将 MAGE 抗原肽直接接种到肿瘤患者体内,人们已在黑色素瘤、非小细胞肺癌、头颈部鳞癌及膀胱癌等肿瘤患者身上进行了临床试验^[21]。1999 年 Boon 等^[22]在此领域取得了可喜的进展,他们用多肽 MAGE-A3 和 MAGE-A1 皮下免疫黑色素瘤病人,结果发现在接受免疫治疗的 25 人中,有 7 人的肿瘤显著缩小,其中有 3 人的完全消退,有 2 人的无瘤期达 2 年以上。虽然睾丸抗原-睾丸抗原,但由于睾丸不表达 HLA 分子,不能有效地进行抗原提呈,导致对癌-睾丸抗原诱导的免疫反应天然豁免,因此癌-睾丸抗原作为疫苗只对肿瘤进行特异性杀伤。

6 小结与展望

虽然 MAGE-A1 在对肿瘤的免疫治疗方面取得了一定的疗效,但是仍然不够理想,主要存在如下不足:MAGE-A1 在一种肿瘤中表达率有限,疫苗的有效率还不够;MAGE-A1 属于自体抗原,诱导 CTL 产生的能力不够。同时,很多研究表明 MAGE-A1 与其它 CTA 在同种肿瘤中有共表达。这就提示:找到增强 MAGE-A1 疫苗有效率的途径和制造多效价的疫苗能够使 MAGE-A1 的应用取得更进一步的发展。总之,随着各项检测技术的提高,新的检测方法的出现,MAGE-A1 的研究将进一步的深入,其在肿瘤的免疫治疗方面有着广阔的应用前景。

参考文献

- 1 Van der bruggen P, Traversari C, Chomez P, et al. A gene encoding antigen recognized by cytolytic T lymphocytes on a human melanoma [J]. *Science*, 1991, 254:1643 - 1647.
- 2 Worm J, Guldberg P. DNA methylation: an epigenetic path-way to cancer and a promising target for anticancer therapy [J]. *J Oral Pathol Med*, 2002, 3(8):443 - 447.
- 3 Baylin SB, Herman JG. DNA hypermethylation in tumorigenesis: epigenetics joins genetics[J]. *Trends Genet*, 2000, 16(4):168 - 174.
- 4 Chiurazzi P, Neri G. Reaction of silencing genes and transcriptional therapy[J]. *Cytogenet Genome Res*, Jan 2003, 100(1-4):56 - 64.
- 5 Wischniewski F, Pantel K, Schwarzenbach H. Promoter demethylation and histone acetylation mediate gene expression of MAGE-A1, -A2, -A3, and -A12 in human cancer cells[J]. *Mol Cancer Res*, 2006, 4(5):339 - 349. *Science*, 1991, 254:1643 - 1647.
- 6 李秋泽, 董子明, 赵国强, 等. 黑色素瘤抗原基因 MAGE-1、MAGE-3 和抑癌基因 p53 在肺癌中表达的研究[J]. *现代肿瘤医学*, 2007, 15(8):1106 - 1108.
- 7 Akcakanat A, Kanda T, Tanabe T. Heterogeneous expression of GAGE, NY-ESO-1, MAGE-A and SSX proteins in esophageal cancer: Implications for immunotherapy[J]. *Int J Cancer* Jan, 2006, 118(1):123 - 128.
- 8 Liu G, Ying H, Zeng G, et al. HER 22, gp100, and MAGE -1 are expressed in human glioblastoma and recognized by cytotoxic T cells [J]. *Cancer Res*, 2004, 64:4980 - 4986.
- 9 肖刚, 张文敏, 张萌, 等. 肝癌组织中 MAGE-A1 表达及其临床意义[J]. *临床与实验病理学杂志*, 2005, 20(3):332.
- 10 Zhang Yuqing, Li Qiang, Liu Ning, et al. Detection of MAGE-1, MAGE-3 and AFP mRNAs as multimarker by a real-time quantitative PCR Assay: a possible predictor of hematogenous micrometastasis of hepatocellular carcinoma [J]. *Chin J Clin Oncol*, 2008, 55(88):2200 - 2206.
- 11 Akcakanat A. MAGE-A1, GAGE and NY-ESO-1 cancer/testis antigen expression during human gonadal development [J]. *Hum Reprod*, 2007, 17:2089 - 2094.
- 12 张颖, 陈世耀. 黑色素瘤抗原基因的检测及其在胃癌中的表达[J]. *中国临床医学*, 2005, 12(1):62 - 65.
- 13 Sudo T, Kuramoto T, Komiya S, et al. Expression of MAGE genes in osteosarcoma [J]. *Orthop Res*, 1997, 15:128 - 132.
- 14 Kufer P, Zippelius A, Lutterbuse R, et al. Heterogeneous expression of MAGE-A 1 genes in occult disseminated tumor cells: a novel tumour marker reverse transcription-polymerase chain reaction for diagnosis of micrometastatic disease [J]. *Cancer Res*, 2002, 62(1):251 - 261.
- 15 Yamada A, Kataoka A, Shichino S, et al. Expression of MAGE-1, MAGE-2, MAGE-3/6 and MAGE-4a/4b genes in ovarian tumor [J]. *Int J Cancer*, 1995, 64:388 - 393.
- 16 Busso V, Dalerba P, Ricci A, et al. MAGE, BAGE and GAGE genes expression in fresh epithelial ovarian carcinomas [J]. *Int J Cancer*, 1996, 67:457 - 460.
- 17 Bodey B, Siegel S E, Kaiser H E. MAGE-1, a cancer/testis-antigen, expression in childhood astrocytomas as an indicator of tumor progression [J]. *In Vivo*, 2002, 16(6):583 - 588.
- 18 闫宏亮, 王禾, 李欣, 等. 膀胱癌肿瘤/睾丸抗原相关基因的表达. [J] *第四军医大学学报*, 2005, 26(11):1062 - 03.
- 19 Van der Bruggen P, Traversari C, Chomez P, et al. A gene encoding an antigen recognized by cytolytic T lymphocytes on human melanoma. [J]. *Science*, 1991, 254:1643 - 1647.
- 20 Tuting T, Wilson CC, Martin DM, et al. Autologous human monocyte-derived dendritic cells genetically modified to express melanoma antigens elicit primary cytotoxic T cell responses in vitro: enhancement by cotransfection of genes encoding the TH1-biasing cytokines IL-12 and IFN-alpha [J]. *J Immunol*, 1998, 160(3):1139 - 1147.
- 21 Wang RF, Zeng G, Samuel FJ, et al. T cell-mediated immune responses in melanoma: implications for immunotherapy [J]. *Crit Rev Oncol Hematol*, 2002, 43:1 - 11.
- 22 Marchand M, van Baren N, Boon T, et al. Tumor regressions observed in patients with metastatic melanoma treated with an antigenic peptide encoded by gene MAGE-3 and presented by HLA-A1 [J]. *Int J Cancer*, 1999, 80(2):219 - 230.

[收稿日期 2009-04-23][本文编辑 韦挥德 黄晓红]

新进展综述

胱抑素 C 与动脉粥样硬化的研究进展

陈湘桂(综述), 林英忠(审校)

作者单位:535000 钦州, 钦州市第二人民医院心血管内科

作者简介:陈湘桂(1957-), 男, 大学本科, 副主任医师, 研究方向:冠心病、高血压。E-mail:xiangui1956@163.com

[摘要] 胱抑素 C 是一种小分子量分泌性蛋白质, 一直是评估肾小球滤过率的标示物。近年来的研究证实胱抑素 C 是半胱氨酸蛋白酶抑制剂, 参与了动脉粥样硬化形成的病理生理过程且与冠心病密切相关。