

人脑胶质瘤中 MAGE-D4 和 CANX mRNA 的表达及其相关性分析

谢 欢, 张庆梅, 张鹏博, 张 沅, 农蔚霞, 罗 彬, 葛盈盈, 李 枫, 刘 畅, 谢小薰

基金项目: 国家自然科学基金项目(编号:81560408); 广西自然科学基金项目(编号:2018GXNSFAA050058, 2018GXNSFAA281050); 广西区域性高发肿瘤早期防治研究教育部重点实验室课题(编号:GK2019-08, GKE-ZZ202006)

作者单位: 530021 南宁, 广西医科大学组织学与胚胎学教研室(谢 欢, 张庆梅, 张 沅, 农蔚霞, 罗 彬, 葛盈盈, 李 枫, 谢小薰), 基础医学研究重点实验室(张庆梅, 农蔚霞, 罗 彬, 葛盈盈, 谢小薰), 长寿与老年相关疾病教育部重点实验室(张庆梅, 罗 彬, 谢小薰); 530021 南宁, 广西医科大学第一附属医院神经外科(张鹏博, 刘 畅)

作者简介: 谢 欢, 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: 403415335@qq.com

通信作者: 谢小薰, 医学博士, 教授, 博士研究生导师, 研究方向: 肿瘤免疫和肿瘤分子生物学。E-mail: 1695261181@qq.com

[摘要] **目的** 探讨人脑胶质瘤中黑色素瘤相关抗原(MAGE)-D4 和钙联蛋白(CANX) mRNA 的表达水平, 分析其相关性及其临床意义。**方法** 应用基因表达谱交互式分析(GEPIA)数据库数据[胶质母细胞瘤(GBM)组织 163 例, 低级别胶质瘤(LGG)组织 518 例, 正常脑组织 207 例]分析 MAGE-D4 和 CANX mRNA 在人脑胶质瘤组织中的表达情况, 并通过逆转录-定量聚合酶链反应(RT-qPCR)法在临床样本(胶质瘤 62 例, 正常脑组织 11 例)中进一步验证。分析 MAGE-D4 和 CANX mRNA 表达水平与胶质瘤患者临床指标的关联性。应用小干扰 RNA(siRNA)技术沉默胶质瘤细胞株 SF126 和 U251 中 MAGE-D4 的表达, 探讨 MAGE-D4 与 CANX 表达的相关性。**结果** GEPIA 数据库数据分析结果显示, GBM 和 LGG 组织的 MAGE-D4 和 CANX mRNA 表达水平均高于正常脑组织, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。针对临床样本的 RT-qPCR 检测结果也显示, 胶质瘤组织中 MAGE-D4 和 CANX mRNA 的表达水平显著高于正常脑组织($P < 0.05$)。MAGE-D4 及 CANX mRNA 的表达水平与患者年龄、性别、世界卫生组织(WHO)分级、病理类型、卡氏评分(KPS)、肿瘤最长径, 以及 Ki-67、胶质纤维酸性蛋白(GFAP)、S-100 和波形蛋白(vimentin)的表达水平均无关联性($P > 0.05$)。Pearson 相关分析结果显示, 临床胶质瘤样本组织中 MAGE-D4 与 CANX mRNA 表达水平呈正相关($r = 0.916, P = 0.000$)。细胞实验结果显示, 经 MAGE-D4 siRNA 沉默后, SF126 和 U251 细胞 CANX mRNA 的表达水平显著下降($P < 0.05$)。**结论** 人脑胶质瘤中 MAGE-D4、CANX 高表达, 且二者表达水平呈正相关, 提示其可能共同参与了胶质瘤的发生、发展, 具有成为胶质瘤免疫治疗靶点的应用前景。

[关键词] 胶质瘤; 黑色素瘤相关抗原-D4; 钙联蛋白; 相关性

[中图分类号] R 739.41 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1674-3806(2022)02-0114-06

doi:10.3969/j.issn.1674-3806.2022.02.05

Expressions of MAGE-D4 and CANX mRNA in human gliomas and their correlation analysis XIE Huan, ZHANG Qing-mei, ZHANG Peng-bo, et al. Department of Histology and Embryology, Guangxi Medical University, Nanning 530021, China

[Abstract] **Objective** To explore the expression levels of melanoma-associated antigen(MAGE)-D4 and calnexin(CANX) mRNA in human gliomas, and to analyze their correlation and clinical significances. **Methods** The expressions of MAGE-D4 and CANX mRNA in human glioma tissues were analyzed using the data from Gene Expression Profiling Interactive Analysis(GEPIA) database[163 cases of glioblastoma(GBM) tissues, 518 cases of low-grade glioma(LGG) and 207 cases of normal brain tissues], and were further verified in clinical samples(62 cases of glioma and 11 cases of normal brain tissues) by reverse transcription-quantitative polymerase chain reaction(RT-qPCR). The correlation between the expression levels of MAGE-D4 and CANX mRNA and the clinical indicators of glioma patients was analyzed. Small interfering RNA(siRNA) technology was used to silence the expressions of MAGE-D4 in glioma cell lines SF126 and U251, and the correlation between the expressions of MAGE-D4 and CANX was investigated. **Results**

The results of data analysis of GEPIA database showed that the expression levels of MAGE-D4 and CANX mRNA in GBM and LGG tissues were higher than those in normal brain tissues, and the differences were statistically significant ($P < 0.05$). The RT-qPCR test results of the clinical samples also showed that the expression levels of MAGE-D4 and CANX mRNA in glioma tissues were significantly higher than those in normal brain tissues ($P < 0.05$). The expression levels of MAGE-D4 and CANX mRNA were not related to the patient's age, gender, World Health Organization (WHO) grade, pathological type, Karnofsky Performance Score (KPS), the longest diameter of the tumor, and Ki-67, glial fibrillary acidic protein (GFAP), S-100 and vimentin expression levels ($P > 0.05$). The results of Pearson correlation analysis showed that the expression levels of MAGE-D4 and CANX mRNA in the tissues of the clinical glioma samples were positively correlated ($r = 0.916$, $P = 0.000$). The cell experiment results showed that the expression levels of CANX mRNA in SF126 and U251 cells decreased significantly after they were silenced by MAGE-D4 siRNA ($P < 0.05$). **Conclusion** MAGE-D4 and CANX are highly expressed in human gliomas, and their expression levels are positively correlated, suggesting that they may participate in the occurrence and development of gliomas, and have the application prospect of becoming targets for immunotherapy of gliomas.

[Key words] Glioma; Melanoma-associated antigen (MAGE)-D4; Calnexin (CANX); Correlation

胶质瘤是一种起源于神经胶质细胞的常见恶性原发性脑肿瘤,现有的治疗方法以手术切除为主,辅以替莫唑胺化学治疗和放射治疗,但疗效仍不佳,对胶质瘤患者的预后改善有限^[1]。肿瘤免疫治疗是近年来发展迅速的一种新型肿瘤治疗方法,但其需要对肿瘤特异性抗原进行鉴定。黑色素瘤相关抗原(melanoma-associated antigen, MAGE)是一类包括 60 多个成员的基因家族,因其第一个成员 MAGE-1 从黑色素瘤中被鉴定而得名^[2]。研究证实许多 MAGE 家族成员在肿瘤中特异性表达,被认为是肿瘤免疫治疗的理想靶点^[3]。目前 MAGE-A1 和 MAGE-A3 等成员已进入临床试验阶段,在一些颅外肿瘤的免疫治疗中显示出良好的抗肿瘤效果^[4-5]。MAGE-D4 是 2001 年从胶质母细胞瘤 (glioblastoma, GBM) 中鉴定出的一个 MAGE 家族成员^[6],研究证实 MAGE-D4 在正常组织中几乎不表达或低表达^[7],但在胶质瘤^[6]、肺癌^[8]、肝癌^[9-10]、肾癌^[11]、口腔癌^[12]、乳腺癌^[13]和结直肠癌^[3,14]等多种类型的肿瘤中高表达,提示 MAGE-D4 可能是肿瘤特异性抗原。本课题组前期发现,沉默 MAGE-D4 表达可抑制胶质瘤细胞增殖、侵袭和迁移等恶性生物学行为^[15],且通过 RNA-seq 高通量测序发现沉默 MAGE-D4 表达可抑制钙联蛋白 (calnexin, CANX) 表达。为进一步了解 MAGE-D4 和 CANX 的关系,本研究通过基因表达谱交互式分析 (Gene Expression Profiling Interactive Analysis, GEPIA) 数据库、逆转录-定量聚合酶链反应 (reverse transcription-quantitative polymerase chain reaction, RT-qPCR) 和小干扰 RNA (small interfering RNA, siRNA) 技术相结合的方式分析胶质瘤 MAGE-D4 和 CANX mRNA 的表达水平,及其临床意义和相关性,为初步评估二者能否成为胶质瘤

免疫治疗的靶点及今后深入研究二者的相互作用机制提供参考。

1 资料与方法

1.1 生物信息学资料筛选 应用 GEPIA 数据库 (<http://gepia.cancer-pku.cn>) 分析来自癌症基因组图谱 (The Cancer Genome Atlas, TCGA) 和基因型-组织表达 (Genotype-Tissue Expression, GTEx) 项目的肿瘤和正常样本 RNA 测序表达数据。筛选条件:(1) 基因:MAGE-D4、CANX;(2) 匹配的数据来源为 TCGA、GTEx 项目的肿瘤和正常组织样本数据;(3) 肿瘤类型为 GBM、低级别胶质瘤 (low-grade glioma, LGG);(4) 数据类型为 mRNA。共获取 888 例样本数据,其中 GBM 组织 163 例, LGG 组织 518 例,正常脑组织 207 例。参数设置为默认值,调取样本 RNA 测序表达数据,分析 MAGE-D4 及 CANX 在人脑胶质瘤组织中的表达情况。

1.2 组织标本与临床资料来源 选择 2008 年 1 月至 2018 年 12 月于广西医科大学第一附属医院神经外科经手术获取的 62 例胶质瘤标本和 11 例正常脑组织标本。胶质瘤患者中男 35 例,女 27 例;年龄 2 ~ 78 岁,中位年龄 40 岁;根据世界卫生组织 (World Health Organization, WHO) 分级标准, I ~ II 级 37 例, III ~ IV 级 25 例;病理检查结果,星型细胞瘤 41 例, GBM 12 例,少突胶质细胞瘤 5 例,室管膜瘤 4 例。所有胶质瘤患者在术前均未接受放疗及化疗。正常脑组织来源于颅脑外伤行内减压手术患者。标本离体后置于液氮速冻, -80 °C 冻存储存。组织标本的收集均经患者知情同意。通过医院病历系统收集患者一般临床资料及生化检查结果。以 MAGE-D4 和 CANX mRNA 表达水平的中位数将其分为高表达组和低表达组。本研

究获广西医科大学伦理委员会批准(编号:20200040)。

1.3 细胞培养 人脑胶质瘤细胞株 SF126 和 U251 均购自中国科学院上海细胞培养库。SF126 细胞使用含 10% 胎牛血清和 1% 青-链霉素的 MEM-EBSS 培养基进行培养。U251 细胞使用含 10% 胎牛血清和 1% 青-链霉素的 DMEM 培养基进行培养。培养箱(New Brunswick 公司)条件设置为 37℃, 5% CO₂。胎牛血清、青-链霉素混合液、MEM-EBSS 培养基和 DMEM 培养基均购自南京维森特生物技术有限公司。

1.4 细胞转染 SF126 细胞和 U251 细胞以 3 × 10⁵ cells/孔分别接种于 6 孔板,培养箱中培养 24 h,待细胞生长融合度约达 70% 时进行转染。将 siRNA 和转染试剂 Lipofectamine™ 3000(Thermo Fisher Scientific 公司)混合,室温静置 15 min,形成转染复合物。给 6 孔板换用无血清培养基,将静置后的转染复合物加入孔中,轻晃细胞培养板以混匀。置于细胞培养箱中继续培养 24 ~ 72 h,收集细胞进行后续实验。干扰 MAGE-D4 表达的 siRNA 和阴性对照 siRNA(靶基因 MAGE-D4 的无关序列)均由吉玛基因股份有限公司合成。见表 1。

表 1 siRNA 序列

名称	序列(5'-3')
MAGE-D4 siRNA	正向:GUGCAAUCGGAAAGCUACATT
	反向:UGUAGCUUCCGAUUGCACGC
阴性对照 siRNA	正向:UUCUCCGAACGUGUCACGUTT
	反向:ACGUGACACGUCCGAGAATT

1.5 RT-qPCR 检测 MAGE-D4 和 CANX mRNA 的表达情况 应用总 RNA 提取试剂盒(Vazyme 公司)分别提取组织标本和转染前后细胞株中的总 RNA,操作严格按照说明书进行。应用超微量分光光度计(TIANGEN OSE-260)检测所提 RNA 的浓度及纯度,应用琼脂糖凝胶电泳检测 RNA 完整性。确认 RNA 无降解后,应用逆转录试剂盒(Vazyme 公司)进行逆

转录,获得 cDNA。应用荧光定量 PCR 仪(Applied Biosystems ABI7500)检测 MAGE-D4 mRNA 及 CANX mRNA 的相对表达水平。参考相关文献^[16-17]进行 RT-qPCR 引物设计,引物由上海生物工程公司合成,见表 2。反应体系:Green Mix 10 μl, ddH₂O 7.2 μl, 上、下游引物各 0.4 μl, cDNA 2 μl。反应条件:95℃ 预变性 30 s, 95℃ 10 s, 60℃ 30 s, 40 个循环。所有试剂盒购自 Vazyme 公司。以 GAPDH 作为内参,采用 2^{-ΔΔCT}法对检测结果进行分析。

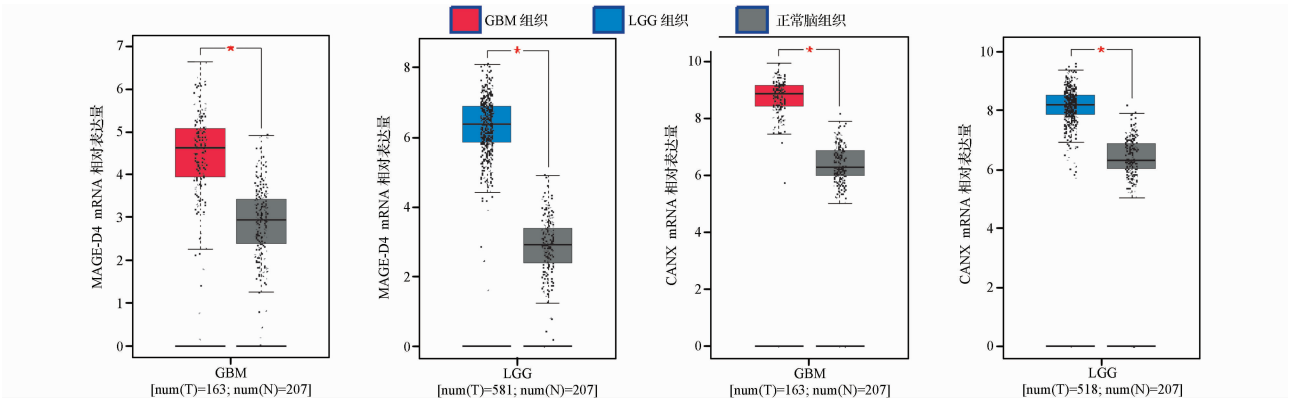
表 2 引物序列

名称	序列(5'-3')
MAGE-D4	正向:CCAGAATCAGAACCGAGA
	反向:CCAAAATCTCCGTCCTCA
CANX	正向:GAAGGGAAGTGGTTGCTGTGTATG
	反向:AGGAGGAGCACTGCTATCTGGTTT
GAPDH	正向:CAAGTGCATCCATGACAACCTTG
	反向:GTCCACCACCCTGTGCTGTAG

1.6 统计学方法 应用 SPSS26.0 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,两组间比较采用成组 *t* 检验;多组间比较采用单因素方差分析,以 SNK-*q* 检验进行组间两两比较。计数资料以例数(百分率)[*n*(%)]表示,组间比较采用 χ^2 检验。采用 Pearson 相关分析探讨 MAGE-D4 与 CANX 表达水平的相关性。*P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 胶质瘤组织中 MAGE-D4 和 CANX mRNA 的表达情况 TCGA、GTEX 项目数据分析结果显示,GBM 和 LGG 组织的 MAGE-D4 和 CANX mRNA 表达水平均高于正常脑组织,差异有统计学意义(*P* < 0.05)。见图 1。针对临床样本的 RT-qPCR 检测结果也显示,胶质瘤组织中 MAGE-D4 和 CANX mRNA 的表达水平高于正常脑组织,差异有统计学意义(*P* < 0.05),其平均水平分别为正常脑组织的 3.04 倍和 2.96 倍。见图 2。



经单因素方差分析, *: *P* < 0.05

图 1 GEPIA 数据库中不同组织 MAGE-D4 和 CANX mRNA 的表达水平比较图

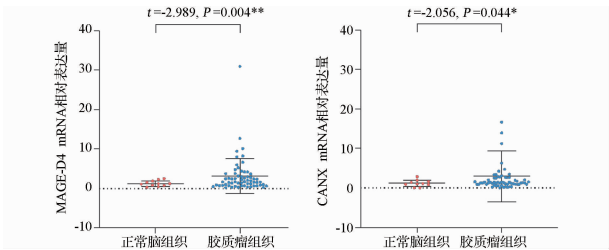


图2 胶质瘤组织与正常脑组织 MAGE-D4 和 CANX mRNA 表达水平比较图

表3 MAGE-D4 表达情况与胶质瘤患者临床指标的关联性分析结果[*n*(%)]

组 别	例数	性别		年龄(岁)		WHO 分级		病理类型			
		男	女	<40	≥40	I ~ II 级	Ⅲ ~ IV 级	星型细胞瘤	GBM	少突胶质细胞瘤	室管膜瘤
高表达组	31	17(54.84)	14(45.16)	16(51.61)	15(48.39)	22(70.97)	9(29.03)	25(80.64)	4(12.90)	1(3.23)	1(3.23)
低表达组	31	18(58.06)	13(41.94)	15(48.39)	16(51.61)	16(51.61)	15(48.39)	16(51.61)	8(25.81)	4(12.90)	3(9.68)
χ^2	-	0.066		0.065		2.447		5.824			
<i>P</i>	-	0.798		0.799		0.118		0.117			

组 别	例数	KPS(分)		肿瘤最长径(cm)		Ki-67 [#] (%)		GFAP [#]		S-100 [#]		vimentin [#]	
		<70	≥70	<5	≥5	<10	≥10	低表达	高表达	低表达	高表达	低表达	高表达
高表达组	31	14(45.16)	17(54.84)	12(38.71)	19(61.29)	14(56.00)	11(44.00)	21(84.00)	4(16.00)	19(95.00)	1(5.00)	18(85.71)	3(14.29)
低表达组	31	17(54.84)	14(45.16)	16(51.61)	15(48.39)	10(43.48)	13(56.52)	24(88.89)	3(11.11)	20(86.96)	3(13.04)	22(100.00)	0(0.00)
χ^2	-	0.581		1.042		0.751		-		-		-	
<i>P</i>	-	0.446		0.307		0.386		0.698 *		0.610 *		0.108 *	

注: [#]部分患者缺失 Ki-67、GFAP、S-100、vimentin 指标的检查结果数据,不纳入分析;GFAP、S-100 和 vimentin 以(-)和(+)作为低表达,(++)和(+++)作为高表达;* 为 Fisher's 确切概率法所得值

表4 CANX 表达情况与胶质瘤患者临床指标的关联性分析结果[*n*(%)]

组 别	例数	性别		年龄(岁)		WHO 分级		病理类型			
		男	女	<40	≥40	I ~ II 级	Ⅲ ~ IV 级	星型细胞瘤	GBM	少突胶质细胞瘤	室管膜瘤
高表达组	31	18(58.06)	13(41.94)	16(51.61)	15(48.39)	19(61.29)	12(38.71)	21(67.74)	5(16.13)	1(3.23)	4(12.90)
低表达组	31	17(54.84)	14(45.16)	15(48.39)	16(51.61)	19(61.29)	12(38.71)	20(64.52)	7(22.58)	4(12.90)	0(0.00)
χ^2	-	0.066		0.065		0.000		5.737			
<i>P</i>	-	0.798		0.799		1.000		0.122			

组 别	例数	KPS(分)		肿瘤最长径(cm)		Ki-67 [#] (%)		GFAP [#]		S-100 [#]		vimentin [#]	
		<70	≥70	<5	≥5	<10	≥10	低表达	高表达	低表达	高表达	低表达	高表达
高表达组	31	15(48.39)	16(51.61)	13(41.94)	18(58.06)	12(50.00)	12(50.00)	21(87.50)	3(12.50)	21(91.30)	2(8.70)	21(91.30)	2(8.70)
低表达组	31	16(51.61)	15(48.39)	15(48.39)	16(51.61)	12(50.00)	12(50.00)	24(85.71)	4(14.29)	18(90.00)	2(10.00)	19(95.00)	1(5.00)
χ^2	-	0.065		0.261		0.000		-		-		-	
<i>P</i>	-	0.799		0.610		1.000		1.000 *		1.000 *		1.000 *	

注: [#]部分患者缺失 Ki-67、GFAP、S-100、vimentin 指标的检查结果数据,不纳入分析;GFAP、S-100 和 vimentin 以(-)和(+)作为低表达,(++)和(+++)作为高表达;* 为 Fisher's 确切概率法所得值

2.3 胶质瘤组织 MAGE-D4 与 CANX mRNA 表达水平的相关性分析结果 Pearson 相关分析结果显示,临床胶质瘤样本组织中 MAGE-D4 与 CANX mRNA 表达水平呈正相关($r=0.916,P=0.000$)。

2.4 沉默胶质瘤细胞株 MAGE-D4 表达对 CANX 表达的影响 细胞实验结果显示,经 MAGE-D4 siRNA 沉默后,SF126 和 U251 细胞 CANX mRNA 的表达水平显著下降($P<0.05$)。见图 3。

2.2 MAGE-D4 和 CANX 表达情况与胶质瘤患者临床指标的关联性分析结果 MAGE-D4 及 CANX mRNA 的表达水平与患者年龄、性别、WHO 分级、病理类型、卡氏评分(Karnofsky Performance Score,KPS)、肿瘤最长径,以及 Ki-67、胶质纤维酸性蛋白(glia fibrillary acidic protein,GFAP)、S-100 和波形蛋白(vimentin)的表达水平均无关联性($P>0.05$)。见表 3,4。

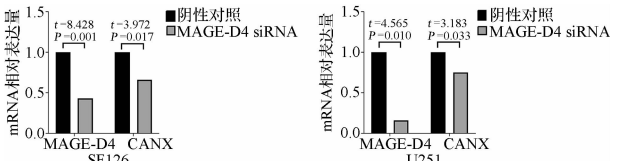


图3 沉默胶质瘤细胞株 MAGE-D4 表达后 CANX 表达情况图

3 讨论

3.1 胶质瘤由胶质细胞恶性转化而来,约占所有原

发性脑肿瘤和其他中枢神经系统肿瘤的 26%, 占恶性脑肿瘤的 81%^[18]。胶质瘤包括星形细胞瘤、少突胶质细胞瘤、GBM 和室管膜瘤等。其中 GBM 是恶性程度最高的胶质瘤, 患者预后极差, 中位生存期不到 2 年。胶质瘤的治疗标准包括最大限度地切除, 术后 30 d 内同时进行化疗和放疗, 但对胶质瘤患者的预后改善有限, 各种生物因素如血-脑屏障、肿瘤免疫微环境是新疗法开发所面临的重大挑战^[19]。过去一直认为中枢神经系统属于免疫豁免区, 但近年来许多研究发现恶性脑肿瘤常伴有血-脑屏障破坏, 免疫细胞可穿过血-脑屏障进入脑组织, 这提示开展脑肿瘤免疫治疗具有一定的可行性^[20]。因此, 肿瘤免疫治疗逐渐成为胶质瘤辅助治疗的重要研究方向^[1,19], 而筛选肿瘤特异性抗原是开展肿瘤免疫治疗的基础。

3.2 MAGE 家族的许多成员属于肿瘤特异性抗原, MAGE-D4 是 MAGE 家族中的一个重要成员。本研究中笔者通过 GEPIA 数据库数据及临床检测数据证实 MAGE-D4 在胶质瘤组织中呈高表达, 而在正常脑组织中低表达或不表达, 这与相关文献报道结果相似^[6-7]。此外, 有研究证实 MAGE-D4 具有免疫原性, MAGE-D4 基因转染诱导产生的细胞毒性 T 淋巴细胞 (cytotoxic T lymphocyte, CTL) 具有体外杀伤 MAGE-D4 阳性胶质瘤的能力^[21]。胶质瘤患者 MAGE-D4 血清抗体阳性率为 17.07% (7/41), 而正常人血清为阴性^[22]。本课题组前期研究显示, 沉默 MAGE-D4 表达可抑制胶质瘤细胞的恶性生物学行为, 这些结果提示 MAGE-D4 具有胶质瘤特异性表达特性, 在胶质瘤发生、发展中可能发挥重要作用, 可能作为胶质瘤免疫治疗的候选靶点。

3.3 肿瘤的发生是在内外因素长期影响及多基因相互作用的结果。为了解与 MAGE-D4 相互作用的蛋白分子, 本课题组前期通过 RNA-seq 高通量测序关注到了 CANX。目前已知 CANX 是一种内质网分子伴侣蛋白, 其在肺癌和口腔癌等肿瘤中高表达, 且与肿瘤患者不良预后相关^[23-24]。但迄今对 CANX 在胶质瘤的表达情况仍不清楚。本研究通过 GEPIA 数据库和临床样本检测数据进行分析, 结果显示 CANX 在胶质瘤中高表达。有研究显示 CANX 作为主要组织相容性复合体 (major histocompatibility complex, MHC)-I 类抗原呈递复合物的组成成分, 其表达异常可能在 MHC-I 类分子的组装、多肽装载及其在肿瘤细胞表面的呈递等方面发挥重要作用, 从而帮助肿瘤细胞逃逸免疫应答^[25]。Chen 等^[17]发现 CANX 可抑制

肿瘤中 CD4⁺ 和 CD8⁺ T 细胞的浸润和增殖, 减弱其抗肿瘤效应。Jung 等^[26]的研究显示, CANX 是 T 细胞迁移进入中枢神经细胞的必要条件。此外, 有研究认为 CANX 具有作为新型肺癌血清学诊断标志物的应用前景^[27]。在结直肠癌患者中, CANX 升高与 II/III 期患者不良预后有关, CANX 促进结直肠癌细胞生长和增殖, 而沉默 CANX 可增加癌细胞对 5 FU 化疗的敏感性^[28]。在舌鳞状细胞癌细胞及肺腺癌细胞中, 沉默 CANX 可抑制细胞的增殖、侵袭和迁移能力^[23-24]。这些结果提示, CANX 具有成为胶质瘤免疫治疗靶点的潜力。但本研究结果未显示 MAGE-D4 和 CANX mRNA 与胶质瘤患者临床指标存在关联, 这可能与标本例数有限、临床资料不够完善有关, 需进一步验证。

3.4 Pearson 相关分析结果显示, MAGE-D4 与 CANX mRNA 表达水平呈正相关, 且在沉默 MAGE-D4 表达后, CANX 表达水平也下降, 这提示 MAGE-D4 可能与 CANX 之间存在相互作用, 其共同参与了胶质瘤的发生、发展, 其机制值得进一步验证。

综上所述, MAGE-D4 和 CANX 在胶质瘤组织中呈高表达, 且二者表达水平呈正相关, 可能共同参与了胶质瘤的发生、发展过程, 其具体的分子作用机制尚需进一步研究验证。MAGE-D4 和 CANX 具有成为胶质瘤免疫治疗新靶点的潜力。

参考文献

- [1] Xu S, Tang L, Li X, et al. Immunotherapy for glioma: current management and future application[J]. Cancer Lett, 2020, 476:1-12.
- [2] 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.
- [3] Chung FY, Cheng TL, Chang HJ, et al. Differential gene expression profile of MAGE family in Taiwanese patients with colorectal cancer [J]. J Surg Oncol, 2010, 102(2):148-153.
- [4] Rapoport AP, Aqui 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.
- [5] 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.
- [6] 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.
- [7] 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.
- [8] 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.
- [9] 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.
- [10] 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.
- [11] 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.
- [12] Cheong SC, Chandramouli GV, Saleh A, et al. Gene expression in human oral squamous cell carcinoma is influenced by risk factor exposure[J]. Oral Oncol, 2009,45(8):712-719.
- [13] Germano S, Kennedy S, Rani S, et al. MAGE-D4B is a novel marker of poor prognosis and potential therapeutic target involved in breast cancer tumorigenesis[J]. Int J Cancer, 2012,130(9):1991-2002.
- [14] 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.
- [15] 严峻. MAGE-D4 对胶质母细胞瘤恶性生物学行为的影响及相关机制的研究[D]. 南宁:广西医科大学,2015.
- [16] Liu C, Ge Y, Luo B, et al. Synergistic regulation of methylation and SP1 on MAGE-D4 transcription in glioma[J]. Am J Transl Res, 2021,13(4):2241-2255.
- [17] Chen Y, Ma D, Wang X, et al. Calnexin impairs the antitumor immunity of CD4⁺ and CD8⁺ T cells[J]. Cancer Immunol Res, 2019,7(1):123-135.
- [18] Ostrom QT, Gittleman H, Truitt G, et al. CBTRUS statistical report: primary brain and other central nervous system tumors diagnosed in the United States in 2011-2015[J]. Neuro Oncol, 2018,20(suppl 4):iv1-iv86.
- [19] Tan AC, Ashley DM, López GY, et al. Management of glioblastoma: state of the art and future directions[J]. CA Cancer J Clin, 2020,70(4):299-312.
- [20] Yang MY, Zetler PM, Prins RM, et al. Immunotherapy for patients with malignant glioma: from theoretical principles to clinical applications[J]. Expert Rev Neurother, 2006,6(10):1481-1494.
- [21] 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.
- [22] 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.
- [23] 钟齐健,金婷婷,彭毓,等. 沉默 calnexin 对舌鳞状细胞癌细胞增殖、侵袭和迁移的影响[J]. 口腔疾病防治,2021,29(8):535-540.
- [24] Okayama A, Miyagi Y, Oshita F, et al. Proteomic analysis of proteins related to prognosis of lung adenocarcinoma[J]. J Proteome Res, 2014,13(11):4686-4694.
- [25] Dissemmond J, Busch M, Kothén T, et al. Differential downregulation of endoplasmic reticulum-residing chaperones calnexin and calreticulin in human metastatic melanoma[J]. Cancer Lett, 2004,203(2):225-231.
- [26] Jung J, Eggleton P, Robinson A, et al. Calnexin is necessary for T cell transmigration into the central nervous system[J]. JCI Insight, 2018,3(5):e98410.
- [27] Kobayashi M, Nagashio R, Jiang SX, et al. Calnexin is a novel sero-diagnostic marker for lung cancer[J]. Lung Cancer, 2015,90(2):342-345.
- [28] Ryan D, Carberry S, Murphy ÁC, et al. Calnexin, an ER stress-induced protein, is a prognostic marker and potential therapeutic target in colorectal cancer[J]. J Transl Med, 2016,14(1):196.

[收稿日期 2021-09-26][本文编辑 余军]

本文引用格式

谢欢,张庆梅,张鹏博,等. 人脑胶质瘤中 MAGE-D4 和 CANX mRNA 的表达及其相关性分析[J]. 中国临床新医学,2022,15(2):114-119.