

人胶质瘤中 HIF1A 和 MAGED4 的表达及调控关系初探

王平, 闭水清, 刘畅, 农蔚霞, 邹小琼, 薛春红, 王燕靖, 李枫, 张庆梅, 谢小薰

基金项目: 国家自然科学基金项目(编号:81960453); 广西自然科学基金项目(编号:2022GXNSFAA035639); 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项目(编号:GEK2019-08, 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(王平, 农蔚霞, 邹小琼, 薛春红, 王燕靖, 李枫, 张庆梅, 谢小薰), 广西高校基础医学重点实验室(农蔚霞, 张庆梅, 谢小薰); 530021 南宁, 广西医科大学第一附属医院神经外科(闭水清, 刘畅)

作者简介: 王平, 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: 591816312@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** 探讨缺氧诱导因子 1A(HIF1A)和黑色素瘤相关抗原 D4(MAGED4)在人胶质瘤中的表达情况,并分析 HIF1A 对 MAGED4 表达的影响。**方法** 通过基因表达谱交互分析(GEPIA)数据库收集人胶质瘤组织样本数据 681 例,正常脑组织样本数据 207 例,比较其 MAGED4 mRNA 和 HIF1A mRNA 表达水平。通过中国胶质瘤基因组图谱(CGGA)数据库中下载 693 例胶质瘤患者的 mRNA-seq_693 数据集及相应的临床信息,分析 MAGED4 mRNA 和 HIF1A mRNA 表达的相关性,以及二者与患者临床特征指标的关联性。应用氯化钴模拟体外缺氧环境,通过实时荧光定量聚合酶链式反应(RT-qPCR)和蛋白免疫印记(WB)实验探讨沉默胶质瘤细胞 HIF1A 表达对 MAGED4 表达变化的影响。**结果** 基于 GEPIA 数据库的分析结果显示,低级别胶质瘤(LGG)和胶质母细胞瘤(GBM)组织的 HIF1A mRNA 和 MAGED4 mRNA 水平均高于正常脑组织,差异有统计学意义($P < 0.05$)。基于 CGGA 数据库的分析结果显示, MAGED4 mRNA 表达水平与 HIF1A mRNA 表达水平呈正相关($r = 0.322, P = 0.000$)。MAGED4 mRNA 高表达组年龄 < 40 岁、异柠檬酸脱氢酶(IDH)突变型的人数比例大于 MAGED4 mRNA 低表达组,差异有统计学意义($P < 0.05$),两组性别、肿瘤类型、世界卫生组织(WHO)肿瘤分级、O6-甲基鸟嘌呤-DNA 甲基转移酶(MGMT)启动子甲基化状态、1p/19q 共缺失情况比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。将 HIF1A siRNA 转染至 U87-MG 和 U251 细胞,并在缺氧条件下培养 48 h, RT-qPCR 和 WB 实验结果显示, HIF1A 下调后, MAGED4 的表达水平也显著下降。**结论** HIF1A 和 MAGED4 均高表达于胶质瘤,且两者呈正相关。胶质瘤细胞中 HIF1A 可调控 MAGED4 的表达。

[关键词] 胶质瘤; 缺氧诱导因子 1A; 黑色素瘤相关抗原 D4; 氯化钴

[中图分类号] R 739.41 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1674-3806(2022)10-0945-06

doi:10.3969/j.issn.1674-3806.2022.10.10

A preliminary study on the expressions and regulatory relationships of HIF1A and MAGED4 in human glioma

WANG Ping, BI Shui-qing, LIU Chang, et al. Department of Histology and Embryology, Guangxi Medical University, Nanning 530021, China

[Abstract] **Objective** To investigate the expressions of hypoxia-inducible factor 1A(HIF1A) and melanoma-associated antigen D4(MAGED4) in human glioma, and to analyze the effect of HIF1A on the expression of MAGED4.

Methods Gene Expression Profiling Interactive Analysis(GEPIA) database was used to collect the data from 681 human glioma samples and the data from 207 normal brain tissue samples to compare the expression levels of MAGED4 mRNA and HIF1A mRNA. The mRNA-seq_693 data set and the corresponding clinical information of 693 glioma patients were downloaded from Chinese Glioma Genome Atlas(CGGA) database. The correlation between the expressions of MAGED4 mRNA and HIF1A mRNA, and the correlation between the two expressions and the clinical characteristics of the patients were analyzed. The hypoxic environment in vitro was simulated by using cobalt chloride, and the effect of silencing HIF1A expression in glioma cells on the expression of MAGED4 was investigated by reverse transcription-quantitative real-time polymerase chain reaction(RT-qPCR) and Western blot(WB) experiments. **Results** The analysis results based on the

GEPIA database showed that the levels of HIF1A mRNA and MAGED4 mRNA in the low-grade glioma (LGG) and the glioblastoma (GBM) tissues were higher than those in the normal brain tissues, and the differences were statistically significant ($P < 0.05$). The analysis results based on the CGGA database showed that the MAGED4 mRNA expression level was positively correlated with the HIF1A mRNA expression level ($r = 0.322$, $P = 0.000$). The proportion of the patients with age < 40 years and isocitrate dehydrogenase (IDH) mutation in the high MAGED4 mRNA expression group was greater than that in the low MAGED4 mRNA expression group, and the difference was statistically significant ($P < 0.05$). There were no significant differences in gender, tumor type, World Health Organization (WHO) tumor grade, O6-methylguanine-DNA methyltransferase (MGMT) promoter methylation status and 1p/19q co-deletion between the two groups ($P > 0.05$). U87-MG and U251 cells were transfected with HIF1A siRNA and were cultured for 48 hours under the condition of hypoxia. The results of RT-qPCR and WB experiments showed that the expression level of MAGED4 also decreased significantly after HIF1A was down-regulated. **Conclusion** Both HIF1A and MAGED4 are highly expressed in gliomas, and their expressions are positively correlated. HIF1A can regulate the expression of MAGED4 in glioma cells.

[Key words] Glioma; Hypoxia-inducible factor 1A (HIF1A); Melanoma-associated antigen D4 (MAGED4); Cobalt chloride

胶质瘤是人类原发性恶性脑肿瘤中最常见的类型,根据其恶性程度的不同,可以分为低级别胶质瘤 (low-grade glioma, LGG) 和高级别胶质瘤 (high grade glioma, HGG)。尽管有包括手术联合放疗化疗等一系列综合治疗方案,但患者的总体预后仍较差,尤其是胶质母细胞瘤 (glioblastoma, GBM) 患者^[1]。肿瘤的高度增殖状态导致肿瘤组织处于缺氧的微环境状态,目前研究认为缺氧诱导因子 1A (hypoxia-inducible factor 1A, HIF1A) 是肿瘤细胞缺氧反应的重要调节因子^[2]。黑色素瘤相关抗原 (melanoma-associated antigen, MAGE) 是一个多基因大家族,其许多成员在正常组织 (除睾丸外) 中限制性表达,而在多种肿瘤组织中呈高表达,被视为肿瘤生物治疗的理想靶点^[3]。其中, MAGED4 作为 MAGE 家族中的新成员,被认为是肿瘤相关抗原^[4]。有研究显示, MAGED4 在乳腺癌^[5]、非小细胞肺癌^[6]、口腔鳞癌^[7]、肝细胞癌^[8] 和结直肠癌^[9] 等多种肿瘤中呈高表达,并认为其参与了肿瘤细胞的增殖、迁移、侵袭过程,与患者预后不良相关。HIF1A 可以调控多种因子的表达,如促红细胞生成素 (erythropoietin, EPO)、血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF)、葡萄糖载体蛋白 1 (glucose transporter 1, GLUT1)、乳酸脱氢酶 A (lactate dehydrogenase A, LDHA) 等^[10-11]。但 HIF1A 与 MAGED4 之间的关系尚不明确,本研究旨在分析胶质瘤中 HIF1A、MAGED4 的表达水平及其临床意义,并探讨二者之间的调控关系,为胶质瘤的靶向治疗提供参考思路。现报道如下。

1 材料与方法

1.1 生物信息学资料 通过基因表达谱交互式分析 (Gene Expression Profiling Interactive Analysis, GEPIA)

数据库^[12] 分析人胶质瘤中 MAGED4 和 HIF1A 的 mRNA 表达情况。基因搜索关键词为“HIF1A”“MAGED4”,选择数据来源为 TCGA、GTEX 项目的肿瘤和正常组织样本数据,肿瘤类型为 LGG 和 GBM。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。另外,从中国胶质瘤基因组图谱 (Chinese Glioma Genome Atlas, CGGA) 数据库^[13-14] 中下载 mRNA-seq_693 数据集及相应的临床信息^[15]。纳入标准:(1) 临床病理诊断明确为世界卫生组织 (World Health Organization, WHO) II ~ IV 级胶质瘤;(2) 患者临床特征信息完善;(3) 年龄不限,性别不限。排除标准:(1) 临床信息数据不全者;(2) 合并其他恶性疾病者。共纳入 693 例样本数据,合并临床数据与 HIF1A mRNA、MAGED4 mRNA 表达水平数据,并以中位数为界将其分为高表达组和低表达组,分析二者与临床特征之间的关联性。

1.2 细胞培养和缺氧模型构建 选择人胶质瘤细胞系 U251、U87-MG,购自中国科学院上海细胞生物学研究所并由本实验室保存。将 U87-MG 细胞和 U251 细胞置于恒温培养箱 (37 °C, 5% CO₂) 中,并使用含 100 U/ml 青霉素、100 μg/ml 链霉素和 10% 胎牛血清 (加拿大 Wisent 公司) 的 DMEM 高糖培养基 (加拿大 Wisent 公司) 进行培养。使用氯化钴 (CAS 7791-13-1, Sigma) 构建细胞体外缺氧模型,将氯化钴溶解于无菌无酶水中,配制成 10 mmol/L 浓度的母液, -20 °C 避光保存。用 DMEM 完全培养基配制成浓度分别为 0 μmol/L、100 μmol/L、200 μmol/L、300 μmol/L、400 μmol/L 的缺氧培养基用于模拟缺氧环境。

1.3 CCK-8 实验 取对数生长期状态良好的胶质瘤细胞,经胰酶消化后,用完全培养基制备成 5×10^3 cells/ml

的细胞悬液,接种于96孔板中(100 μl/孔),24 h后分别更换为含不同氯化钴浓度的缺氧培养基,培养48 h后每孔加入10 μl CCK-8试剂,细胞培养箱中继续孵育2 h后使用Sunrise酶标仪(奥地利Tecan公司)测定450 nm处的OD值。

1.4 细胞转染 将细胞种于6孔板中,按照LipofectamineTM3000(美国Invitrogen公司)转染试剂说明书将阴性对照siRNA和HIF1A siRNA分别转染入胶质瘤细胞,并于缺氧培养基中培养48 h后收集细胞进行相关实验。HIF1A siRNA和阴性对照siRNA由生工生物(上海)股份有限公司合成,序列见表1。

表1 siRNA序列

名称	序列(5'-3')
HIF1A siRNA	sense 5'-CUGAUGACCAGCAACUUGA-3'
	antisense 5'-UCAAGUUGCUGUCAUCAG-3'
阴性对照 siRNA	sense 5'-CGUACGCGGAUACUUCGA-3'
	antisense 5'-UCGAAGUAUUCGCGUACG-3'

1.5 总RNA提取和实时荧光定量聚合酶链式反应(reverse transcription-quantitative real-time polymerase chain reaction, RT-qPCR)实验 采用RNA提取试剂盒(南京诺唯赞公司,RC101-01)提取细胞总RNA。应用分光光度计(北京天根公司)检测RNA浓度和吸光度值。采用cDNA逆转录试剂盒(南京诺唯赞公司,R323-01)将RNA逆转录成cDNA。应用StepOnePlus qPCR仪行RT-qPCR,试剂盒购自南京诺唯赞公司(Q711-02),反应体系:SYBR Green I Master 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℃变性10 s,60℃退火和延伸30 s,共40个循环反应。以β-actin为内参,根据2^{-ΔΔCt}法计算相对表达量。引物由生工生物(上海)股份有限公司合成,序列见表2。

表2 RT-qPCR扩增引物序列

名称	引物序列(5'-3')	产物长度
HIF1A	上游:TCCGATGGAAGCACTAGACAA	240 bp
	下游:TGACAACCTGATCGAAGGAACG	
MAGED4	上游:CCAGAATCAGAACCGAGA	216 bp
	下游:CCAAAATCTCCGCTCTCA	
β-actin	上游:TGACGTGGACATCCGCAAAAG	205 bp
	下游:CTGGAAGGTGGACACCGAGG	

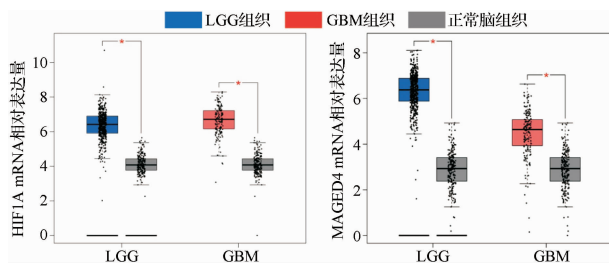
1.6 蛋白免疫印记(Western blot, WB)实验 依照蛋白提取试剂盒(北京索莱宝公司)说明书步骤提取细胞总蛋白,测定蛋白浓度后加入上样缓冲液,煮沸5 min使蛋白变性,自然冷却后于-80℃保存备检。将准

备好的蛋白依次通过电泳、转膜、封闭,以及一抗、二抗孵育步骤。应用Fluor Chem FC3成像仪进行显影,并使用Image J软件分析条带灰度值,以β-actin为内参计算相对灰度值。HIF1A抗体(36169, CST; 1:1 000稀释),MAGED4抗体(sc-393203, Santa Cruz; 1:200稀释),β-actin抗体(15G5A11/E2, ThermoFisher Scientific; 1:2 000稀释),兔抗小鼠二抗(ab6728, Abcam; 1:5 000稀释),山羊抗兔二抗(ab6721, Abcam; 1:5 000稀释)。

1.7 统计学方法 应用SPSS26.0和Graphpad Prism 8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χ²检验。采用Pearson相关分析探讨MAGED4 mRNA与HIF1A mRNA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HIF1A mRNA和MAGED4 mRNA表达情况 基于GEPIA数据库的分析结果显示,LGG和GBM组织的HIF1A mRNA和MAGED4 mRNA水平均高于正常脑组织,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见图1。基于CGGA数据库的分析结果显示,MAGED4 mRNA表达水平与HIF1A mRNA表达水平呈正相关($r = 0.322, P = 0.000$)。



注:经成组t检验,* $P < 0.05$

图1 LGG、GBM以及正常脑组织HIF1A mRNA和MAGED4 mRNA表达水平比较图

2.2 HIF1A mRNA和MAGED4 mRNA表达水平与胶质瘤患者临床特征指标的关联性分析结果 MAGED4 mRNA高表达组年龄≤40岁、异柠檬酸脱氢酶(isocitrate dehydrogenase, IDH)突变型的人数比例大于MAGED4 mRNA低表达组,差异有统计学意义($P < 0.05$),两组性别、肿瘤类型、WHO肿瘤分级、O6-甲基鸟嘌呤-DNA甲基转移酶(O6-methylguanine-DNA methyltransferase, MGMT)启动子甲基化状态、1p/19q共缺失情况比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。HIF1A mRNA表达水平与以上临床指标均无显著关联性($P > 0.05$)。见表3,4。

表3 MAGED4 mRNA 表达水平与胶质瘤患者临床特征指标的关联性分析结果[n(%)]

组别	例数	性别		年龄		肿瘤类型		WHO 肿瘤分级*	
		男	女	≤40岁	>40岁	原发肿瘤	继发肿瘤	II/III	IV
低表达组	346	202(58.38)	144(41.62)	130(37.68)	215(62.32)	211(60.98)	135(39.02)	216(62.43)	130(37.57)
高表达组	347	196(56.48)	151(43.52)	161(46.40)	186(53.60)	211(60.81)	136(39.19)	227(65.61)	119(34.39)
χ^2	-	0.255		5.394		0.002		0.759	
<i>P</i>	-	0.613		0.020		0.962		0.384	

组别	例数	IDH 基因型*		MGMT 启动子甲基化*		1p/19q 共缺失情况*		放疗*		化疗*	
		野生型	突变型	是	否	未缺失	缺失	是	否	是	否
低表达组	346	148(49.33)	152(50.67)	147(55.06)	120(44.94)	224(79.72)	57(20.28)	250(79.62)	64(20.38)	237(75.24)	78(24.76)
高表达组	347	138(40.35)	204(59.65)	168(60.87)	108(39.13)	254(74.05)	89(25.95)	260(78.31)	72(21.69)	249(75.00)	83(25.00)
χ^2	-	5.220		1.780		2.764		0.165		0.005	
<i>P</i>	-	0.022		0.182		0.096		0.684		0.944	

注：* 部分患者的 WHO 肿瘤分级、IDH 基因型、MGMT 启动子甲基化状态、1p/19q 共缺失情况以及放疗、化疗的指标数据缺失，未纳入分析

表4 HIF1A mRNA 表达水平与胶质瘤患者临床特征指标的关联性分析结果[n(%)]

组别	例数	性别		年龄		肿瘤类型		WHO 肿瘤分级	
		男	女	≤40岁	>40岁	原发肿瘤	继发肿瘤	II/III	IV
低表达组	346	207(59.83)	139(40.17)	133(38.55)	212(61.45)	219(63.29)	127(36.71)	230(66.47)	116(33.53)
高表达组	347	191(55.04)	156(44.96)	158(45.53)	189(54.47)	203(58.50)	144(41.50)	214(61.67)	133(38.33)
χ^2	-	1.621		3.461		1.672		1.736	
<i>P</i>	-	0.203		0.063		0.196		0.188	

组别	例数	IDH 基因型*		MGMT 启动子甲基化*		1p/19q 共缺失情况*		放疗*		化疗*	
		野生型	突变型	是	否	未缺失	缺失	是	否	是	否
低表达组	346	136(46.10)	159(53.90)	171(59.58)	116(40.42)	208(74.29)	72(25.71)	247(76.71)	75(25.71)	241(74.61)	82(25.39)
高表达组	347	150(43.23)	197(56.77)	144(56.47)	111(43.53)	270(78.72)	73(21.28)	263(81.17)	61(18.83)	244(75.31)	80(24.69)
χ^2	-	0.533		0.537		1.695		1.937		0.042	
<i>P</i>	-	0.465		0.464		0.193		0.164		0.838	

注：* 部分患者的 IDH 基因型、MGMT 启动子甲基化状态、1p/19q 共缺失情况以及放疗、化疗的指标数据缺失，未纳入分析

2.3 胶质瘤细胞体外缺氧模型构建结果 经含不同浓度氯化钴的缺氧培养基培养 48 h 后，CCK-8 实验结果显示，与氯化钴浓度 0 μmol/L 相比，U87-MG 细胞和 U251 细胞分别在氯化钴浓度为 100 μmol/L 和 300 μmol/L 时细胞活性最高，且随着氯化钴浓度继续上升，细胞活性下降。故选择 100 μmol/L 作为 U87-MG 细胞的最佳造模浓度，选择 300 μmol/L 作为 U251 细胞的最佳造模浓度。见图 2。

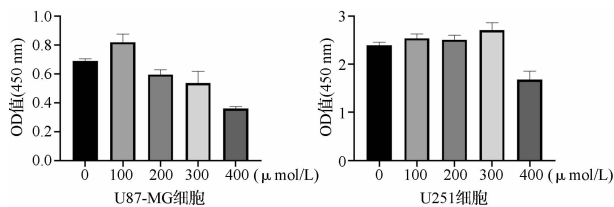


图2 不同浓度氯化钴的缺氧培养基对 U87-MG 和 U251 细胞活性的影响图

2.4 缺氧条件下沉默 HIF1A 对 MAGED4 表达的影响 将 HIF1A siRNA 转染至 U87-MG 和 U251 细胞，并在缺氧条件下培养 48 h，RT-qPCR 结果显示，HIF1A mRNA 表达下调后，MAGED4 mRNA 表达水平也显著下降 ($P < 0.05$)。见图 3。WB 结果也显示，HIF1A 蛋白表达下调后，MAGED4 蛋白表达水平也显著下降 ($P < 0.05$)。见图 4。

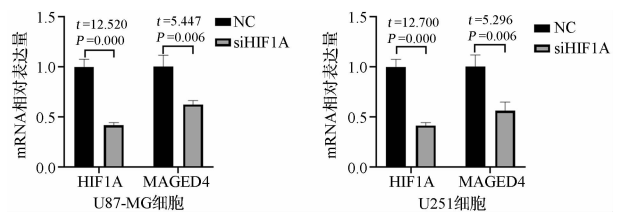


图3 下调胶质瘤细胞 HIF1A mRNA 表达后 MAGED4 mRNA 表达变化图

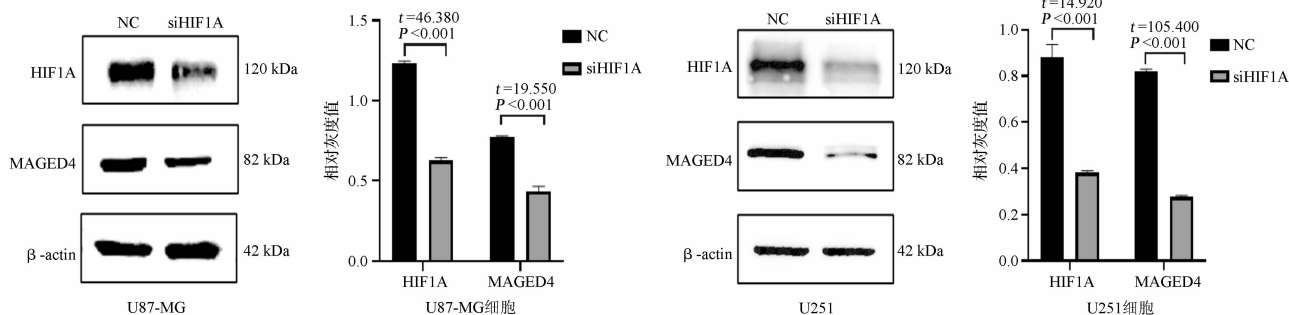


图 4 下调胶质瘤细胞 HIF1A 蛋白后 MAGED4 蛋白表达变化图

3 讨论

3.1 研究表明,胶质瘤占恶性脑肿瘤的 75%,其中一半以上是 GBM,多数 GBM 患者生存期不到 1 年^[16]。目前胶质瘤的治疗标准方案是最大限度地切除肿瘤和术后放疗,但胶质瘤浸润性的特征使得手术有时不能完全切除所有肿瘤组织,残留的肿瘤可能引起术后复发。随着研究的进展,越来越多的研究证明胶质瘤基因型可提供更准确的诊断、预后策略。肿瘤分子靶向治疗作为发展中的新辅助治疗方法受到越来越多的关注,基于胶质瘤特异性分子的靶向治疗可能使患者在手术和辅助放疗之外获得更佳的预后,而发掘有效的胶质瘤特异性分子是肿瘤靶向治疗的前提。

3.2 已有研究鉴定出了 MAGED4 相关的 HLA-A * 25 限制性抗原肽^[17]。此外,相关研究发现 MAGED4 特异性的 T 淋巴细胞能杀伤 MAGED4 阳性的肿瘤细胞^[18]。本课题组前期的研究也发现, MAGED4 与胶质瘤细胞的增殖、迁移和侵袭密切相关^[19],并与冠状蛋白肌动蛋白结合蛋白 1C (coronin 1C, CORO1C)、细胞分裂周期因子 25A (cell division cycle 25A, CDC25A) 等多种肿瘤相关分子之间存在调控关系^[20],其表达可受 p53、特异性蛋白 1 (specificity protein 1, SP1) 等转录因子调节^[21]。这些结果都提示 MAGED4 属于胶质瘤特异性的分子,具有成为胶质瘤靶向免疫治疗的潜能,而探究胶质瘤中 MAGED4 的表达调控关系,寻找消除胶质瘤中 MAGED4 异常性表达方法尤为关键。

3.3 HIF1 最早于 20 世纪 90 年代由 Semenza 等^[22]在缺氧处理的肝癌细胞株中发现。HIF1 由 HIF1A 和 HIF1B 两个亚基组成,其中 HIF1A 是功能性亚基,决定 HIF1 的活性^[23],在常氧状态下, HIF1A 可通过泛素-蛋白酶体降解途径降解;在缺氧条件下 HIF1A 稳定存在。HIF1B 作为结构性亚基,不受氧的调节^[24]。氯化钴中的 Co^{2+} 能置换催化基团上的 Fe^{2+} ,从而阻断泛素-蛋白酶体降解途径,抑制 HIF1A 的降解^[25]。

本研究中使用氯化钴模拟了细胞体外缺氧环境,并通过 CCK-8 实验筛选出最佳的氯化钴浓度,发现低浓度的氯化钴模拟缺氧可以促进肿瘤细胞的活性,而高浓度的氯化钴可能因药物毒性作用而抑制细胞的活性。肿瘤的发生、发展涉及到多种调控机制的相互作用,其中 HIF1A 是肿瘤缺氧信号通路的中枢调节因子^[25-27],可作为转录因子调节多种基因的转录,这些下游的靶基因参与了血管新生、糖酵解、红细胞生成,以及细胞增殖、迁移、侵袭等多种细胞功能。虽然目前已发现了大量的 HIF1A 下游靶基因,但在胶质瘤中 HIF1A 相关的诊断、预后标志物以及潜在的靶向治疗靶点仍有待进一步发掘。

3.4 本研究通过 GEPIA 数据库发现 HIF1A mRNA 和 MAGED4 mRNA 在胶质瘤中均呈高表达。分析 CGGA 数据库的临床数据资料发现, MAGED4 mRNA 的表达与患者年龄、IDH 突变相关,但与性别、肿瘤类型、WHO 肿瘤分级、MGMT 启动子甲基化状态等无显著关联。根据 2021 年 WHO 中枢神经系统肿瘤分类^[28],该结果可能提示 MAGED4 的表达与胶质瘤的分型相关,但仍有待进一步研究。HIF1A 与患者年龄、性别、样本类型、WHO 肿瘤分级、IDH 突变等均无显著关联,这可能因为 HIF1A 的表达主要与组织缺氧程度相关,但可能也与收集到的样本量有限有关,有待进一步探索。另外,基于公共数据的分析结果显示, MAGED4 mRNA 与 HIF1A mRNA 的表达呈正相关,而这也在本研究的细胞实验中得到验证。由此推测,胶质瘤中 MAGED4 的表达与缺氧密切相关,可能是 HIF1A 的潜在下游靶基因,调控 MAGED4 的表达可能会影响胶质瘤患者的疾病进展,为胶质瘤的分子靶向治疗提供了潜在的靶点。

本研究虽然发现胶质瘤细胞中 HIF1A 可以调控 MAGED4 的表达,但是本研究仅进行了体外的初步验证,今后还需从体内外进一步研究二者的相关性及对具体的调控机制进行探索。

参考文献

- [1] Geraldo LHM, Garcia C, da Fonseca ACC, et al. Glioblastoma therapy in the age of molecular medicine[J]. Trends Cancer, 2019,5(1):46-65.
- [2] Pezzuto A,Carico E. Role of HIF-1 in cancer progression;novel insights. A review[J]. Curr Mol Med, 2018,18(6):343-351.
- [3] Florke Gee RR, Chen H, Lee AK, et al. Emerging roles of the MAGE protein family in stress response pathways[J]. J Biol Chem, 2020, 295(47):16121-16155.
- [4] 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.
- [5] 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.
- [6] 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.
- [7] Chong CE, Lim KP, Gan CP, et al. Over-expression of MAGED4B 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.
- [8] 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.
- [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] Yu Y, Ma L, Zhang H, et al. EPO could be regulated by HIF-1 and promote osteogenesis and accelerate bone repair[J]. Artif Cells Nanomed Biotechnol, 2020,48(1):206-217.
- [11] Jain T, Nikolopoulou EA, Xu Q, et al. Hypoxia inducible factor as a therapeutic target for atherosclerosis[J]. Pharmacol Ther, 2018, 183:22-33.
- [12] Li C, Tang Z, Zhang W, et al. GEPIA2021: integrating multiple deconvolution-based analysis into GEPIA[J]. Nucleic Acids Res, 2021,49(W1):W242-W246.
- [13] Zhao Z, Zhang KN, Wang Q, et al. Chinese Glioma Genome Atlas (CGGA): a comprehensive resource with functional genomic data from Chinese glioma patients[J]. Genomics Proteomics Bioinformatics, 2021,19(1):1-12.
- [14] Wang Y, Qian T, You G, et al. Localizing seizure-susceptible brain regions associated with low-grade gliomas using voxel-based lesion-symptom mapping[J]. Neuro Oncol, 2015,17(2):282-288.
- [15] Liu X, Li Y, Qian Z, et al. A radiomic signature as a non-invasive predictor of progression-free survival in patients with lower-grade gliomas[J]. Neuroimage Clin, 2018,20:1070-1077.
- [16] Lapointe S, Perry A, Butowski NA. Primary brain tumours in adults [J]. Lancet, 2018,392(10145):432-446.
- [17] Krämer BF, Schoor O, Krüger T, et al. MAGED4-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.
- [18] 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.
- [19] 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.
- [20] 张沅,张鹏博,谢欢,等. 脑胶质瘤中 MAGE-D4 和 CORO1C mRNA 表达水平及其临床意义[J]. 中国临床新医学,2022,15(1):35-40.
- [21] Liu C, Ge Y, Luo B, et al. Synergistic regulation of methylation and SPI on MAGE-D4 transcription in glioma[J]. Am J Transl Res, 2021, 13(4):2241-2255.
- [22] Semenza GL, Neifelt MK, Chi SM, et al. Hypoxia-inducible nuclear factors bind to an enhancer element located 3' to the human erythropoietin gene[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 1991,88(13):5680-5684.
- [23] Wang GL, Jiang BH, Rue EA, et al. Hypoxia-inducible factor 1 is a basic-helix-loop-helix-PAS heterodimer regulated by cellular O₂ tension[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 1995,92(12):5510-5514.
- [24] Batie M, Kenneth NS, Rocha S. Systems approaches to understand oxygen sensing; how multi-omics has driven advances in understanding oxygen-based signalling[J]. Biochem J, 2022,479(3):245-257.
- [25] Muñoz-Sánchez J, Cháñez-Cárdenas ME. The use of cobalt chloride as a chemical hypoxia model[J]. J Appl Toxicol, 2019,39(4):556-570.
- [26] Choudhry H, Harris AL. Advances in hypoxia-inducible factor biology [J]. Cell Metab, 2018,27(2):281-298.
- [27] Vaupel P,Multhoff G. Fatal alliance of hypoxia-/HIF-1 α -driven micro-environmental traits promoting cancer progression[J]. Adv Exp Med Biol, 2020, 1232:169-176.
- [28] Louis DN, Perry A, Wesseling P, et al. The 2021 WHO classification of tumors of the central nervous system; a summary[J]. Neuro Oncol, 2021,23(8):1231-1251.

[收稿日期 2022-06-23][本文编辑 余军 吕文娟]

本文引用格式

王平,闭水清,刘畅,等. 人胶质瘤中 HIF1A 和 MAGED4 的表达及调控关系初探[J]. 中国临床新医学,2022,15(10):945-950.