

- [14] Goenka MK, Goenka U, Mujoo MY, et al. Pancreatic necrosectomy through sinus tract endoscopy[J]. Clin Endosc, 2018,51(3):279-284.
- [15] 李 峰,刘 晗,徐建威,等.单孔腹腔镜腹膜后清创术在感染坏死性胰腺炎治疗中的应用[J].中华肝胆外科杂志,2020,26(4):281-285.
- [16] 段 宁,高崇崇,王 喆,等.视频辅助腹膜后入路清创治疗胰腺感染性坏死[J].中华普通外科杂志,2018,33(9):716-720.
- [17] 冯 斌,唐才喜,徐 涛,等.经皮肾镜及胆道镜双镜联合及置管持续灌洗引流治疗胰周脓肿的体会[J].肝胆胰外科杂志,2017,29(3):244-246.
- [18] 柴振中,冯文明,黄三雄,等.胆道镜联合肾镜辅助经皮窦道清除重症急性胰腺炎胰周坏死组织[J].肝胆胰外科杂志,2020,32(1):48-52.
- [收稿日期 2020-08-19][本文编辑 韦所苏 韦 颖]
- 本文引用格式**  
蒋汉城,蒋水明,周 敏,等.经皮胆道镜在重症急性胰腺炎继发胰周感染性坏死清除术中的应用价值[J].中国临床新医学,2021,14(6):590-594.

博硕论坛·论著

## 肿瘤相关抗原 MAGE-D4 在肝细胞癌中的表达及其意义

罗 鑫, 沈 宁, 刘 畅, 张 沅, 林丽娜, 李 枫, 李冰滢, 肖绍文, 陈 芳, 张庆梅

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(编号:81560408); 广西自然科学基金资助项目(编号:2018GXNSFAA050058); 广西区域性高发肿瘤早期防治研究教育部重点实验室和广西重点实验室自主研究课题(编号:GEK2019-08)

作者单位: 530021 南宁,广西医科大学组织学与胚胎学教研室(罗 鑫,张 沅,林丽娜,李 枫,李冰滢,陈 芳,张庆梅); 530021 南宁,广西壮族自治区人民医院口腔颌面外科(沈 宁); 530021 南宁,广西医科大学第一附属医院神经外科(刘 畅,肖绍文)

作者简介: 罗 鑫(1996-),男,在读硕士研究生,研究方向:肿瘤免疫和肿瘤分子生物学。E-mail:295268654@qq.com

通讯作者: 张庆梅(1975-),女,医学博士,副教授,硕士研究生导师,研究方向:肿瘤免疫和肿瘤分子生物学。E-mail:zhangqingmei2017@outlook.com

**【摘要】 目的** 探讨肿瘤相关抗原 MAGE-D4 在肝细胞癌(HCC)中的表达情况,并分析其临床意义。**方法** 基于癌症基因组图谱(TCGA)数据库,获取 371 例 HCC 组织和 50 例正常肝组织的转录数据。应用数据挖掘工具 UALCAN 分析 HCC 组织中 MAGE-D4 mRNA 的表达情况,并筛选与其表达相关的基因。应用 Kaplan-Meier Plotter 分析 MAGE-D4 mRNA 表达水平与患者生存预后的关系。另收集于广西医科大学第一附属医院 2009 年 6 月至 2011 年 8 月经手术获取的 HCC 标本 70 例,癌旁组织标本 30 例,采用免疫组织化学法(IHC)检测 MAGE-D4 蛋白的表达情况,并分析其与患者临床指标的关联性。**结果** 基于 TCGA 数据库数据的分析结果显示,MAGE-D4 mRNA 在 HCC 组织中的表达水平显著高于正常肝组织( $P < 0.05$ ),且与甲胎蛋白(AFP) mRNA 表达呈正相关( $r = 0.556, P = 0.000$ )。生存分析结果显示,MAGE-D4 mRNA 高表达与黄种人 HCC 患者不良生存预后具有显著关联( $HR = 1.860, P = 0.037$ )。基于临床获取标本的分析结果显示,MAGE-D4 蛋白主要定位于细胞质和细胞核,HCC 组织的 MAGE-D4 高表达率显著大于癌旁组织(48.57% vs 23.33%;  $\chi^2 = 5.530, P = 0.019$ )。MAGE-D4 高表达组 HCC 患者血清 AFP 浓度  $\geq 400 \mu\text{g/L}$  的人数比例显著大于低表达组( $P < 0.05$ ),但两组在性别、年龄、肿瘤级别、肿瘤分期、肿瘤直径、癌栓和乙型肝炎病毒(HBV)感染等方面比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。**结论** MAGE-D4 在 HCC 组织中高表达,其可能在 HCC 的发生和发展过程中发挥重要作用,有望成为 HCC 的潜在治疗靶点和预后标志物。

**【关键词】** 肝细胞癌; MAGE-D4; 癌症基因组图谱数据库; 临床特征; 预后

**【中图分类号】** R 735.7 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1674-3806(2021)06-0594-06

doi:10.3969/j.issn.1674-3806.2021.06.15

**Expression of tumor-associated antigen MAGE-D4 in hepatocellular carcinoma and its significance** LUO

Xin, SHEN Ning, LIU Chang, et al. Department of Histology and Embryology, Guangxi Medical University, Nanning 530021, China

**[Abstract]** **Objective** To explore the expression of tumor-associated antigen melanoma-associated antigen family member D4(MAGE-D4) in hepatocellular carcinoma(HCC) and to analyze its clinical significance. **Methods** Based on the cancer genome atlas(TCGA) database, the transcription data of 371 cases of HCC tissues and 50 cases of normal liver tissues were obtained. The data mining tool UALCAN was used to analyze the expression of MAGE-D4 mRNA in HCC tissues, and to screen the genes related to the MAGE-D4 mRNA expression. Kaplan-Meier Plotter was used to analyze the relationship between MAGE-D4 mRNA expression level and the patients' survival prognosis. In addition, 70 HCC specimens and 30 paracancerous tissue specimens were collected from the First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University during June 2009 and August 2011. The expression of MAGE-D4 protein was detected by immunohistochemistry(IHC), and the correlation between the expression of MAGE-D4 protein and the patients' clinical indicators was analyzed. **Results** The data analysis based on the TCGA database showed that the expression level of MAGE-D4 mRNA in the HCC tissues was significantly higher than that in the normal liver tissues ( $P < 0.05$ ), and was positively correlated with alpha fetoprotein(AFP) mRNA expression( $r = 0.556$ ,  $P = 0.000$ ). The results of survival analysis showed that the high expression of MAGE-D4 mRNA was significantly associated with the poor survival prognosis of yellow race HCC patients( $HR = 1.860$ ,  $P = 0.037$ ). The analysis results based on the clinical specimens showed that MAGE-D4 protein was mainly located in the cytoplasm and nucleus, and the high expression rate of MAGE-D4 in the HCC tissues was significantly higher than that in the adjacent tissues (48.57% vs 23.33%;  $\chi^2 = 5.530$ ,  $P = 0.019$ ). The proportion of HCC patients with serum AFP concentration  $\geq 400 \mu\text{g/L}$  in MAGE-D4 high expression group was significantly greater than that in low expression group( $P < 0.05$ ), but there was no statistically significant difference between the two group in gender, age, tumor grade, tumor stage, tumor diameter, tumor thrombus and hepatitis B virus(HBV) infection( $P > 0.05$ ). **Conclusion** MAGE-D4 is highly expressed in HCC tissues, which may play an important role in the occurrence and development of HCC, and is expected to become a potential therapeutic target and a prognostic marker for HCC.

**[Key words]** Hepatocellular carcinoma(HCC); Melanoma-associated antigen family member D4(MAGE-D4); The Cancer Genome Atlas(TCGA) database; Clinical feature; Prognosis

肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)占原发性肝癌的 70% ~ 90%<sup>[1]</sup>,具有恶性程度高、发病隐匿、侵袭性强、预后差和生存率低等特点<sup>[2]</sup>,急需探索新的 HCC 治疗方法。近年来,肿瘤免疫治疗因其较好的特异性和较小的副作用而备受关注<sup>[3]</sup>,但肿瘤免疫治疗需要筛选肿瘤特异性抗原。黑色素瘤相关抗原(melanoma-associated antigen, MAGE)是一个多基因的大家族,因其第一个成员首先在黑色素瘤中发现而得名,可分为 A、B、C、D、E、F 等亚家族,其许多成员在多种肿瘤类型中呈特异性高表达,被视为肿瘤免疫治疗的理想靶点<sup>[4]</sup>。MAGE-D4 是 2001 年 Sasaki 等<sup>[5]</sup>发现的一个 MAGE 家族成员,与其他许多成员一样,其基因定位于 X 染色体,具有 MAGE 家族共有的同源结构域(MAGE homology domain, MHD)。有研究报道 MAGE-D4 在胶质瘤、脑膜瘤、结直肠癌和口腔癌等多种恶性肿瘤中呈高表达<sup>[6-11]</sup>,而在正常组织中不表达或低表达<sup>[5,8]</sup>,提示 MAGE-D4 具有肿瘤特异性,具有进一步开发成肿瘤免疫治疗靶点的潜力。本研究应用在线数据库结合实验验证,分

析 HCC 中 MAGE-D4 mRNA 和蛋白质的表达水平及其与患者临床病理参数的关系,并探讨其表达水平与生存预后的关联性,初步评价 MAGE-D4 作为 HCC 潜在治疗靶点和预后标志物的潜在价值。

## 1 材料与方法

**1.1 数据获取及分析** 通过癌症基因组图谱(the Cancer Genome Atlas, TCGA)数据库(<https://cancergenome.nih.gov/>)获取 371 例 HCC 组织和 50 例正常肝组织的转录数据。应用数据挖掘工具 UALCAN(<http://ualcan.path.uab.edu/>)分析 HCC 组织中 MAGE-D4 mRNA 的表达, mRNA 表达水平以每千个碱基的转录每百万映射读取的抄本数(transcripts per kilobase of exon model per million mapped reads, TPM)表示。通过对 TCGA 数据库中的基因转录本数据进行预处理,以尽可能多地获取各种不同基因的 RNA 水平表达数据,最终获得共 56 953 个基因的 RNA 表达数据。应用 Pearson 相关性分析,从这些备选基因中筛选与 HCC 中 MAGE-D4 表达相关的基因<sup>[12]</sup>。应用 Kaplan-Meier Plotter(<http://kmplot.com/analysis/>)

分析 MAGE-D4 表达与 HCC 患者生存预后的关联性<sup>[13]</sup>,并绘制 Kaplan-Meier 生存曲线图。生存分析以 MAGE-D4 mRNA 表达水平的上三位数为分界值,将 HCC 患者分为低表达组和高表达组;另外按患者人种进行分层。

**1.2 组织标本和临床资料收集** 选择于广西医科大学第一附属医院 2009 年 6 月至 2011 年 8 月经手术获取的 HCC 标本 70 例,癌旁组织标本 30 例。HCC 患者中男 57 例,女 13 例;年龄 24 ~ 78 (48.5 ± 11.2) 岁。按 Edmondson 病理分级,1 级 10 例,2 级 40 例,3 级 16 例,4 级 2 例,另有 2 例分级不明确。按 TNM 分期,Ⅰ期 4 例,Ⅱ期 19 例,Ⅲ期 38 例,Ⅳ期 9 例。所有组织均经病理科专家确诊。同时,通过医院病历系统收集所有标本来源患者的肿瘤直径、血清甲胎蛋白 (alpha fetoprotein, AFP) 浓度、癌栓和乙型肝炎病毒 (hepatitis B virus, HBV) 感染等临床资料。以上组织标本和临床、病理资料的收集均获患者知情同意,并经广西医科大学伦理委员会批准 (编号:20130310-1)。

**1.3 免疫组织化学法 (immunohistochemistry, IHC) 染色与结果评判** 以 10% 中性福尔马林固定组织标本,经石蜡包埋制成切片后按常规方法进行 MAGE-D4 染色。免疫组化染色试剂盒购于北京中杉金桥生物技术有限公司, MAGE-D4 兔抗人多克隆抗体由本课题组制备<sup>[14]</sup>。采用已知 MAGE-D4 表达阳性的胶质瘤组织作为阳性对照,以免免疫前血清替代一抗作为阴性对照。染色结果以阳性细胞百分比和染色强度相加的方法进行综合评判<sup>[15]</sup>。阳性细胞百分比积分:0% ~ 5% 计 0 分,6% ~ 25% 计 1 分,26% ~ 50% 计 2 分,51% ~ 75% 计 3 分, > 75% 计 4 分。染色强度积分:无染色计 0 分,淡黄色计 1 分,棕黄色计 2 分,棕褐色计 3 分。将二者积分相加,0 ~ 1 分为阴性(-), 2 ~ 3 分为弱阳性(+), 4 ~ 5 分为阳性(++), 6 ~ 7 分为强阳性(+++)。其中(-)和(+)归为低表达组,而(++)和(+++)归为高表达组。

**1.4 统计学方法** 应用 SPSS17.0 统计软件进行数据分析,计量资料以均数 ± 标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示,组间比较采用成组 *t* 检验。计数资料以例数 (百分率) [*n* (%) ] 表示,组间比较采用  $\chi^2$  检验。等级资料的组间比较采用秩和检验。采用 Pearson 相关分析探讨 MAGE-D4 与其他基因表达的相关性。*P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 HCC 组织与正常肝组织的 MAGE-D4 mRNA 表

达水平比较 对来自 TCGA 数据库的数据进行比较分析,结果显示, HCC 组织 MAGE-D4 mRNA 的表达水平显著高于正常肝组织 (*P* < 0.001)。见图 1。

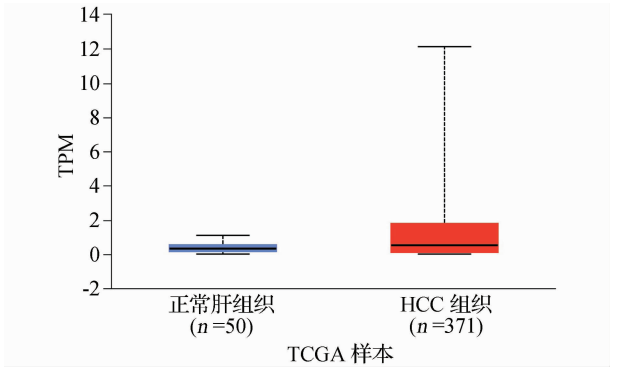


图 1 HCC 组织与正常肝组织的 MAGE-D4 mRNA 表达水平比较结果图

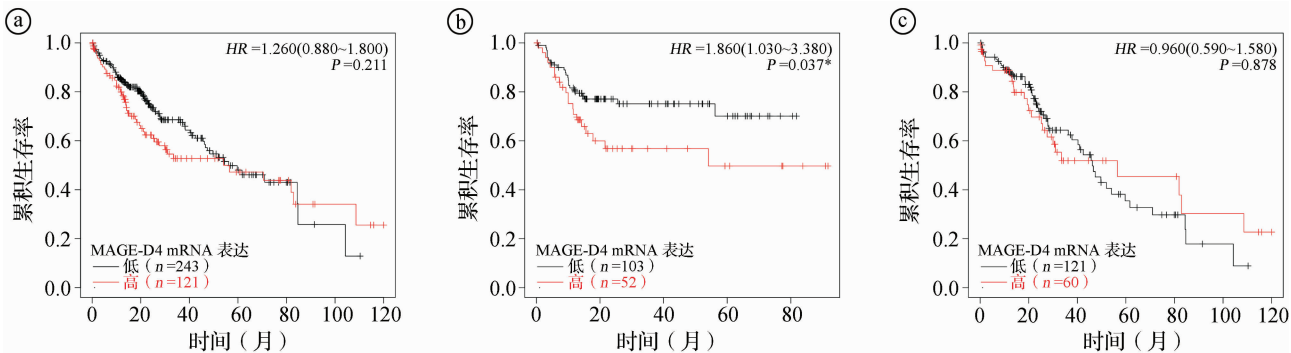
**2.2 HCC 组织中 MAGE-D4 mRNA 表达相关基因的筛选结果** 基于 TCGA 数据库数据,采用 Pearson 相关性分析探讨 HCC 组织中 MAGE-D4 mRNA 表达具有相关性的其他基因,结果显示 MAGE-D4 与 AFP 的相关性最高 (*r* = 0.556)。与 MAGE-D4 mRNA 表达呈正相关或负相关的前 10 个基因见表 1。

表 1 HCC 组织中 MAGE-D4 mRNA 表达相关基因的筛选结果

| 基 因       | 相关性 | <i>r</i> | <i>P</i> |
|-----------|-----|----------|----------|
| AFP       | 正相关 | 0.556    | 0.000    |
| CD7       | 正相关 | 0.524    | 0.000    |
| LOC400043 | 正相关 | 0.514    | 0.000    |
| PIGZ      | 正相关 | 0.494    | 0.000    |
| MAGED1    | 正相关 | 0.487    | 0.000    |
| ARID3A    | 正相关 | 0.472    | 0.000    |
| RPS7      | 正相关 | 0.466    | 0.000    |
| SOAT2     | 正相关 | 0.452    | 0.000    |
| RPLP0     | 正相关 | 0.447    | 0.000    |
| NPM3      | 正相关 | 0.440    | 0.000    |
| NFIA      | 负相关 | -0.344   | 0.000    |
| ITIH4     | 负相关 | -0.326   | 0.000    |
| MYO1B     | 负相关 | -0.322   | 0.000    |
| C1S       | 负相关 | -0.326   | 0.000    |
| GNE       | 负相关 | -0.323   | 0.000    |
| CTSO      | 负相关 | -0.318   | 0.000    |
| IVD       | 负相关 | -0.316   | 0.000    |
| NDUFAF1   | 负相关 | -0.375   | 0.000    |
| SERPING1  | 负相关 | -0.334   | 0.000    |
| HSD17B6   | 负相关 | -0.331   | 0.000    |

**2.3 MAGE-D4 mRNA 表达水平与患者生存预后的关联性分析结果** 黄种人患者,MAGE-D4 mRNA 低表达组的 5 年生存率为 69.8%,高表达组的 5 年生存率为 48.8%,低表达组的生存预后显著优于高表达组( $P<0.05$ )。白种人患者,MAGE-D4 mRNA 低表达组的 5 年生存率为 36.6%,高表达组的 5 年生存率为 45.2%,两组生存预后差异无统计学意义( $P>0.05$ )。

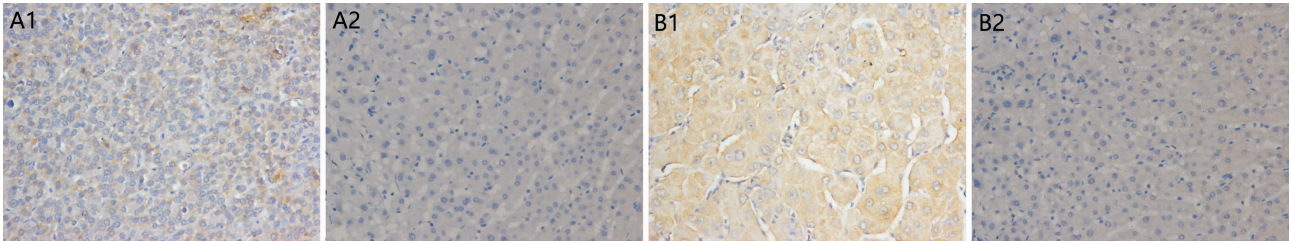
由于收集到黑种人 HCC 患者例数较少( $n=28$ )故未能单独进行生存分析。对全种族人群(黄种人、白种人和黑种人)HCC 患者进行生存分析,结果显示,MAGE-D4 mRNA 低表达组的 5 年生存率为 48.4%,高表达组的 5 年生存率为 47.3%,两组生存预后差异无统计学意义( $P>0.05$ )。见图 2。



①全种族人群( $n=364$ ); ②黄种人( $n=155$ ); ③白种人( $n=181$ )  
图 2 以 MAGE-D4 mRNA 表达水平为分组的不同种族患者的生存曲线图

**2.4 HCC 组织与癌旁组织 MAGE-D4 蛋白表达情况比较** MAGE-D4 蛋白主要定位于细胞质和细胞核,染色程度深浅不一,呈淡黄至棕褐色均质或颗粒状分布。在 70 例 HCC 组织中,有 34 例(48.57%)

为 MAGE-D4 高表达,36 例(51.43%)为低表达;在 30 例癌旁组织中,有 7 例(23.33%)为 MAGE-D4 高表达,23 例(76.67%)为低表达,两组高表达率比较差异有统计学意义( $\chi^2=5.530,P=0.019$ )。见图 3。



A1:HCC 组织,MAGE-D4(+);A2:癌旁组织,MAGE-D4(-); B1:HCC 组织,MAGE-D4(+++); B2:癌旁组织,MAGE-D4(-); A1 与 A2 为来源于同一患者的 HCC 组织和癌旁组织; B1 与 B2 为来源于同一患者的 HCC 组织和癌旁组织

图 3 MAGE-D4 蛋白在 HCC 组织和癌旁组织的表达情况(免疫组化染色,×200)

**2.5 MAGE-D4 蛋白表达水平与 HCC 患者临床病理参数的关联性分析结果** MAGE-D4 蛋白高表达组 34 例,低表达组 36 例。高表达组 HCC 患者血清 AFP 浓度 $\geq 400 \mu\text{g/L}$ 的人数比例显著大于低表达

组( $P<0.05$ ),但两组性别、年龄、肿瘤级别、肿瘤分期、肿瘤直径、癌栓和 HBV 感染情况比较差异无统计学意义( $P>0.05$ )。见表 2。

表 2 MAGE-D4 蛋白表达水平与 HCC 患者临床病理参数的关联性分析结果[ $(\bar{x}\pm s),n(\%)$ ]

| 组 别        | 例数 | 性别        |          | 年龄<br>(岁)   | 肿瘤级别*    |           |          |         | 肿瘤分期    |           |           |          |
|------------|----|-----------|----------|-------------|----------|-----------|----------|---------|---------|-----------|-----------|----------|
|            |    | 男         | 女        |             | 1 级      | 2 级       | 3 级      | 4 级     | I 期     | II 期      | III 期     | IV 期     |
| 低表达组       | 36 | 29(80.56) | 7(19.44) | 48.80±10.00 | 1(2.86)  | 25(71.43) | 7(20.00) | 2(5.71) | 3(8.33) | 7(19.45)  | 21(58.33) | 5(13.89) |
| 高表达组       | 34 | 28(82.35) | 6(17.65) | 48.10±12.50 | 9(27.28) | 15(45.45) | 9(27.27) | 0(0.00) | 1(2.95) | 12(35.29) | 17(50.00) | 4(11.76) |
| $\chi^2/H$ | -  | 0.037     |          | 0.234       | 1.459    |           |          |         | 0.650   |           |           |          |
| $P$        | -  | 0.847     |          | 0.816       | 0.145    |           |          |         | 0.516   |           |           |          |

续表 2

| 组 别        | 例数 | 肿瘤直径 <sup>#</sup>  |           | 血清 AFP 浓度 <sup>#</sup> |            | 癌栓 <sup>#</sup>    |           | HBV <sup>#</sup>   |            |
|------------|----|--------------------|-----------|------------------------|------------|--------------------|-----------|--------------------|------------|
|            |    | <5 cm              | ≥5 cm     | <400 μg/L              | ≥400 μg/L  | 阴性                 | 阳性        | 阴性                 | 阳性         |
| 低表达组       | 36 | 6 (40.00)          | 9 (60.00) | 16 (80.00)             | 4 (20.00)  | 10 (66.67)         | 5 (33.33) | 4 (26.67)          | 11 (73.33) |
| 高表达组       | 34 | 9 (64.29)          | 5 (35.71) | 10 (50.00)             | 10 (50.00) | 7 (46.67)          | 8 (53.33) | 3 (25.00)          | 9 (75.00)  |
| $\chi^2/H$ | -  | -                  |           | 3.956                  |            | -                  |           | -                  |            |
| <i>P</i>   | -  | 0.272 <sup>△</sup> |           | 0.047                  |            | 0.462 <sup>△</sup> |           | 1.000 <sup>△</sup> |            |

注：\* 分析肿瘤级别时,低表达组与高表达组各有 1 例肿瘤分级不明确,不纳入此次分析。<sup>#</sup>部分患者若缺失肿瘤直径、血清 AFP 浓度、癌栓或 HBV 这 4 项临床参数时,不纳入分析。<sup>△</sup>Fisher's 确切概率法所得值

3 讨论

**3.1** HCC 是全球第六大常见的恶性肿瘤和第二大肿瘤致死原因,每年新增发病例约 80 万例<sup>[16]</sup>。我国是 HCC 高发地区,发病人数占全世界的 50% 以上,发病率和病死率在所有肿瘤类型中分别排第四位和第三位<sup>[17-18]</sup>。HCC 的危险因素包括 HBV 和丙型肝炎病毒 (hepatitis C virus, HCV) 慢性感染、酒精性肝炎以及脂肪性肝炎等<sup>[19]</sup>。目前, HCC 的早期治疗以手术切除和射频消融为主,而中晚期则使用局部治疗联合系统治疗,但治疗效果不理想,中位生存时间和无进展生存期仍不能让人满意<sup>[20-21]</sup>。

**3.2** 免疫治疗是近年来兴起的一种具有广阔临床应用前景的肿瘤治疗策略,其通过增强机体对肿瘤特异性免疫、打破免疫耐受,达到抑制肿瘤进展的目的,目前主要有肿瘤疫苗、过继细胞转移 (adoptive cell transfer, ACT) 疗法和免疫检查点抑制剂三条治疗路线,但由于肿瘤特异性抗原的缺乏限制了其开发与应用。目前 HCC 的免疫治疗,如细胞程序性死亡-配体 1 (programmed death-ligand 1, PD-L1) 抗体等取得了一定进展,更多的 HCC 免疫治疗靶点有待发现和进一步验证<sup>[3]</sup>。

**3.3** 由于 MAGE 家族的许多成员具有肿瘤特异性,因此其具有成为肿瘤免疫治疗靶点的潜质,近年已有一些家族成员,如 MAGE-A1 和 MAGE-A3 已作为疫苗靶点进入临床试验<sup>[22-23]</sup>。MAGE 家族成员 MAGE-D4 不仅具有肿瘤特异性<sup>[5-11]</sup>,近年来也有研究证实其具有较强的免疫原性,可引起机体强烈的体液免疫和细胞免疫应答,在以 MAGE-D4 抗原为基础的肿瘤疫苗研究中也初步展现出一一定的效果<sup>[9, 24-27]</sup>。因此, MAGE-D4 有进一步开发成肿瘤免疫治疗靶点的潜力,应用前景广阔。但迄今为止,学者们对 MAGE-D4 与 HCC 的关联性研究仍较少<sup>[11]</sup>,本文就此进行了研究。本研究结果显示, HCC 组织中 MAGE-D4 mRNA 的表达水平显著高于正常肝组织,这与 Takami 等<sup>[11]</sup>的研究报道相似。另外,进一步的 IHC 法检测结果

也显示, HCC 组织中 MAGE-D4 蛋白呈高表达。

**3.4** 蛋白的定位与其在组织细胞中所发挥的生物学功能密切相关。Ito 等<sup>[15]</sup>报道 MAGE-D4 与细胞骨架微丝共定位于细胞质,在有丝分裂末期至后期, MAGE-D4 蛋白与微管蛋白共定位于纺锤体和中心体,提示 MAGE-D4 可能参与了细胞分裂活动。而 Chong 等<sup>[28]</sup>报道 MAGE-D4 蛋白主要定位于口腔鳞状上皮癌的癌细胞质,偶见于细胞膜。本研究结果显示, HCC 中 MAGE-D4 蛋白主要定位于细胞质和细胞核,这和 Takami 等<sup>[11]</sup>的报道有异同,相同之处在于均发现 HCC 细胞质中存在 MAGE-D4 蛋白,而不同之处在于其并未在 HCC 细胞核中检测到 MAGE-D4 蛋白,但发现 HCC 细胞膜中存在 MAGE-D4 蛋白,造成这种不一致的原因可能与不同的肿瘤标本和肿瘤的异质性表达等因素有关。此外, MAGE-D4 蛋白在肿瘤细胞分布的多样化可能与其在不同肿瘤细胞中发挥不同功能有关。MAGE-D4 在 HCC 中发挥的确切生物学功能,有待进一步的研究。

**3.5** AFP 与 HCC 的发生、发展密切相关,其在 HCC 的辅助诊断及疗效监测中具有重要价值<sup>[29-30]</sup>。基于 TCGA 数据库分析结果显示, AFP 与 MAGE-D4 的相关性最高,呈正相关 ( $r = 0.556, P = 0.000$ ),这在本课题组收集的临床标本中也得到进一步验证,与 Takami 等<sup>[11]</sup>的研究结果相似。提示 MAGE-D4 在 HCC 中可能与 AFP 协同参与了 HCC 的发生和进展。另外,本研究基于 TCGA 数据库数据进行生存分析,结果显示对于总体 HCC 患者, MAGE-D4 mRNA 的表达水平与生存预后关联性不显著,但经进一步分层分析结果显示, MAGE-D4 mRNA 高表达与黄种人 HCC 患者不良预后有关,但与白种人 HCC 患者生存预后不显著。这提示 MAGE-D4 mRNA 表达对 HCC 患者生存预后的影响可能具有人种差异,其对于黄种人更具临床价值和意义。

综上所述, MAGE-D4 具有成为 HCC 免疫治疗靶点和预后标志物的潜力,但其在 HCC 发生、发展

中所发挥作用的机制尚不清楚,需进一步深入研究。

## 参考文献

- [1] Villanueva A. Hepatocellular carcinoma[J]. *N Engl J Med*, 2019, 380(15):1450–1462.
- [2] Wang H, Lu Z, Zhao X. Tumorigenesis, diagnosis, and therapeutic potential of exosomes in liver cancer[J]. *J Hematol Oncol*, 2019, 12(1):133.
- [3] 徐细明. 肝癌的免疫治疗进展[J]. *中国临床新医学*, 2019, 12(4):347–353.
- [4] De Plaen E, Arden K, Traversari C, et al. Structure, chromosomal localization, and expression of 12 genes of the MAGE family[J]. *Immunogenetics*, 1994, 40(5):360–369.
- [5] Sasaki M, Nakahira K, Kawano Y, et al. MAGE-E1, a new member of the melanoma-associated antigen gene family and its expression in human glioma[J]. *Cancer Res*, 2001, 61(12):4809–4814.
- [6] 余良, 肖绍文, 谢小薰. 黑色素瘤相关抗原 MAGE-E1 mRNA 在胶质瘤中的定量表达研究[J]. *中国免疫学杂志*, 2015, 31(2):225–229.
- [7] 付骏, 闭水清, 张庆梅, 等. MAGE-D4 在人脑膜瘤组织中的表达及其意义[J]. *中国癌症防治杂志*, 2015, 7(3):192–195.
- [8] Zhang QM, Shen N, Xie S, et al. MAGE-D4 expression in glioma and upregulation in glioma cell lines with 5-aza-2'-deoxycytidine treatment[J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2014, 15(8):3495–3501.
- [9] Zhang QM, He SJ, Shen N, et al. Overexpression of MAGE-D4 in colorectal cancer is a potentially prognostic biomarker and immunotherapy target[J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2014, 7(7):3918–3927.
- [10] Oya H, Kanda M, Takami H, et al. Overexpression of melanoma-associated antigen D4 is an independent prognostic factor in squamous cell carcinoma of the esophagus[J]. *Dis Esophagus*, 2015, 28(2):188–195.
- [11] Takami H, Kanda M, Oya H, et al. Evaluation of MAGE-D4 expression in hepatocellular carcinoma in Japanese patients[J]. *J Surg Oncol*, 2013, 108(8):557–562.
- [12] Chandrashekar DS, Bashel B, Balasubramanya SAH, et al. UALCAN: a portal for facilitating tumor subgroup gene expression and survival analyses[J]. *Neoplasia*, 2017, 19(8):649–658.
- [13] Menyhart O, Nagy Á, Györfy B. Determining consistent prognostic biomarkers of overall survival and vascular invasion in hepatocellular carcinoma[J]. *R Soc Open Sci*, 2018, 5(12):181006.
- [14] He SJ, Gu YY, Yu L, et al. High expression and frequently humoral immune response of melanoma-associated antigen D4 in glioma[J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2014, 7(5):2350–2360.
- [15] Ito S, Kawano Y, Katakura H, et al. Expression of MAGE-D4, a novel MAGE family antigen, is correlated with tumor-cell proliferation of non-small cell lung cancer[J]. *Lung Cancer*, 2006, 51(1):79–88.
- [16] Ferlay J, Soerjomataram I, Dikshit R, et al. Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012[J]. *Int J Cancer*, 2015, 136(5):E359–E386.
- [17] Chen W, Zheng R, Baade PD, et al. Cancer statistics in China, 2015[J]. *CA Cancer J Clin*, 2016, 66(2):115–132.
- [18] Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2018[J]. *CA Cancer J Clin*, 2018, 68(1):7–30.
- [19] Levrero M. Viral hepatitis and liver cancer: the case of hepatitis C[J]. *Oncogene*, 2006, 25(27):3834–3847.
- [20] 傅毅振, 徐立. 肝细胞癌综合治疗进展[J]. *临床肝胆病杂志*, 2020, 36(10):2179–2183.
- [21] Meyer T. Treatment of advanced hepatocellular carcinoma: beyond sorafenib[J]. *Lancet Gastroenterol Hepatol*, 2018, 3(4):218–220.
- [22] Kruit WH, van Ojik HH, Brichard VG, et al. Phase 1/2 study of subcutaneous and intradermal immunization with a recombinant MAGE-3 protein in patients with detectable metastatic melanoma[J]. *Int J Cancer*, 2005, 117(4):596–604.
- [23] Rapoport AP, Aquino NA, Stadtmauer EA, et al. Combination immunotherapy after ASCT for multiple myeloma using MAGE-A3/Poly-ICLC immunizations followed by adoptive transfer of vaccine-primed and costimulated autologous T cells[J]. *Clin Cancer Res*, 2014, 20(5):1355–1365.
- [24] Krämer BF, Schoor O, Krüger T, et al. MAGE-D4-expression in renal cell carcinoma and identification of an HLA-A\*25-restricted MHC class I ligand from solid tumor tissue[J]. *Cancer Biol Ther*, 2005, 4(9):943–948.
- [25] Renkvist N, Castelli C, Robbins PF, et al. A listing of human tumor antigens recognized by T cells[J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2001, 50(1):3–15.
- [26] Lim KP, Chun NA, Gan CP, et al. Identification of immunogenic MAGE-D4B peptides for vaccine development in oral cancer immunotherapy[J]. *Hum Vaccin Immunother*, 2014, 10(11):3214–3223.
- [27] Hu S, Li B, Shen X, et al. Induction of antigen-specific cytotoxic T-cell response by dendritic cells generated from ecto-mesenchymal stem cells infected with an adenovirus containing the MAGE-D4a gene[J]. *Oncol Lett*, 2016, 11(4):2886–2892.
- [28] Chong CE, Lim KP, Gan CP, et al. Over-expression of MAGE-D4B increases cell migration and growth in oral squamous cell carcinoma and is associated with poor disease outcome[J]. *Cancer Lett*, 2012, 321(1):18–26.
- [29] Özdemir F, Baskiran A. The importance of AFP in liver transplantation for HCC[J]. *J Gastrointest Cancer*, 2020, 51(4):1127–1132.
- [30] 周晓萍, 张玲, 吴君荣. 原发性肝癌患者症状体征与血清 AFP 关系的探讨[J]. *中国临床新医学*, 2018, 11(2):128–133.

[收稿日期 2020-12-31][本文编辑 余军 吕文娟]

## 本文引用格式

罗鑫, 沈宁, 刘畅, 等. 肿瘤相关抗原 MAGE-D4 在肝细胞癌中的表达及其意义[J]. *中国临床新医学*, 2021, 14(6):594–599.