

# MAGE-A1 在肿瘤诊断及免疫治疗中的研究进展

陈玉凤(综述),唐 奇,冯振卿\*(审校)

(南京医科大学病理学系,南京医科大学国家卫生健康委员会抗体技术重点实验室,江苏 南京 211166)

**[摘要]** 癌-睾丸抗原(cancer-testis antigens,CTAs)是一组在睾丸和胎盘及恶性肿瘤中表达的肿瘤相关抗原,其高表达可促进肿瘤的发生和发展,与肿瘤不良预后相关,已成为多种肿瘤的生物标志物和免疫治疗的理想靶点。在CTAs中,发现最早和研究最广泛的家族是黑色素瘤相关抗原A(melanoma-associated antigen A,MAGE-A)家族,MAGE-A家族有12个成员(MAGE-A1到MAGE-A12)。本文着重于MAGE-A1的研究,主要对MAGE-A1在肿瘤诊断及免疫治疗方面的进展进行综述。

**[关键词]** 肿瘤;诊断;癌-睾丸抗原;黑色素瘤相关抗原A1 doi:10.3969/j.issn.1007-3205.2024.05.021

**[中图分类号]** R730 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1007-3205(2024)05-0615-07

癌-睾丸抗原(cancer-testis antigens,CTAs)在除睾丸和胎盘外的正常组织中不表达或表达水平极低,在多种肿瘤中异常表达<sup>[1]</sup>。CTAs在多种肿瘤中高表达,其表达上调参与肿瘤细胞的转录调节、有丝分裂、蛋白降解等多种细胞过程,促进肿瘤的发生及发展<sup>[2]</sup>。根据CTAs基因所在的染色体位置,可将CTAs分为两大类:CT-X(编码基因在X染色体,主要分布于Xp11和Xq26-q28区域)和非CT-X(编码基因在常染色体和Y染色体)。CT-X抗原在肿瘤组织中特异性高表达,且具有较强的免疫原性,与肿瘤的关系更为密切<sup>[3]</sup>。CT-X抗原包括黑色素瘤相关抗原(melanoma-associated antigen,MAGE)、肉瘤抗原1(sarcoma antigen 1,SAGE1)、纽约食管鳞状上皮癌抗原1(New York esophageal squamous cell carcinoma 1,NY-ESO-1)等,MAGE-A家族的黑色素瘤抗原A1(melanoma-associated antigen A1,MAGE-A1)是第一个被发现的CTAs。MAGE-A1作为肿瘤生物标志物和免疫治疗靶点受到越来越多的关注。本文就MAGE-A1在肿瘤诊断及免疫治疗方面的研究进展作一综述。

## 1 MAGE-A1 基因的发现及结构特点

到目前为止,已经鉴定出40余种可编码蛋白质

的MAGE基因<sup>[4]</sup>,根据其功能和表达模式分为两大类:MAGE-I和MAGE-II。MAGE-I类包括MAGE-A、MAGE-B和MAGE-C亚族,MAGE-I类属于CTAs基因或癌-生殖细胞基因,除了睾丸外很少在正常组织中表达,但在许多恶性肿瘤中均有不同程度的表达。MAGE-II类包括7个亚族:MAGE-D、MAGE-E、MAGE-F、MAGE-G、MAGE-H、MAGE-L和Necdin亚族,几乎在所有正常组织中普遍表达,但与肿瘤无关<sup>[5]</sup>。

MAGE-A家族有12个成员(MAGE-A1~MAGE-A12),MAGE-A1是第一个被发现的MAGE家族成员。Van der Bruggen等<sup>[6]</sup>最初于1987年在黑色素瘤细胞系中发现一小段由人类白细胞抗原(human leukocyte antigen,HLA)-I类分子递呈的肽段M22-E,1991年用以肿瘤特异性细胞毒T淋巴细胞(cytotoxic lymphocyte,CTL)识别为基础的肿瘤抗原筛选方法从M22-MEL黑色素瘤细胞系中分离出来,起初命名为黑色素瘤抗原1(MAGE-1),后改为MAGE-A1。MAGE-A1基因位于X染色体q28区域<sup>[7]</sup>,NC\_000023.11(153179284-153183880),基因全长4597个核苷酸,含3个外显子和2个内含子,开放阅读框(open reading frame,ORF)位于最后一个外显子中,转录本全长1711个核苷酸,编码的MAGE-A1抗原含309个氨基酸残基。MAGE-A1基因与其他的MAGE-A家族基因序列具有高度的同源性。

## 2 MAGE-A1 基因的表达及调控

2.1 MAGE-A1在胚胎和非肿瘤组织中的表达在生理情况下,MAGE-A1基因的表达仅限于成人

[收稿日期]2022-12-09

[基金项目]国家自然科学基金(82073389)

[作者简介]陈玉凤(1990-),女,江苏宿迁人,南京医科大学基础医学院医学硕士研究生,从事肿瘤免疫治疗与肿瘤分子病理学研究。

\*通信作者。E-mail:fengzhenqing@njmu.edu.cn

睾丸及胚胎发育的早中期<sup>[8]</sup>。GTEx Portal、the Human Protein Atlas 数据库显示 MAGE-A1 主要在成人睾丸中表达,在其他正常组织中几乎不表达。有研究发现在妊娠 9 周时首次在胎儿睾丸中检测到 MAGE-A1 表达,20 周后显著降低;在胎儿卵巢中,于妊娠 13 周时首次检测到且此时表达最强,22 周后明显减弱;在妊娠晚期,MAGE-A1 的表达不超过 1%,在一些标本中则完全检测不到<sup>[8]</sup>。表明 MAGE-A1 可能在精子发生和胚胎发育中发挥重要作用。

另外,有研究报道 MAGE-A1 在 25.2% 非肺癌的慢性吸烟者支气管上皮细胞中表达,表明易感个体长期暴露于香烟烟雾中会激活 MAGE-A1 基因<sup>[9]</sup>。有学者发现 MAGE-A1 在幼年型类风湿性关节炎患者炎性滑膜组织和外周血单核细胞中表达,提示其与自身免疫性疾病有关<sup>[10]</sup>。

**2.2 MAGE-A1 在肿瘤组织中的表达** MAGE-A1 在肿瘤中异质性表达,在多种肿瘤中均有不同程度的表达,不同肿瘤类型的表达阳性率差异有统计学意义。在皮肤黑色素瘤、肺癌、食管鳞癌、头颈部鳞癌等肿瘤中表达阳性率较高;在乳腺癌、胃癌、肝癌等肿瘤中的表达阳性率处于中等水平;在肾癌、胰腺癌、淋巴瘤、滑膜肉瘤、白血病等肿瘤中表达阳性率较低。据报道,MAGE-A1 mRNA 在皮肤黑色素瘤中的阳性率为 16%~90%,中位数为 42%;MAGE-A1 蛋白阳性率为 7.5%~57%,中位数为 27%<sup>[11]</sup>。一项横断面研究发现 MAGE-A1 在 55.44% 肺癌患者中呈阳性表达,在非小细胞肺癌患者中的表达显著高于小细胞肺癌患者(62.5% *vs.* 28.5%)<sup>[12]</sup>。另有文献报道,MAGE-A1 在食管鳞状细胞癌组织中的阳性表达率为 73.6%<sup>[13]</sup>,胃癌为 32.5%<sup>[14]</sup>,乳腺癌为 33%<sup>[15]</sup>,滑膜肉瘤为 15%<sup>[16]</sup>,胰腺癌为 5.66%<sup>[17]</sup>。MAGE-A1 在多种实体肿瘤中都有不同程度的表达,使其成为肿瘤免疫治疗的理想靶点。

在多种肿瘤类型中可观察到 MAGE-A1 的一个表达特征,对于特定的肿瘤类型来说,组织学分级越高、临床分期越晚的肿瘤 MAGE-A1 阳性表达率通常越高,表明其表达与肿瘤的转移和恶性程度有关。例如,在转移性黑色素瘤中发现 MAGE-A1 的阳性表达率为 48%,而原发性黑色素瘤阳性表达率仅为 16%<sup>[18]</sup>。在早期胃癌,MAGE-A1 阳性率为 23.5%,晚期胃癌则为 38.8%<sup>[14]</sup>。MAGE-A1 在一些肿瘤组织中表达上调,且与临床分期和不良预后相关,表明 MAGE-A1 可以作为肿瘤诊断、判断预后的分子标志物。

**2.3 MAGE-A1 表达的调控** MAGE-A1 基因的

表达仅限于癌细胞、睾丸及胚胎发育的早中期。然而,精确调控 MAGE-A1 表达的机制仍不完全清楚,MAGE-A1 基因如何在肿瘤中启动仍有待进一步研究。大量证据表明表观遗传事件包括 DNA 甲基化状态和组蛋白修饰,都有助于调节 MAGE-A1 在男性生殖细胞和肿瘤细胞中的表达<sup>[19]</sup>。MAGE-A1 启动子在体细胞中高度甲基化,而在男性生殖细胞和表达该基因的肿瘤细胞中,大部分是未甲基化的<sup>[20-21]</sup>。参与 MAGE-A1 调控的另一个表观遗传事件是组蛋白翻译后修饰,组蛋白乙酰化可诱导其在肿瘤中表达。DNA 甲基转移酶抑制剂 5-氮杂-2'-脱氧胞苷和组蛋白去乙酰化酶抑制剂曲古抑菌素 A 可重新激活在体细胞中沉默的 MAGE-A1 基因<sup>[22]</sup>,进一步证明 DNA 甲基化和组蛋白乙酰化在 MAGE-A1 转录调控中的重要作用。除此以外,另一种癌睾丸基因 BORIS 和转录因子 Ets-1、Sp1 也可调控 MAGE-A1 基因的表达<sup>[23]</sup>。有研究发现在乳腺癌中,miRNA let-7a 在核酸和蛋白水平均可抑制 MAGE-A1 的表达<sup>[24]</sup>。MAGE-A1 表达的调控机制相当复杂,仍需进行更加深入的研究。

### 3 MAGE-A1 的生物学功能

目前已知 MAGE-A1 具有多种生物学功能,如 MAGE-A1 在精子发生过程中具有积极作用<sup>[25]</sup>,与卵原细胞和生殖母细胞的增殖及分化相关<sup>[8]</sup>等。在恶性肿瘤中,MAGE-A1 是已知的致癌驱动因子,并在肿瘤的形成和发展过程中发挥重要作用。

#### 3.1 MAGE-A1 促进肿瘤细胞的增殖、迁移和侵袭

在大部分肿瘤中,MAGE-A1 与肿瘤的恶性生物学行为呈正相关,研究结果表明 MAGE-A1 异常表达可促进肿瘤细胞的增殖、迁移和侵袭。通过对 MAGE-A1 过表达和敲低的细胞株进行克隆形成、划痕、Transwell 等实验表明:过表达 MAGE-A1 能显著促进肿瘤细胞增殖、克隆形成、迁移和侵袭,而敲除 MAGE-A1 后则相反<sup>[26-27]</sup>。另有文献报道,let-7a 可抑制 MAGE-A1 的表达,从而抑制乳腺癌细胞的增殖、迁移和侵袭<sup>[24]</sup>,这也间接说明 MAGE-A1 可增强乳腺癌细胞的恶性生物学行为。但也有研究得出相悖的结论,发现 MAGE-A1 可抑制乳腺癌和卵巢癌细胞的增殖和迁移<sup>[28]</sup>,具体原因尚不清楚,可能与肿瘤异质性有关。

目前,MAGE-A1 促进肿瘤恶性生物学行为的具体机制仍不明确。有研究表明过表达 MAGE-A1 促进恶性黑色素瘤的进展,涉及广泛的信号通路,包括细胞外信号调节激酶-1 丝裂原活化蛋白激酶 (extracellular signal-regulated kinase-mitogen

activated protein kinase, ERK-MAPK)、白细胞介素(interleukin, IL)-6/8、核转录因子 kappa B(nuclear factor-kappa B, NF- $\kappa$ B)、周期素依赖性蛋白激酶 5(cyclin-dependent kinase 5, CDK5)、肝细胞生长因子(hepatocyte growth factor, HGF)等信号通路的激活及 PTEN 信号通路的抑制<sup>[26]</sup>。另有文献报道, MAGE-A1 可通过 c-Jun 激活 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路促进黑色素瘤的迁移和侵袭<sup>[29]</sup>。

**3.2 MAGE-A1 的表达促进肿瘤细胞耐药** 有研究表明, MAGE-A1 的表达可作为预测胃癌患者对紫杉类化疗耐药的标志物<sup>[30]</sup>。有学者研究发现包括 MAGE-A1 在内的 MAGE-A 亚家族在髓母细胞瘤标本和细胞系中均有表达, 抑制 MAGE-A 家族可诱导髓母细胞瘤的细胞凋亡, 并增加其对某些化疗药物如顺铂和依托泊苷的敏感性<sup>[31]</sup>。另有研究表明 MAGE-A1 mRNA 和蛋白的表达与骨髓瘤患者较短的无进展生存时间相关, MAGE-A1 表达的缺失可使骨髓瘤细胞对帕比司他诱导的细胞死亡更加敏感<sup>[32]</sup>。由此可见, 确定 MAGE-A1 的表达状况有助于评估患者对某些抗肿瘤药物的耐药性。联合检测 MAGE-A1 及相关的耐药基因有助于识别高危患者, 从而帮助医务人员制定合理的、个性化的治疗方案。

#### 4 MAGE-A1 在肿瘤诊断及预后评估中的作用

MAGE-A1 在除成人睾丸外的健康组织中几乎不表达, 在大部分肿瘤组织中有不同程度的表达, 这种表达模式使得 MAGE-A1 可作为诊断指标用于肿瘤的分子诊断。有研究探讨了 7 种抗肿瘤相关抗原自体抗体(anti-tumor associated autoantibodies, TAAs), 包括 MAGE-A1、p53、PGP9.5、SOX2、GBU4-5、CAGE、GAGE7) 联合 3 种肿瘤标志物(CYFRA21-1、NSE、SCCA) 在早期肺癌中的诊断价值。结果显示, 在早期肺癌中, 7 种 TAAs 与 3 种肿瘤标志物联合检测的敏感度为 37.76%, 特异度为 81.84%, 表明这种联合检测方法可用于肺癌的早期诊断<sup>[33]</sup>。有研究团队基于上述 7 种 TAAs、临床信息及影像学特征进一步构建了综合诊断模型, 7 种自身抗体在肺癌检测中的敏感度为 60.7%, 特异度为 81.5%, 在肺结节患者中的敏感度和特异度分别为 59.7% 和 81.1%, 而综合分析临床信息和影像学特征后明显提高了对肺结节的诊断性能, 敏感度升高至 96.4%, 特异度为 79.1%, 表明这种诊断模型对肺癌和肺结节的诊断具有很大潜力<sup>[34]</sup>。

肿瘤中 MAGE-A1 的阳性表达与肿瘤临床病理特征相关, 许多研究证实 MAGE-A1 高表达往往

与多种肿瘤预后不良相关。较多数的研究报道 MAGE-A1 表达与多种癌症的较差的无进展生存时间/总生存时间相关<sup>[35-36]</sup>。MAGE-A1 表达可预测肺癌患者的预后不良结果<sup>[36-37]</sup>; MAGE-A1 在头颈部肿瘤患者中的表达也与肿瘤预后不良相关<sup>[38]</sup>; MAGE-A 家族参与胃癌的进展过程, MAGE-A1 高表达提示胃癌患者预后不良<sup>[35-39]</sup>; MAGE-A1 高表达对乳腺导管原位癌的预后也有预测作用<sup>[40]</sup>。

#### 5 MAGE-A1 用于肿瘤免疫治疗

传统的肿瘤治疗方法以手术、放疗和化疗为主, 但是总体的预后较差。免疫疗法使肿瘤治疗发生了革命性的变化, 已逐渐成为肿瘤治疗的新趋势。肿瘤免疫治疗包括: 治疗性癌症疫苗、抗体药物、过继细胞疗法、溶瘤病毒疗法、细胞因子疗法等<sup>[41]</sup>。MAGE-A1 具有限制性的表达模式及免疫原性, 已经成为肿瘤免疫治疗的一个有吸引力的靶点。

**5.1 治疗性癌症疫苗** 治疗性癌症疫苗旨在引起针对肿瘤特异性抗原(tumor specific antigens, TSAs)或肿瘤相关抗原(tumor associated antigens, TAAs)的免疫反应, 从而促进机体免疫系统杀伤表达这些抗原的癌细胞。治疗性癌症疫苗包括细胞疫苗、DNA 疫苗、mRNA 疫苗、多肽疫苗、蛋白疫苗等<sup>[42]</sup>。目前基于 MAGE-A1 疫苗的主要研究方向为肽类疫苗、mRNA 疫苗、细胞疫苗等。

**5.1.1 肽类疫苗** 肽类疫苗易于制造, 安全, 耐受性好, 但有 HLA 限制性。大多数肽疫苗由主要组织相容性复合体(major histocompatibility complex, MHC) I 限制性短肽组成, 短肽递呈给非专职抗原递呈细胞, 不传递共刺激信号, 不足以有效地启动和激活细胞毒性 T 淋巴细胞, 未显示出临床获益<sup>[43]</sup>。因此, 通常需要新的研发策略来提高疫苗的效力, 如应用有效的免疫佐剂、使用来自不同类型 TAAs 的多肽疫苗、研发长肽疫苗、联合其他免疫方法等。

Patel 等<sup>[44]</sup>开展了长肽疫苗(LPV7, 分别来自酪氨酸酶、gp100、MAGE-A1、MAGE-A10 和 NY-ESO-1)加 Toll 样受体(Toll-like receptor, TLR)激动剂或不伴不完全弗氏佐剂(incomplete Freund's adjuvant, IFA)治疗 II B-IV 期黑色素瘤切除术后患者的 I/II 期临床试验(NCT02126579), 以评估与 IFA、TLR3 和 TLR7/8 激动剂联合使用的新型长肽疫苗的安全性和免疫原性。治疗过程中仅出现 1 例 3 级局部不良反应, 其他不良反应均为 1~2 级, 具有良好的安全性。实验还证明 LPV7 具有免疫原性, 含有 IFA 佐剂组的 T 细胞免疫应答率

和体液免疫应答率均明显高于那些不含 IFA 佐剂组,且 IFA 佐剂组黑色素瘤复发率及病死率明显低于不含 IFA 佐剂组(33% vs. 41%, 9% vs. 24%)。此外,还观察到 TLR3 激动剂联合 IFA 可增强长肽疫苗的免疫原性,但是尚不明确 TLR7/8 激动剂是否也可以增强长肽疫苗的免疫原性。未来有关 MAGE-A1 肽类疫苗设计还需进一步优化抗原肽的类型及形式、递送频率、佐剂和辅助肽的类型等,进一步研究肽疫苗应答与肿瘤微环境的关系。

**5.1.2 mRNA 疫苗** 与肽疫苗相比,mRNA 疫苗可以编码全长肿瘤抗原,不受 HLA 类型的限制,可以被模式识别受体识别从而激活树突状细胞(dendritic cell, DC),并且可以设计为自佐剂<sup>[45]</sup>。与 DNA 疫苗相比,mRNA 疫苗更具有优势:mRNA 可以在分裂和非分裂细胞中翻译;mRNA 疫苗抗原表达的速率和程度通常高于 DNA 疫苗;mRNA 疫苗不会整合到基因组序列中<sup>[46]</sup>。故 mRNA 疫苗是一种安全、很有前途的疫苗类型。

2003—2005 年,有一项 mRNA 疫苗 I/II 期临床试验用于治疗 30 例转移性肾细胞癌患者,以评估疫苗的安全性和有效性,分析患者生存期与 mRNA 疫苗所诱导的免疫反应之间的相关性<sup>[45]</sup>。该 mRNA 疫苗由编码包括 MAGE-A1 在内的 6 种 TAAs 的 mRNA 和佐剂粒-巨噬细胞集落刺激因子组成。未见严重不良发应,疫苗的安全性良好,且可以诱导 CD4<sup>+</sup> 和 CD8<sup>+</sup> T 细胞应答。随后进行了长达 10 年的随访,发现患者的中位生存期远超预期,所有患者平均中位生存期为 24.5 个月,没有高危因素的患者长达 89 个月,且生存期长的患者检测到对 mRNA 疫苗所编码的抗原肽的免疫反应,而没有检测到免疫反应的患者总生存期不超过 33 个月。提示患者生存期和 mRNA 疫苗所诱导的免疫反应呈正相关,编码包括 MAGE-A1 的 mRNA 疫苗安全可行,在一些患者中获得了令人鼓舞的抗肿瘤效果。但是在提高疫苗的稳定性、增加其转录效率和疫苗载体递送效率、选择更有效的佐剂等方面还需进一步优化,未来还需要更深入的临床研究和更广泛的免疫监测。

**5.1.3 细胞疫苗** 基于细胞的疫苗包括 DC 疫苗、T 细胞疫苗等。DC 是机体功能最强的专职抗原递呈细胞,能够高效地吞噬、加工处理癌症抗原并将其呈递给 T 细胞和其他免疫细胞,从而启动有效的癌症特异性免疫反应<sup>[47]</sup>,故 DC 疫苗也是治疗性癌症疫苗的研究焦点。

有一项针对复发难治性神经母细胞瘤和肉瘤患儿的 I 期临床试验研究(NCT01241162),使用低剂

量地西他滨去甲基化以上调肿瘤细胞中的 CTAs 并增加肿瘤细胞对抗原特异性 CTL 的敏感性,随后使用 MAGE-A1、MAGE-A3、NY-ESO-1 重叠肽脉冲的 DC 疫苗<sup>[48]</sup>。15 例患儿参加了这项研究,其中 10 例是可评估的。结果表明普遍耐受性良好,并可在大多数患儿中诱导 T 细胞反应,但均未在接种疫苗后产生针对肽混合物中任何抗原的抗体反应。在接受治疗的 10 例患儿中,7 例患儿在治疗期间进展,1 例在最后一次疫苗接种后 10 个月复发,1 例患儿在最后一次接种疫苗后 2 年内仍保持无病状态,1 例患儿获得了完全缓解。不同的临床反应可能主要与受试者的肿瘤负荷及接种疫苗后诱导的 T 细胞反应类型及强度有关。多项研究证明 DC 疫苗是有效的,但 DC 疫苗仍存在很多局限性,如抗原呈递不足、迁移能力不足和细胞因子释放不足等,还需要进一步优化 DC 体外分离培养条件,促进 DC 分化和成熟,选择更有效的佐剂增强和维持疫苗接种后的抗原特异性细胞免疫反应。

T 细胞疫苗是利用 T 淋巴细胞特异性表位多肽在体外诱导产生特异性的 CTL,再回输体内诱导机体产生特异性的细胞免疫应答。有研究分离前列腺癌患者外周血单个核细胞,使用来自 6 种前列腺癌特异性 TAAs (PSA、PAP、NY-ESO-1、MAGE-A1、MAGE-A3 和 MAGE-A4) 的重叠肽混合物在体外刺激自体 T 细胞,培养 2 周后检测,发现 14 例生化复发的前列腺癌患者中有 8 例出现 TAAs 反应性 CD8<sup>+</sup> T 细胞富集,12 例激素抵抗性转移性前列腺癌患者中有 5 例出现 CD8<sup>+</sup> T 细胞富集<sup>[49]</sup>。研究表明这种个性化多肽介导的 TAAs 反应性效应 T 细胞富集是开发前列腺癌 T 细胞免疫治疗的可行方法,但是否能有客观的临床疗效还需进一步临床试验观察。有效的 T 细胞疫苗需要改善和解决的问题还有很多,如肿瘤的异质性、免疫逃逸、免疫抑制性微环境等。

**5.2 抗体药物** 治疗性抗体也是肿瘤免疫治疗领域的研究热点,随着该领域技术的发展,一些抗体药物取得了突破性进展。治疗性抗体通过结合或中和细胞外靶分子发挥其作用。有研究团队建立了人单链抗体片段(single-chain variable fragment, scFv)文库,利用噬菌体展示技术制备了人抗 MAGE-A1 scFv 和免疫毒素<sup>[50]</sup>。研究结果显示制备的人抗 MAGE-A1 scFv 能与 MAGE-A1 抗原特异性结合,具有良好的亲和力。MAGE-A1 scFv 与相思子毒素 A 偶联在体外能显著抑制 MAGE-A1 阳性肝癌细胞的增殖,诱导肝癌细胞凋亡,表明这种人抗 MAGE-A1 免疫毒素有望成为一种有效的抗肿瘤

药物。Saeed 等<sup>[51]</sup>将装载阿霉素的脂质体与抗 HLA-A1-MAGE-A1 的单链抗体偶联,研究结果表明,与非靶向脂质体相比,MAGE-A1+且 HLA-A1+黑色素瘤细胞对上述靶向脂质体的结合和内化程度提高了 2~5 倍,靶向脂质体在肿瘤组织中的蓄积量提高了 2~2.5 倍且可产生显著的抗肿瘤反应。目前对靶向 MAGE-A1 抗体的初步研究已显示出抗肿瘤效果,具有较好的应用前景,但是尚未有抗体药物的研究进入临床试验阶段。通过阻断单一的靶点通常很难治愈肿瘤,未来可以通过双特异性抗体和抗体偶联药物等新一代治疗性抗体形式以增强 MAGE-A1 抗体的功能,或与其他肿瘤免疫治疗方法联合应用以精准高效地治疗肿瘤。

**5.3 基因工程 T 细胞** 基因工程 T 细胞是指对 T 细胞进行基因改造,使其表达抗原特异性 T 细胞受体(T cell receptor, TCR)或嵌合抗原受体(chimeric antigen receptor, CAR)<sup>[52]</sup>,从而靶向杀伤肿瘤细胞,在癌症免疫治疗中具有巨大的潜力。

**5.3.1 TCR-T 细胞** TCR-T 细胞是通过逆转录病毒或慢病毒载体诱导 T 细胞表达抗原特异性 TCR。TCR 可以识别细胞表面和细胞内的靶标,但受 MHC 限制性<sup>[53]</sup>。TCR-T 细胞疗法有效性的一个关键因素是 TCR 亲和力<sup>[54]</sup>。

Bassan 等<sup>[55]</sup>使用体细胞高频突变的方法优化 MAGE-A1 特异性 TCR 的亲和性,转导至人 T 细胞后显示具有更强的抗肿瘤作用。有研究团队鉴定出七种 MAGE 特异性 TCR,有效靶向 MAGE-A1、MAGE-A3、MAGE-A6 和 MAGE-A9。在小鼠多发性骨髓瘤原位异种移植模型中,使用 MAGE-A1 特异性 TCR-T 细胞治疗可使表达 MAGE-A1 的多发性骨髓瘤细胞完全根除,这表明鉴定出的 TCR 在体内具有很强的抗肿瘤反应性<sup>[56]</sup>。目前有一项靶向 MAGE-A1 的 TCR 修饰的 T 细胞疗法 I/II 期临床试验(NCT05430555)正在招募中,以评估其在 MAGE-A1 阳性的晚期实体肿瘤患者中的安全性、耐受性和抗肿瘤活性。Fred Hutchinson Cancer Center 于 2021 年 7 月 19 日开展了一项靶向 MAGE-A1 的 TCR 修饰 T 细胞联合 PD1 抑制剂阿特珠单抗(Atezolizumab)的 I/II 期临床试验(NCT04639245),用于治疗转移性三阴性乳腺癌、尿路上皮癌或非小细胞肺癌,目前还没有公布临床试验结果,具体的疗效及不良反应需要继续追踪。这项研究为靶向 MAGE-A1 的肿瘤免疫治疗提供了新思路,即联合应用 TCR-T 细胞和免疫检查点抑制剂,以进一步增强其临床疗效。

**5.3.2 CAR-T 细胞** CAR-T 细胞,即利用基因工

程技术构建嵌合抗原受体,通过病毒(逆转录病毒或慢病毒)或非病毒方法,高效转染 T 淋巴细胞。CAR-T 细胞以 MHC 非限制性方式特异性地识别和杀伤肿瘤细胞<sup>[57]</sup>。

CAR-T 细胞免疫疗法在血液系统恶性肿瘤如急性淋巴细胞白血病和淋巴瘤已取得了令人瞩目的临床效果,在结肠癌、乳腺癌等实体瘤中也取得了一些进展<sup>[58]</sup>,但有关靶向 MAGE-A1 的 CAR-T 治疗的研究尚不多见。有研究团队首先筛选和鉴定了人抗 MAGE-A1 scFv<sup>[50]</sup>,在此基础上,制备了一种新的靶向 MAGE-A1 的 CAR-T 细胞(mCART),并对其体外和体内抗肿瘤作用进行了研究<sup>[27]</sup>。体外实验显示,当与 MAGE-A1 阳性的肺腺癌细胞共培养时,mCART 以剂量依赖性的方式介导了显著的细胞杀伤活性,并释放大量细胞因子,包括 IFN- $\gamma$  和 IL-2。体内实验显示 mCART 治疗组的肿瘤体积及重量明显降低,证实了 mCART 能特异性靶向并显著抑制体内 MAGE-A1 阳性的肺腺癌异种移植瘤生长。免疫组织化学显示异种移植瘤中 CD3 的表达高度证明了 mCART 能够渗透到肿瘤中并发挥抑瘤作用。实验结果表明 MAGE-A1 特异性的 CAR-T 细胞免疫疗法可能是治疗 MAGE-A1 阳性肺腺癌的有效策略。这是首次将 MAGE-A1 引入 CAR-T 细胞领域,并展示了 mCART 用于肺腺癌治疗的实用价值,有待进行临床试验验证其疗效。目前 CAR-T 细胞治疗实体瘤总体疗效不佳,原因包括:实体瘤的异质性、CAR-T 细胞难以归巢和定殖在肿瘤组织内、实体瘤免疫抑制微环境、CAR-T 细胞的脱靶效应、T 细胞衰竭等<sup>[59]</sup>。为了提高靶向 MAGE-A1 的 CAR-T 细胞对实体瘤的疗效,还需采取相应策略突破其局限性,包括研发通用细胞因子介导杀伤的重定向 T 细胞(即第四代 CAR-T 细胞)、双特异性 CAR-T 细胞、联合应用针对多个靶点的 CAR-T 细胞(可称为“Cocktail CAR-T 细胞”)等<sup>[60]</sup>。

## 6 小结与展望

MAGE-A1 在除成人睾丸外的正常组织中几乎不表达,在多种肿瘤中异质性表达,是已知的致癌驱动基因,与一些肿瘤的不良预后相关,已成为肿瘤诊断和判断肿瘤预后的生物标志物及肿瘤免疫治疗潜在的靶点。近年来有些靶向 MAGE-A1 的治疗性癌症疫苗、抗体药物、基因工程 T 细胞的临床前研究及 I/II 期临床试验,但尚未应用于临床。相信随着技术的进步及对 MAGE-A1 更深入的研究,未来会有针对 MAGE-A1 的抗体药物或细胞疗法上市,

## 用于治疗 MAGE-A1 阳性实体瘤。

## [参考文献]

- [1] Fan C, Qu H, Wang X, et al. Cancer/testis antigens: from serology to mRNA cancer vaccine[J]. *Semin Cancer Biol*, 2021, 76: 218–231.
- [2] Gibbs ZA, Whitehurst AW. Emerging contributions of cancer/testis antigens to neoplastic behaviors[J]. *Trends Cancer*, 2018, 4(10): 701–712.
- [3] Simpson AJ, Caballero OL, Jungbluth A, et al. Cancer/testis antigens, gametogenesis and cancer[J]. *Nat Rev Cancer*, 2005, 5(8): 615–625.
- [4] Li S, Shi X, Li J, et al. Pathogenicity of the MAGE family[J]. *Oncol Lett*, 2021, 22(6): 844.
- [5] Chomez P, De Backer O, Bertrand M, et al. An overview of the MAGE gene family with the identification of all human members of the family[J]. *Cancer Res*, 2001, 61(14): 5544–5551.
- [6] 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.
- [7] Rogner UC, Wilke K, Steck E, et al. The melanoma antigen gene(MAGE) family is clustered in the chromosomal band Xq28[J]. *Genomics*, 1995, 29(3): 725–731.
- [8] Gjerstorff MF, Kock K, Nielsen O, et al. MAGE-A1, GAGE and NY-ESO-1 cancer/testis antigen expression during human gonadal development[J]. *Hum Reprod*, 2007, 22(4): 953–960.
- [9] Bhutani M, Pathak AK, Tang H, et al. Frequent expression of MAGE1 tumor antigens in bronchial epithelium of smokers without lung cancer[J]. *Exp Ther Med*, 2011, 2(1): 137–142.
- [10] McCurdy DK, Tai LQ, Imfeld KL, et al. Expression of melanoma antigen gene by cells from inflamed joints in juvenile rheumatoid arthritis[J]. *J Rheumatol*, 2002, 29(10): 2219–2224.
- [11] Tio D, Kasiem FR, Willemsen M, et al. Expression of cancer/testis antigens in cutaneous melanoma: a systematic review[J]. *Melanoma Res*, 2019, 29(4): 349–357.
- [12] Fanipakdel A, Seilanian Toussi M, Rezazadeh F, et al. Overexpression of cancer-testis antigen melanoma-associated antigen A1 in lung cancer: A novel biomarker for prognosis, and a possible target for immunotherapy[J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234(7): 12080–12086.
- [13] Yu Y, Huang C, Li Z, et al. Expressions of melanoma-associated antigen A1 as a prognostic factor in Chinese patients with resectable oesophageal squamous cell carcinoma[J]. *Interact Cardiovasc Thorac Surg*, 2019, 29(4): 510–516.
- [14] Futawatari N, Fukuyama T, Yamamura R, et al. Early gastric cancer frequently has high expression of KK-LC-1, a cancer-testis antigen[J]. *World J Gastroenterol*, 2017, 23(46): 8200–8206.
- [15] Matkovič B, Juretič A, Spagnoli GC, et al. Expression of MAGE-A and NY-ESO-1 cancer/testis antigens in medullary breast cancer: retrospective immunohistochemical study[J]. *Croat Med J*, 2011, 52(2): 171–177.
- [16] Iura K, Maekawa A, Kohashi K, et al. Cancer-testis antigen expression in synovial sarcoma: NY-ESO-1, PRAME, MAGEA4, and MAGEA1[J]. *Hum Pathol*, 2017, 61: 130–139.
- [17] 王玲, 幸维, 熊建萍. C-met, MAGE-A1 在胰腺癌中的表达及临床意义[J]. *养生保健指南*, 2019, 18(14): 259.
- [18] Brasseur F, Rimoldi D, Liénard D, et al. Expression of MAGE genes in primary and metastatic cutaneous melanoma[J]. *Int J Cancer*, 1995, 63(3): 375–380.
- [19] 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.
- [20] Liu S, Zhao Y, Xu Y, et al. The clinical significance of methylation of MAGE-A1 and -A3 promoters and expression of DNA methyltransferase in patients with laryngeal squamous cell carcinoma[J]. *Am J Otolaryngol*, 2020, 41(1): 102318.
- [21] De Smet C, Lurquin C, Lethé B, et al. DNA methylation is the primary silencing mechanism for a set of germ line- and tumor-specific genes with a CpG-rich promoter[J]. *Mol Cell Biol*, 1999, 19(11): 7327–7335.
- [22] Steele N, Finn P, Brown R, et al. Combined inhibition of DNA methylation and histone acetylation enhances gene re-expression and drug sensitivity in vivo[J]. *Br J Cancer*, 2009, 100(5): 758–763.
- [23] Schwarzenbach H, Eichelser C, Steinbach B, et al. Differential regulation of MAGE-A1 promoter activity by BORIS and Sp1, both interacting with the TATA binding protein[J]. *BMC Cancer*, 2014, 14: 796.
- [24] Mi Y, Liu F, Liang X, et al. Tumor suppressor let-7a inhibits breast cancer cell proliferation, migration and invasion by targeting MAGE-A1[J]. *Neoplasma*, 2019, 66(1): 54–62.
- [25] Takahashi K, Shichijo S, Noguchi M, et al. Identification of MAGE-1 and MAGE-4 proteins in spermatogonia and primary spermatocytes of testis[J]. *Cancer Res*, 1995, 55(16): 3478–3482.
- [26] Wang D, Wang J, Ding N, et al. MAGE-A1 promotes melanoma proliferation and migration through C-JUN activation[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2016, 473(4): 959–965.
- [27] Mao Y, Fan W, Hu H, et al. MAGE-A1 in lung adenocarcinoma as a promising target of chimeric antigen receptor T cells[J]. *J Hematol Oncol*, 2019, 12(1): 106.
- [28] Zhao J, Wang Y, Mu C, et al. MAGEA1 interacts with FBXW7 and regulates ubiquitin ligase-mediated turnover of NICD1 in breast and ovarian cancer cells[J]. *Oncogene*, 2017, 36(35): 5023–5034.
- [29] 许媛媛, 王晨, 贺赞, 等. MAGEA1 通过激活 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路促进恶性黑色素瘤的转移[J]. *解放军医学院学报*, 2021, 42(2): 182–188, 196.
- [30] Suzuki T, Yoshida K, Wada Y, et al. Melanoma-associated