

· 综 述 · doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2021.09.036

网络首发 <https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.r.20210115.1438.007.html>(2021-01-15)

肿瘤睾丸抗原在肝细胞癌中的研究进展*

呼胜楠^{1,2} 综述,完迪迪^{1,3},杨小昂^{1,3△} 审校

(1. 郑州大学河南省医药科学研究所肝病研究所,郑州 450052;2. 黄河科技学院,郑州 450063;

3. 河南省肝病药理重点实验室,郑州 450052)

[摘要] 肿瘤睾丸抗原(CTA)是一组肿瘤相关抗原,在不同癌症中均有表达,而在睾丸除外的正常组织中不表达。由于 CTA 呈现限制性表达模式,并具有引起患者产生免疫应答的能力,使 CTA 成为肿瘤免疫治疗中有应用前景的一类抗原。有研究表明在肝细胞癌(HCC)患者组织和外周血样品中存在 CTA 的表达,而癌旁组织和正常肝组织中均未表达,为 CTA 成为 HCC 患者免疫治疗的潜在靶向标志物奠定了基础。本综述旨在探讨 CTA 有望作为 HCC 生物标志物和免疫治疗靶点的临床意义。

[关键词] 肿瘤睾丸抗原;癌,肝细胞;肿瘤转移;预后

[中图分类号] R735.7 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2021)09-1605-04

Research progress of tumor testis antigen in hepatocellular carcinoma*

HU Shengnan^{1,2}, WAN Didi^{1,3}, YANG Xiao'ang^{1,3△}

(1. Henan Provincial Institute of Medical and Pharmaceutical Sciences, Zhengzhou University, Zhengzhou, Henan 450052, China; 2. Huanghe Science and Technology University, Zhengzhou, Henan 450063, China; 3. Henan Provincial Key Laboratory for Pharmacology of Liver Diseases, Zhengzhou, Henan 450052, China)

[Abstract] Cancer testis antigen (CTA) is a group of tumor-associated antigens, which is expressed in different cancers, but is not expressed in normal tissues other than testis. Because CTA presents a restricted expression pattern and has the ability causing the immune response in cancer patients, CTA has become a class of antigens with potential application in tumor immunotherapy. Some studies indicate that the CTA expression exists in the tissues and peripheral blood samples of hepatocellular carcinoma (HCC) patients, but CTA has no expression in paracancerous tissues and normal liver tissues, which lays the foundation for CTA becoming a potential target marker for immunotherapy in HCC patients. This review aims to explore the clinical significance of CTA expecting to be a biomarker and immunotherapeutic target point of HCC.

[Key words] cancer testis antigen; carcinoma, hepatocyte; neoplasm metastasis; prognosis

肝细胞癌(HCC)是最常见的恶性肿瘤之一。在全球范围内,肝癌的发生每年以3%~9%的速度增长,而HCC约占所有肝癌的80%~90%。尽管目前有许多治疗肝癌的方法,包括肝肿瘤切除、肝移植、射频消融等,但治疗效果并不理想,HCC患者预后仍然较差,因此,需要研究新的治疗方法^[1]。而免疫疗法能够特异性的区分肿瘤细胞和非肿瘤细胞,具有根除体内不同部位的全身性肿瘤细胞的能力,在多种恶性肿瘤的治疗中得到应用^[2]。因此,需要研究具有高免疫原性和特异性的生物标志物,作为HCC免疫治疗的靶点。

肿瘤睾丸抗原(CTA),又名癌-睾丸抗原,简称

CT抗原。目前,人类基因组包含200多个CTA基因,分为44个基因家族。根据染色体位置不同,通常分为两类:位于X染色体上的CT-X抗原和位于常染色体上的非XCTA。CTA在大多数癌症中均有表达,并且CTA具有高免疫原性,能够引起癌症患者的体液或细胞免疫反应,使其成为免疫疗法的理想靶标。有研究报道,CTA表达上调与疾病进展和预后较差有关,提示CTA在肿瘤发生、发展中起着关键的作用^[3]。CTA虽然参与配子基因表达谱,也可能呈现出肿瘤表型的确切特征,包括免疫逃避、永生、甲基化不足、侵袭性、破坏性和转移能力。因此,预测CTA作为肿瘤标志物能够极大地帮助疾病的筛查,

* 基金项目:河南省自然科学基金项目(182300410343);河南省科技攻关项目(182102310280)。 作者简介:呼胜楠(1993-),助教,硕士,主要从事肿瘤免疫学的研究。 △ 通信作者,E-mail:xiaoyang@163.com。

作为预后因素,预测疾病的进展和治疗效果^[2,4]。随着 CTA 的不断发现及其在 HCC 中的研究进展,本文将从不同角度讨论 CTA 在 HCC 中的作用。

1 CTA 在 HCC 中的表达

肝癌中大多数 CTA 能够被激活。研究表明,CTA G 抗原 1(GAGE-1)在 43.3% 的 HCC 患者中表达,是最具免疫原性的肿瘤抗原之一,且在 HCC 中的表达高于其他恶性肿瘤^[5]。归类于新的 CTA 家族的 XAGE-1,具有 XAGE-1a、XAGE-1b、XAGE-1c 和 XAGE-1d 4 个转录本变体,其中 XAGE-1b 在肝癌组织中阳性表达率为 41.7%,具有高度特异性和免疫原性,XAGE-1b 蛋白可以被加工与人类白细胞抗原(HLA)-1 分子结合并刺激自体 CD4⁺ T 淋巴细胞反应,因此,XAGE-1b 可用作 HCC 抗原特异性免疫疗法的新靶标^[6]。使用拓扑分析方法获得的影响肝癌预后的中枢基因肿瘤/睾丸抗原 2(CTAG2)是 CTA 家族成员,CTAG2 与 HCC 诊断时的年龄($P=0.003$)、T 分期($P=0.028$)、TNM 分期($P=0.028$)和甲胎蛋白(AFP)表达明显相关($P=0.045$)。因此,推断 CTAG2 可以作为 HCC 治疗潜在的靶标或预后标志物^[7]。NY-ESO-1 作为最具有免疫原性的 CTA 之一,在包含 HCC 在内的不同类型恶性肿瘤中均有表达^[8]。研究发现,与良性病变血浆样品相比,HCC 血浆样品中 CTA 之 CTCFL 启动子的低甲基化比例更高,存在明显差异($P=0.043$),表明无细胞 DNA 中 CTCFL 启动子的低甲基化是监测 HCC 患者的生物标志物,可以用作肿瘤复发的非侵入性预测指标^[9]。

2 CTA 在肝癌中的致癌作用

癌变是一个动态过程,不仅需要癌细胞的致癌特性,而且还取决于器官的有利环境。只有在相互排斥的肿瘤微环境中会发生遗传和表观遗传异常,导致各种原癌基因的激活,从而导致肿瘤的发生、进展和转移^[10]。恶性肿瘤的发生、发展和转移类似于正常多能干细胞和干细胞的自我更新、分化及祖细胞的迁移,类似于发育过程中原始生殖细胞和造血细胞的迁移^[11]。有研究显示,CTA 在正常干细胞和癌干细胞(CSC)中表达,而 CSC 是肿瘤转移的关键参与者,表明 CTA 在不同类型肿瘤的侵袭转移中起重要作用^[12]。

2.1 CTA 促进肝癌细胞增殖或抑制其凋亡

通过比较基因表达谱,进行基于细胞的 RNAi 筛查在 179 个 CT-X 基因中,确定有 9 个基因对 HCC 细胞的增殖和生存至关重要。其中,DUSP21 基因属于编码非典型双重特异性磷酸酶(DUSPs)的成员,在 30% 的 HCC 标本中表达上调。研究表明 DUSP21 基因敲低可明显抑制 HCC 细胞的增殖、集落形成和体内致瘤性,导致细胞周期停滞在 G₁ 期,表明 DUSP21 在维持 HCC 细胞增殖中起重要作用,因此,其可能成为 HCC 治疗的潜在靶点^[13]。有研究发现,CTA 之 OY-TES-1 表达下调能够阻止细胞生长,诱导细胞周

期 G₀/G₁ 期阻滞和细胞凋亡,抑制细胞迁移侵袭,增加凋亡调控蛋白 caspase-3 的表达,并降低细胞周期蛋白 E(cyclin E)及基质金属蛋白酶(MMP)-2、MMP-9 的表达,MMP-2 和 MMP-9 作为相关的锌依赖性蛋白酶家族成员,在肿瘤转移和侵袭中起着很重要的作用,因此,提示 OY-TES-1 基因对 HCC 的免疫治疗具有一定的作用^[14]。

2.2 CTA 促进肝癌细胞侵袭和转移

众所周知,浸润和转移是癌症患者临床预后差和复发率高的主要原因,部分原因与癌细胞的某些特征有关^[15]。CTA 能够增强癌细胞的侵袭转移能力,因此,研究 CTA 在侵袭转移中的作用,对于提高 HCC 患者的治疗成功率至关重要。有研究显示,由 CT83 基因编码的 CTA 之 KK-LC-1 敲低抑制 HCC 细胞的增殖、迁移侵袭及上皮间质转化(EMT),而 KK-LC-1 的过表达可促进 HCC 的恶性表型。低甲基化诱导 KK-LC-1 表达上调通过与 Presenilin-1 结合的 Notch1/Hes1 信号促进 HCC 发展,因此,靶向 KK-LC-1/Presenilin-1/Notch1/Hes1 途径可能是 HCC 分子靶向治疗的候选药物^[16]。此外,生存分析显示 KK-LC-1 过表达与总体生存期较差($P=0.0018$)和高复发率相关($P=0.0128$),其可作为潜在的 HCC 预后指标^[16]。有研究表明,与无门静脉肿瘤血栓形成的 HCC 患者相比,患有门静脉肿瘤血栓形成的 HCC 患者中 NY-ESO-1 的表达具有更高的强度和阳性率,且与无转移的肝癌相比,有转移的肝癌中 NY-ESO-1 表达明显增高,因此,NY-ESO-1 基因可能在肿瘤的侵袭和进展中起重要作用^[17]。肿瘤细胞的侵袭和转移与其运动能力密不可分,而骨架成分介导的黏附作用所提供的锚定力对于细胞运动十分重要。葛丽丽等^[18]研究表明,转染 CTA 基因 FATE/BJ-HCC-2 后肝癌细胞骨架结构发生明显变化,细胞形态呈蝌蚪状,周围有伪足,呈现迁移、游走的状态,干扰 FATE/BJ-HCC-2 表达后肝癌细胞的迁移侵袭能力明显降低,可见 FATE/BJ-HCC-2 能够改变肝癌细胞的骨架结构,从而促进癌细胞的迁移侵袭能力。

3 CTA 作为 HCC 免疫治疗的靶点

免疫治疗干预已成为一种新型的有效治疗方法,可以延缓侵袭性肿瘤的进展并抑制肿瘤的复发和转移,常规疗法与特异性免疫治疗方法的结合可以明显提高 HCC 治疗的效果^[19]。CTA 由于表达器官睾丸的免疫豁免状态,具有高免疫原性和特异性,使其成为肿瘤免疫治疗的优选靶向标志物(简称靶标)^[20]。有研究证实,许多 CTA 在 HCC 中高百分比和特异性表达,有望成为 HCC 抗原特异性免疫治疗的靶标^[17]。

HCC 的免疫治疗中有许多有前途的 CTA 可以被制备成疫苗,如 NY-ESO-1、MAGE-A1、AKAP3、TEK5 等。NY-ESO-1 是癌症疫苗最吸引人的靶标之一。早期研究显示,在 HCC 患者中除了针对 NY-

ESO-1 的特异性 CD4⁺ 和 CD8⁺ T 细胞反应外,还有针对 NY-ESO-1 的特异性抗体反应,且研究表明诱导 NY-ESO-1 特异性 T 细胞反应,能明显增加肝癌细胞体外裂解,表明 NY-ESO-1 可能是 HCC 患者免疫疗法的有用靶标^[17]。研究发现,CTA 基因 FATE/BJ-HCC-2 在肝癌患者中表达的阳性率高达 66% (41/62),且在 7.3% (3/41) 肝癌患者中能够检测到自发产生的针对 FATE/BJ-HCC-2 的抗体应答反应,且 FATE/BJ-HCC-2 的表达与肝癌的分化程度相关,提示 FATE/BJ-HCC-2 可能在 HCC 的发生、发展中起一定的作用^[21]。

基于树突细胞(DC)、基于肿瘤相关抗原肽和基于全细胞的方法是当初癌症疫苗治疗的所有方法。从肿瘤抗原中鉴定出的细胞毒性 T 淋巴细胞(CTL)表位对于开发肿瘤免疫疗法的肽疫苗至关重要。CTA 会以 HLA 限制的方式带来不同的抗原决定簇,因此,对于从 CTA 中鉴定 HLA 限制的 CTL 抗原决定簇能够诱导特定的抗肿瘤免疫反应具有实用价值。基于 DC 通过诱导先天和适应性免疫细胞而触发抗肿瘤反应的作用,CTA 脉冲 DC 已在多项临床试验中用作癌症疫苗^[22]。基于 NY-ESO-1 蛋白 DC 在体外可刺激产生针对 HCC 细胞的抗原特异性 T 细胞反应,因此, NY-ESO-1 可用作晚期 HCC 免疫治疗的潜在靶标^[17]。

4 CTA 作为判断 HCC 预后和诊断的重要标志物

HCC 患者的 5 年生存率小于 20%,预后不良与现有 HCC 分期系统的不准确性有关,这导致患者无法获得足够的个性化治疗和监测。因为在具有相似分期的患者中,复发风险和生存条件之间存在很大的差异^[23]。因此,鉴定合适的生物标志物作为 HCC 潜在治疗靶标十分必要。CTA 基于其独特的限制性表达模式促进其作为生物标志物应用于癌症的检测和随访。CTA 在恶性组织中的表达可用来检测循环 HCC 细胞,作为辅助检测及复发标志物。

黑色素瘤抗原基因(MAGE)家族是由 X 染色体编码的超过 65 个基因组成的多基因家族,在癌症的大多数生物学过程中具有关键性作用,是肿瘤诊断和治疗的潜在新靶标。WEI 等^[24]研究显示,MAGE-A9 在 44% HCC 组织样品中表达水平较高,与非癌组织相比存在明显差异($P=0.005$),其表达水平与肿瘤大小($P=0.011$)和复发率($P=0.009$)明显相关,MAGE-A9 高表达的 HCC 患者预后较差,存活率较低。此外,MAGE-A9 在具有干细胞/祖细胞特征亚型的 HCC 中表达水平较高,能够促进 HCC 细胞的恶性生物学表型,影响患者的肿瘤大小、复发和生存,因此,可能是肝癌干细胞治疗的潜在靶标。有研究显示,CTA 精子相关抗原 9(SPAG9)可以用于 HCC 早期诊断。与肝炎或肝硬化患者和健康对照者相比,HCC 患者的血清中 SPAG9 抗体水平明显较高,与 III

期或 IV 期 HCC 患者相比,II 期患者的血清中 SPAG9 抗体水平明显较高,表明 SPAG9 抗体是潜在的 HCC 早期诊断标志物^[25]。另外,肝硬化患者的抗-SPAG9 IgG 抗体水平明显高于肝炎患者和健康对照者,表明由 SPAG9 引发的肝硬化患者强烈的体液免疫反应可能是癌变的早期标志^[25]。

5 展 望

当前 AFP 作为诊断早期 HCC 患者的单独血清标志物,其诊断的灵敏度和特异度较低,因此,需要开发新的肿瘤标志物用于 HCC 的早期诊断^[26]。而在 AFP 阴性的肝癌中能够观察到 CTA 的特异性表达,提取其 mRNA 作为肿瘤标志物检测循环 HCC 细胞,可作为 HCC 辅助诊断的工具及复发和预后的指标。上述研究表明,CTA 对于 HCC 的发生、发展具有促进作用,并且在 HCC 的早期诊断,预后及复发监测中发挥越来越重要的作用。

CTA 在 HCC 中的高频率表达及高免疫原性,已使其成为 HCC 免疫疗法的理想靶标。然而 CTA 异质性表达,导致不同患者中 CTA 的表达程度不同,成为免疫治疗中的重大障碍。但上述研究中指出,在 HCC 中不同 CTA 同步表达的频率很高,HCC 中多个 CTA 的频繁共表达,为 HCC 提供了多价疫苗接种的可能性,并且暗示了组合 CTA 提高 HCC 免疫治疗的特异性。随着 HCC 中 CTA 功能和机制的深入研究,对于开发针对 HCC 多价疫苗具有重要的作用。针对 CTA 功能的研究可能对将来在肝癌治疗中寻找抗肿瘤策略有益。

参考文献

- [1] ANWANWAN D, SINGH S K, SINGH S, et al. Challenges in liver cancer and possible treatment approaches[J]. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer*, 2020, 1873(1): 1883-14.
- [2] WEI R, DEAN D C, THANINDRATARN P, et al. Cancer testis antigens in sarcoma: Expression, function and immunotherapeutic application[J]. *Cancer Lett*, 2020, 479: 54-60.
- [3] SHIRES K, VAN WYK T. The role of cancer/testis antigens in multiple myeloma pathogenesis and their application in disease monitoring and therapy[J]. *Crit Rev Oncol Hematol*, 2018, 132: 17-26.
- [4] XIE K, FU C, WANG S, et al. Cancer-testis antigens in ovarian cancer: implication for biomarkers and therapeutic targets[J]. *J Ovarian Res*, 2019, 12(1): 1-13.
- [5] CHAO N X, LI L Z, LUO G R, et al. Cancer-testis antigen GAGE-1 expression and serum immunore-

- activity in hepatocellular carcinoma[J]. *Niger J Clin Pract*, 2018, 21(10):1361-1367.
- [6] GONG L, PENG J, CUI Z, et al. Hepatocellular carcinoma patients highly and specifically expressing XAGE-1 exhibit prolonged survival [J]. *Oncol Lett*, 2010, 1(6):1083-1088.
- [7] LIU J, YU Z, SUN M, et al. Identification of cancer/testis antigen 2 gene as a potential hepatocellular carcinoma therapeutic target by hub gene screening with topological analysis[J]. *Oncol Lett*, 2019, 18(5):4778-4788.
- [8] THOMAS R, AL-KHADAIRI G, ROELANDS J, et al. NY-ESO-1 based immunotherapy of cancer: current perspectives [J]. *Front Immunol*, 2018, 9:947.
- [9] CHEN M M, ZHAO R C, CHEN K F, et al. Hypomethylation of CTCFL promoters as a noninvasive biomarker in plasma from patients with hepatocellular carcinoma[J]. *Neoplasma*, 2020, 67(4):909-915.
- [10] YANG Z H, DANG Y Q, JI G. Role of epigenetics in transformation of inflammation into colorectal cancer[J]. *World J Gastroenterol*, 2019, 25(23):2863-2877.
- [11] FANELLI G N, NACCARATO A G, SCATELNA C. Recent advances in cancer plasticity: cellular mechanisms, surveillance strategies, and therapeutic optimization [J]. *Front Oncol*, 2020, 10:569.
- [12] GORDEEVA O. Cancer-testis antigens: Unique cancer stem cell biomarkers and targets for cancer therapy[J]. *Semin Cancer Biol*, 2018, 53:75-89.
- [13] DENG Q, LI K Y, CHEN H, et al. RNA interference against cancer/testis genes identifies dual specificity phosphatase 21 as a potential therapeutic target in human hepatocellular carcinoma[J]. *Hepatology*, 2014, 59(2):518-530.
- [14] FU J, LUO B, GUO W W, et al. Down-regulation of cancer/testis antigen OY-TES-1 attenuates malignant behaviors of hepatocellular carcinoma cells in vitro[J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2015, 8(7):7786-7797.
- [15] ZAVYALOVA M V, DENISOV E V, TASHIREVA L A, et al. Intravasation as a key step in cancer metastasis[J]. *Biochemistry (Mosc)*, 2019, 84(7):762-772.
- [16] CHEN Z, ZUO X, PU L, et al. Hypomethylation-mediated activation of cancer/testis antigen KK-LC-1 facilitates hepatocellular carcinoma progression through activating the Notch1/Hes1 signalling [J]. *Cell Prolif*, 2019, 52(3):e12581.
- [17] SEIFI-ALAN M, SHAMSI R, GHAFOURI-FA RD S. Application of cancer-testis antigens in immunotherapy of hepatocellular carcinoma [J]. *Immunotherapy*, 2018, 10(5):411-421.
- [18] 葛丽丽, 朴军颜, 杨小昂, 等. 沉默 FATE/BJ-HCC-2 基因的表达对肝癌细胞迁移及侵袭的影响 [J]. *郑州大学学报(医学版)*, 2015, 50(6):805-809.
- [19] TIAN M, SHI Y, LIU W, et al. Immunotherapy of hepatocellular carcinoma: strategies for combinatorial intervention [J]. *Sci China Life Sci*, 2019, 62(9):1138-1143.
- [20] TAHERIAN-ESFAHANI Z, DASHTI S. Cancer-testis antigens: an update on their roles in cancer immunotherapy [J]. *Hum Antibodies*, 2019, 27(3):171-183.
- [21] YANG X A, DONG X Y, QIAO H, et al. Immunohistochemical analysis of the expression of FATE/BJ-HCC-2 antigen in normal and malignant tissues [J]. *Lab Invest*, 2004, 85(2):205-213.
- [22] WEI X, CHEN F, XIN K, et al. Cancer-testis antigen peptide vaccine for cancer immunotherapy: progress and prospects [J]. *Transl Oncol*, 2019, 12(5):733-738.
- [23] COURI T, PILLAI A. Goals and targets for personalized therapy for HCC [J]. *Hepatol Int*, 2019, 13(2):125-137.
- [24] WEI Y, WANG Y, GONG J, et al. High expression of MAGE-A9 contributes to stemness and malignancy of human hepatocellular carcinoma [J]. *Int J Oncol*, 2018, 52(1):219-230.
- [25] REN B, ZOU G, XU F, et al. Serum levels of anti-sperm-associated antigen 9 antibody are elevated in patients with hepatocellular carcinoma [J]. *Oncol Lett*, 2017, 14(6):7608-7614.
- [26] LUO P, WU S, YU Y, et al. Current status and perspective biomarkers in AFP negative HCC: towards screening for and diagnosing hepatocellular carcinoma at an earlier stage [J]. *Pathol Oncol Res*, 2020, 26(2):599-603.