

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2022.24.010  
文章编号: 1005-8982 (2022) 24-0061-07

临床研究·论著

## 黑色素瘤相关抗原 A6 在肝细胞癌中的表达及与预后的关系\*

焦嫦亮<sup>1</sup>, 郑进方<sup>2</sup>, 郭骏成<sup>3</sup>

(1. 海南科技职业大学, 海南 海口 570000; 2. 海南省人民医院 肝胆外科, 海南 海口 570311; 3. 中南大学湘雅医学院附属海口医院 肝胆外科, 海南 海口 570028)

**摘要: 目的** 探讨黑色素瘤相关抗原 A6 (MAGEA6) 在肝细胞癌 (HCC) 组织中的表达及与预后的关系。  
**方法** 选取 2013 年 2 月—2016 年 10 月海南省人民医院收治入院的 120 例 HCC 患者为研究对象。分析受试者的年龄、性别、饮酒史、甲胎蛋白 (AFP)、肿瘤直径、分化程度、TNM 分期、肝功能 Child-Pugh 分级、淋巴结转移等临床资料。采用实时荧光定量聚合酶链反应检测 MAGEA6 和 AMPK mRNA 的表达, 免疫组织化学法检测 MAGEA6 蛋白的表达。根据肿瘤组织 MAGEA6 mRNA 相对表达量的中位值, 将 HCC 患者分为 MAGEA6 低表达组和高表达组。比较两组患者的临床病理特征, 绘制两组患者的 Kaplan-Meier 生存曲线, 采用一般多因素 Cox 回归分析影响 HCC 患者预后的独立危险因素, Pearson 法分析 MAGEA6 mRNA 与 AMPK mRNA 表达的相关性。  
**结果** 肿瘤组织 MAGEA6 mRNA 相对表达量、MAGEA6 阳性率、MAGEA6 蛋白免疫组织化学法评分高于癌旁组织 ( $P < 0.05$ )。MAGEA6 低表达组与高表达组 HCC 患者的年龄、性别、饮酒史、分化程度、Child-Pugh 分级比较, 差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。两组在 AFP、肿瘤直径、TNM 分期、淋巴结转移方面比较, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。MAGEA6 高表达组生存率低于低表达组 ( $P < 0.05$ )。一般多因素 Cox 回归分析结果显示, AFP [ $\hat{HR} = 2.183$  (95% CI: 1.117, 4.267)]、TNM 分期 [ $\hat{HR} = 2.203$  (95% CI: 1.174, 4.133)]、MAGEA6 mRNA [ $\hat{HR} = 6.328$  (95% CI: 1.516, 26.404)] 是影响 HCC 患者预后的独立危险因素 ( $P < 0.05$ )。肿瘤组织 AMPK mRNA 相对表达量低于癌旁组织 ( $P < 0.05$ )。AMPK mRNA 与 MAGEA6 mRNA 表达呈负相关 ( $r = -0.680$ ,  $P = 0.000$ )。  
**结论** MAGEA6 基因在肝细胞癌中高表达, 是 HCC 患者预后的危险因素, 其可能通过 AMPK 信号通路在 HCC 中发挥促癌作用。

**关键词:** 肝细胞癌; 黑色素瘤相关抗原 A6; 腺苷酸活化蛋白激酶; 预后; 临床病理特征; 危险因素

**中图分类号:** R735.7

**文献标识码:** A

## Expression of melanoma-associated antigen A6 in hepatocellular carcinoma and its relationship with prognosis\*

Chang-liang Jiao<sup>1</sup>, Jin-fang Zheng<sup>2</sup>, Jun-cheng Guo<sup>3</sup>

(1. Hainan Vocational University of Science and Technology, Haikou, Hainan 570000, China; 2. Hainan Provincial People's Hospital, Haikou, Hainan 570311, China; 3. Haikou Hospital, Xiangya School of Medicine, Central South University, Haikou, Hainan 570028, China)

**Abstract: Objective** To explore the expression of melanoma-associated antigen A6 (MAGEA6) in hepatocellular carcinoma (HCC) tissues and its relationship with HCC prognosis. **Methods** A total of 120 HCC patients treated in Hainan Provincial People's Hospital from February 2013 to October 2016 were enrolled. The

收稿日期: 2022-09-08

\* 基金项目: 海南省自然科学基金面上项目 (No: 821MS060); 海南省重点研发计划项目 (No: ZDYF2016115)

[通信作者] 郭骏成, E-mail: g2002m@163.com; Tel: 13707587018

clinical data including age, sex, history of alcohol consumption, alpha fetoprotein (AFP) level, diameter of tumor, degree of tumor differentiation, TNM stage, Child-Pugh grade, and lymph node metastasis were recorded. The mRNA expressions of MAGEA6 and AMPK were detected via qPCR, and the protein expression of MAGEA6 was measured by immunohistochemistry (IHC). According to the median of the mRNA expression of MAGEA6 in HCC tissues, HCC patients were divided into MAGEA6 low-expression group and MAGEA6 high-expression group. The clinicopathological characteristics of HCC patients were compared between the two groups. Kaplan-Meier curves were used to analyze the cumulative survival rates of patients in the two groups. The independent prognostic factors of HCC were determined by multivariable Cox regression models. The correlation between MAGEA6 mRNA and AMPK mRNA was analyzed by the Pearson method. **Results** The relative mRNA expression of MAGEA6, the positive rate of MAGEA6, and the IHC score of MAGEA6 in tumor tissues of HCC patients were higher than those in adjacent tissues ( $P < 0.05$ ). There was no significant difference in age, sex, history of alcohol consumption, the degree of tumor differentiation, and Child-Pugh grade between the MAGEA6 low-expression group and MAGEA6 high-expression group ( $P > 0.05$ ), while they differed in AFP level, diameter of tumor, TNM stage, and lymph node metastasis ( $P < 0.05$ ). The survival rate of MAGEA6 high-expression group was lower than that of MAGEA6 low-expression group ( $P < 0.05$ ). The multivariable Cox regression analysis revealed that AFP level [ $\hat{HR} = 2.183$  (95% CI: 1.117, 4.267)], TNM stage [ $\hat{HR} = 2.203$  (95% CI: 1.174, 4.133)], and mRNA expression of MAGEA6 [ $\hat{HR} = 6.328$  (95% CI: 1.516, 26.404)] were independent risk factors for the prognosis of HCC patients ( $P < 0.05$ ). The relative mRNA expression of AMPK in tumor tissues was lower than that in the adjacent tissues ( $P < 0.05$ ). The AMPK mRNA level was negatively correlated with MAGEA6 mRNA level ( $r = -0.680$ ,  $P = 0.000$ ). **Conclusions** MAGEA6 gene is highly expressed in HCC, and represents a risk factor for HCC prognosis, which may be associated with the AMPK signaling pathway.

**Keywords:** hepatocellular carcinoma; melanoma-associated antigen A6; AMP-activated protein kinase; prognosis; clinicopathological characteristic; risk factor

肝细胞癌 (hepatocellular carcinoma, HCC) 是一种难以治愈的恶性肿瘤<sup>[1]</sup>, 为全球第 6 大最常见的癌症, 是全球癌症相关死亡的第 2 大原因<sup>[2]</sup>。同时也是我国常见的恶性肿瘤之一, 致死率极高。原发性肝癌分为肝内胆管癌、HCC、纤维板层癌及肝母细胞癌, 其中 HCC 占 85% ~ 90%<sup>[3]</sup>。引发 HCC 的主要危险因素是慢性乙型和丙型肝炎病毒感染、过量饮酒、黄曲霉毒素暴露、非酒精性脂肪肝等生理状态、糖尿病等<sup>[4]</sup>。早期肝癌可通过肝移植进行治疗<sup>[1]</sup>。然而 HCC 患者在诊断时通常处于晚期, 晚期患者的预后并不理想。目前 HCC 的临床诊断和预后标志物仍较少, 亟需探寻准确、敏感的生物标志物评估患者预后。

黑色素瘤抗原家族 (melanoma-associated antigen A, MAGEA) 是一类肿瘤抗原基因, 包含从 MAGEA 1 ~ 12 亚型的 12 个家族成员, 其在多种恶性肿瘤组织中特异性高表达。如 MAGEA10 在早期肝癌复发患者中高表达, 是很有潜力的预测指标<sup>[5]</sup>。MAGEA4 在非小细胞肺癌细胞中表达, 其过表达后, 细胞凋亡水平降低<sup>[6]</sup>。MAGEA3 在宫颈癌组织

中高表达, 且表达水平与宫颈癌的临床分期、淋巴结转移呈正相关<sup>[7]</sup>。MAGEA1 在喉鳞癌组织中特异性高表达, 是喉癌免疫治疗的靶基因之一<sup>[8]</sup>。MAGEA2 在肺癌细胞中高表达, 并促进癌细胞生长<sup>[9]</sup>。黑色素瘤相关抗原 A6 (melanoma-associated antigen A6, MAGEA6) 属于 MAGE 家族成员, 是肿瘤疾病中的一种高表达基因, 可参与基因调控和转录, 影响细胞增殖、生长、分化、衰老和死亡等进程<sup>[10]</sup>, 在食管鳞癌中高表达, 可使癌细胞产生顺铂化疗抵抗<sup>[11]</sup>。本课题前期对 HCC 表达芯片进行差异分析, 发现 MAGEA6 基因在 HCC 中明显上调<sup>[12]</sup>, 但其临床价值和作用机制尚不明确。腺苷活化蛋白激酶 (AMP-activated protein kinase, AMPK) 是真核细胞中广泛存在的与能量代谢相关的激酶, 可调节肿瘤的能量代谢, 影响肿瘤发展<sup>[13]</sup>。本课题前期研究结果表明, MAGEA6 可介导 AMPK 信号通路的激活<sup>[12]</sup>。因此本研究拟探讨 MAGEA6 在 HCC 中的表达及与预后的关系, 并进一步探究其发挥促癌作用的机制, 为 HCC 的治疗和预防提供新思路。

## 1 资料与方法

### 1.1 临床资料

选取 2013 年 2 月—2016 年 10 月海南省人民医院收治入院的 HCC 患者 120 例作为研究对象。本研究经医院学术伦理委员会审批同意, 所有参与本研究的患者被充分告知本研究的目的, 并在采样前签署知情同意书。

### 1.2 纳入与排除标准

**1.2.1 纳入标准** ①有 HCC 典型临床表现; ②经病理组织学或细胞学确诊为 HCC 且为初次确诊; ③近期未接受放化疗或免疫治疗等抗肿瘤治疗; ④病理及随访资料完整。

**1.2.2 排除标准** ①合并其他部位恶性肿瘤; ②高血压、高血脂或高血糖未良好控制; ③严重心、肾、肺等功能不全; ④肝功能 Child-Pugh C 级; ⑤孕妇或哺乳期女性; ⑥无法定期跟进者。

### 1.3 主要仪器与试剂

**1.3.1 主要仪器** -80℃ 冰箱(上海冠森生物科技有限公司), ELx 800 酶标仪(美国 Bio-Rad 公司), ABI7900HT fast PCR real-time system(美国 Applied Biosystems 公司), 显微镜(日本奥林巴斯公司)。

**1.3.2 主要试剂** 液氮(上海熙勤气体有限公司), AFP 定量检测试剂盒及其配套试剂(厦门英科新创科技有限公司), TRIzol 试剂(美国 Invitrogen 公司), PrimeScript RT 试剂盒、SYBR<sup>®</sup> Premix Ex Taq<sup>™</sup> II(日本 TaKaRa 公司), 3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>(上海哈灵生物科技有限公司), anti-MAGEA6(ab126656)、二抗山羊抗兔 IgG(ab6728)购自美国 Abcam 公司, 二氨基联苯胺(Diaminobenzidine, DAB)(美国 Amresco 公司)。

### 1.4 数据和标本采集

统计受试者的年龄、性别、饮酒史、甲胎蛋白(alpha-fetoprotein, AFP)、肿瘤直径、分化程度、TNM 分期、肝功能 Child-Pugh 分级、淋巴结转移等临床资料。其中, AFP ≤ 20 ng/mL 为阴性, AFP > 20 ng/mL 为阳性。按 Child-Pugh 分级将 HCC 患者分为 A、B 级。HCC 患者手术后立即取 HCC 组织, 同时取距 HCC 组织 > 5 cm 的正常肝组织为癌旁组织, 快速冷冻于液氮中, 置于 -80℃ 冰箱备用。

### 1.5 酶联免疫吸附试验检测 AFP

采用 AFP 定量检测试剂盒及其配套试剂检测

HCC 组织及癌旁组织中 AFP 水平<sup>[14]</sup>。标准品设定 6 孔, 每孔各加入不同浓度的标准品 100 μL, 空白 1 孔, 质控品 2 孔, 加入阴阳质控品各 50 μL, 检测孔加 50 μL 待测血清, 振荡混匀后封板, 37℃ 温育 30 min, 用配套洗液手工洗板 5 次, 甩干后每孔加入酶结合物 100 μL(空白孔除外), 37℃ 温育 30 min, 洗液洗板 5 次后分别滴加显色液 A、B 各 50 μL, 充分混匀, 37℃ 温育 15 min 后使用 ELx 800 酶标仪在 450 nm 处进行定量分析。

### 1.6 实时荧光定量聚合酶链反应检测 MAGEA6 和 AMPK mRNA 的表达

采用 TRIzol 试剂从 HCC 组织和癌旁组织中提取总 RNA。用 PrimeScript RT 试剂盒将总 RNA 转录为 cDNA, 光谱法测定 RNA 样品的浓度和纯度。使用 SYBR<sup>®</sup> Premix Ex Taq<sup>™</sup> II 在 ABI7900HT fast PCR real-time system 上进行实时荧光定量聚合酶链反应(quantitative real-time polymerase chain reaction, qRT-PCR)。反应条件: 94℃ 预变性 10 min, 94℃ 变性 45 s, 60℃ 退火 45 s, 72℃ 延伸 45 s, 40 个循环<sup>[15]</sup>。以 GAPDH 为内参基因, 采用 2<sup>-ΔΔCt</sup> 法计算各基因经内参标准化的相对水平。引物由上海生工生物工程股份有限公司合成, 引物序列见表 1。

表 1 qRT-PCR 引物序列

基因	引物序列	引物长度/bp
MAGEA6 mRNA	正向: 5'-AAAGGCAGAAATGCTGGGGAG-3' 反向: 5'-AGGCAGGTGGCAAAGATGTACAC-3'	53
AMPK mRNA	正向: 5'-TTCGGGAAAGTGAAGCTGGG-3' 反向: 5'-TCTCTCTGCGGATTTTCCCG-3'	53
GAPDH	正向: 5'-AGAAGGCTGGGGCTCATTTG-3' 反向: 5'-AGGGGCCATCCACACTCTTC-3'	54

### 1.7 免疫组织化学法检测 MAGEA6 蛋白的表达

在石蜡切片上采用标准的三步链霉亲和素-生物素复合物免疫组织化学法评估 MAGEA6 蛋白在 HCC 肿瘤组织和癌旁组织中的表达<sup>[16]</sup>。首先采用甲醛固定肿瘤组织和癌旁组织, 石蜡包埋、切片, 在二甲苯和一定浓度梯度的乙醇中进行脱蜡和复水, 然后置于蒸馏水中, 用 3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 处理切片以抑制内源性过氧化酶活性。随后将 4.5 μm 厚切片与 anti-MAGEA6 在 37℃ 条件下孵育 2 h, PBS 缓冲液冲洗,

二抗山羊抗兔 IgG 于室温下孵育切片 1 h, PBS 冲洗, 随后切片与 DAB 试剂反应数秒, 苏木精复染, 在一定梯度乙醇和二甲苯中脱水, 将切片用胶固定, 在显微镜下观察。由 2 位副高职称以上的病理科医师进行双盲阅片, 独立评分。MAGEA6 定位于胞浆, 在排除特异性染色的情况下, 当显微镜下定位的阳性区域出现清晰可见的黄色颗粒时即为阳性细胞, 在 5 个高倍视野 ( $\times 200$ ) 下观察。①染色强度评分标准: 肿瘤细胞无色为 0 分, 淡黄色为 1 分, 棕黄色 2 分, 棕褐色 3 分; ②阳性细胞数评分标准: 无阳性细胞为 0 分, 1% ~ 25% 为 1 分, 25% ~ >50% 为 2 分, >50% ~ 75% 为 3 分, > 75% 为 4 分。最终得分=染色强度评分  $\times$  阳性细胞数评分。

### 1.8 随访

采用电话或临床复查方式对 HCC 患者随访 5 年。随访开始时间为患者出院时间, 第 1 年每隔 3 个月随访 1 次, 后 4 年每隔 4 个月随访 1 次。总生存期 (overall survival, OS) 为患者出院至死亡或随访截止的时间。

### 1.9 统计学方法

数据分析采用 SPSS 21.0 和 GraphPad Prism 8.0.1 统计软件。计数资料以构成比或率 (%) 表示, 比较用  $\chi^2$  检验, 计量资料以均数  $\pm$  标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 两组比较用  $t$  检验; 采用 Kaplan-Meier 法绘制生存曲线, 比较用 Log-rank  $\chi^2$  检验; 相关性分析用 Pearson 法; 影响因素的分析用一般多因素 Cox 回归模型。  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 MAGEA6 基因在 HCC 患者肿瘤组织中高表达

HCC 患者肿瘤组织、癌旁组织 MAGEA6 mRNA 相对表达量分别为  $(1.506 \pm 0.228)$  和  $(1.018 \pm$

$0.193)$ , 经  $t$  检验, 差异有统计学意义 ( $t = 17.92, P = 0.000$ ), 肿瘤组织 MAGEA6 mRNA 相对表达量高于癌旁组织。根据肿瘤组织 MAGEA6 mRNA 相对表达量的中位值, 将 HCC 患者分为 MAGEA6 低表达组和高表达组。

### 2.2 癌旁组织与肿瘤组织 MAGEA6 蛋白表达比较

HCC 肿瘤组织 MAGEA6 蛋白表达阳性 98 例, 阴性 22 例; 癌旁组织 MAGEA6 蛋白表达阳性 14 例, 阴性 106 例, 经  $\chi^2$  检验, 差异有统计学意义 ( $\chi^2 = 118.11, P = 0.000$ ), 肿瘤组织 MAGEA6 蛋白表达阳性率高于癌旁组织。肿瘤组织、癌旁组织 MAGEA6 蛋白表达阳性评分分别为  $(6.77 \pm 2.71)$  分和  $(1.44 \pm 0.68)$  分, 经  $t$  检验, 差异有统计学意义 ( $t = 20.90, P = 0.000$ ), 肿瘤组织 MAGEA6 蛋白表达阳性评分高于癌旁组织。

### 2.3 MAGEA6 表达与 HCC 患者临床病理特征的关系

MAGEA6 低表达组与高表达组 HCC 患者的年龄、性别、饮酒史、分化程度、Child-Pugh 分级比较, 差异均无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。两组的 AFP、肿瘤直径、TNM 分期、淋巴结转移比较, 差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。见表 2。

### 2.4 MAGEA6 表达 HCC 患者的生存分析

随访期内, 47 例患者在随访终点已死亡, 其中 MAGEA6 高表达组死亡 35 例, 低表达组死亡 12 例, MAGEA6 高表达组、低表达组的生存率分别为 41.67% 和 80.01%, 经 Log-rank  $\chi^2$  检验, 差异有统计学意义 ( $\chi^2 = 19.960, P = 0.000$ ), MAGEA6 高表达组生存率低于低表达组。见图 1。

### 2.5 影响 HCC 患者预后的独立危险因素

结合表 2 及先前报道的影响 HCC 的可能危险因素<sup>[17-18]</sup>, 以患者是否死亡为因变量, 将年龄、性别、AFP、肿瘤直径、TNM 分期、淋巴结转移、MAGEA6

表 2 MAGEA6 低表达组与高表达组 HCC 患者的临床病理特征比较 ( $n = 60$ , 例)

组别	年龄		男/女	饮酒史		AFP		肿瘤直径	
	$\leq 55$ 岁	$> 55$ 岁		有	无	$\leq 20$ ng/mL	$> 20$ ng/mL	$\leq 5$ cm	$> 5$ cm
MAGEA6 低表达组	16	44	37/23	28	32	33	27	39	21
MAGEA6 高表达组	21	39	41/19	33	27	21	39	22	38
$\chi^2$ 值	0.977		0.586	0.834		4.848		9.636	
$P$ 值	0.323		0.444	0.361		0.028		0.002	

续表 2

组别	分化程度		TNM 分期		Child-Pugh 分级		淋巴结转移	
	低分化	高、中分化	I 期	II/III 期	A 级	B 级	有	无
MAGEA6 低表达组	52	8	41	19	34	26	25	35
MAGEA6 高表达组	47	13	28	32	39	21	40	20
$\chi^2$ 值	1.443		5.763		0.874		7.552	
P 值	0.230		0.016		0.350		0.006	

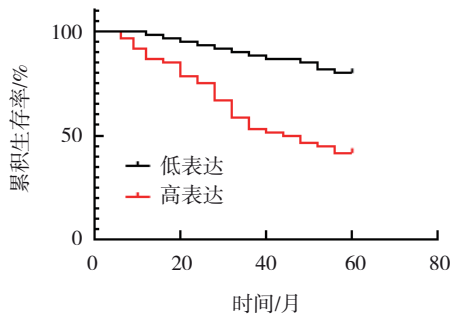


图 1 MAGEA6 低表达组与高表达组 HCC 患者的生存曲线

mRNA 为自变量, 进行一般多因素 Cox 回归分析。结果显示: 在调整年龄、性别、AFP、肿瘤直径、TNM 分期、淋巴结转移等因素后, AFP、TNM 分期、MAGEA6 mRNA 表达是影响 HCC 患者预后的独立危险因素 ( $P < 0.05$ )。见表 3、4。

表 3 赋值表

因素	赋值
Y	预后情况 y = 1 死亡, y = 0 生存
$X_1$	年龄 $\leq 55$ 岁 = 0, $> 55$ 岁 = 1
$X_2$	性别 女 = 0, 男 = 1
$X_3$	AFP $\leq 20$ ng/mL = 0, $> 20$ ng/mL = 1
$X_4$	肿瘤直径 $\leq 5$ cm = 0, $> 5$ cm = 1
$X_5$	TNM 分期 I 级 = 0, II、III 级 = 1
$X_6$	淋巴结转移 有 = 1, 无 = 0
$X_7$	MAGEA6 mRNA 连续变量

### 2.6 AMPK mRNA 与 MAGEA6 mRNA 表达的相关性

肿瘤组织、癌旁组织 AMPK mRNA 相对表达量分别为  $(0.722 \pm 0.179)$  和  $(1.021 \pm 0.206)$ , 经  $t$  检验, 差异有统计学意义 ( $t = 12.00, P = 0.000$ ), 肿瘤组织 AMPK mRNA 相对表达量低于癌旁组织。Pearson 相关分析显示, AMPK mRNA 与 MAGEA6 mRNA 表达呈负相关 ( $r = -0.680, P = 0.000$ )。见图 2。

表 4 影响 HCC 患者预后的一般多因素 Cox 回归分析参数

自变量	P 值	HR	95% CI	
			下限	上限
年龄	0.786	1.098	0.560	2.154
性别	0.873	0.950	0.504	1.789
AFP	0.022	2.183	1.117	4.267
肿瘤直径	0.163	1.559	0.836	2.909
TNM 分期	0.014	2.203	1.174	4.133
淋巴结转移	0.936	1.027	0.531	1.987
MAGEA6 mRNA	0.011	6.328	1.516	26.404

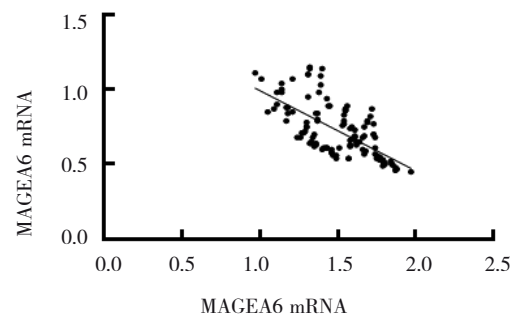


图 2 MAGEA6 与 AMPK mRNA 表达的相关性

### 3 讨论

HCC 是最常见的肝癌类型, 约占 80%<sup>[19]</sup>。其在全球癌症发病率中排名第 6, 占癌症死亡总人数的 8.2%。以往有许多研究报道了 HCC 的病理机制, 表明 HCC 不仅与多种基因关联的细胞信号通路有关<sup>[20]</sup>, 而且与外泌体、自噬、Toll 样受体有关<sup>[21]</sup>。尽管 HCC 治疗方法较多, 包括手术切除、肝移植、放射性栓塞、放射治疗和分子靶向治疗<sup>[22]</sup>, 但是 HCC 发病较为隐匿, 其预后仍不理想, 这主要与高复发率有关。

有研究报道, AFP 是目前诊断 HCC 最常见的标志物<sup>[23]</sup>, 但其特异性和敏感性较低。有研究报道,

近 30% HCC 患者血清 AFP 处于正常水平, > 70% HCC 患者的 AFP 水平高于 20 ng/mL, 而有些慢性病毒性肝炎患者的 AFP 为 10 ~ 500 ng/mL, 甚至达到 1 000 ng/mL, 因此 AFP 水平与 HCC 并无明显相关性<sup>[24]</sup>, 因此, 需要进一步寻找可靠的 HCC 预后生物标志物。MAGEA6 位于人 X 染色体上, 分子量为 35 kD。MAGEA6 与肿瘤细胞活力密切相关, 下调 MAGEA6 蛋白可抑制肿瘤生长<sup>[25]</sup>。有研究报道, MAGEA6 可抑制自噬, 促进胰腺癌的发生<sup>[26]</sup>。另外, MAGEA6 在肺腺癌中有较高的表达水平<sup>[27]</sup>, 且其在胃癌组织中高表达, MAGEA6 高表达患者预后较差<sup>[28]</sup>。MAGEA6 可能与 HCC 的发展密切相关, 其参与 HCC 干细胞的自我更新和干性维持, 沉默 MAGEA6 可抑制肿瘤细胞的菌落形成, 以及迁移和侵袭能力<sup>[12]</sup>。此外, 有研究发现, MAGEA6 是一种肝癌相关标志物<sup>[29]</sup>。本研究结果表明, 肿瘤组织 MAGEA6 mRNA 相对表达量高于癌旁组织。焦龙先等<sup>[30]</sup>也证实 MAGEA9 mRNA 在肝癌组织表达上调, 推测 MAGEA9 基因在维持肝癌细胞的恶性表型中发挥重要作用。且钱茹<sup>[31]</sup>报道沉默 MAGEA3 可增强肝癌细胞对化疗药物的敏感性。本研究结果表明, MAGEA6 mRNA 相对表达量与 AFP、肿瘤直径、TNM 分期、淋巴结转移有关。

肝癌患者的整体预后仍然较差, 影响预后的因素较多, 主要包括患者因素、肿瘤本身因素、治疗因素等。血清 AFP、CA199 和 CEA 水平可作为 HCC 诊断标志物, 在 HCC 预后评估上有重要的临床价值。miR-889 高表达也预示 HCC 预后不良, 其与 TNM 分期、肝硬化等有关<sup>[32]</sup>。此外, HCC 患者中 RRM2、FTCD、CYP2C9 等差异表达基因也与 HCC 预后有关<sup>[33]</sup>。NTF3 在 HCC 中低表达, 是 HCC 患者的一个独立预后因素<sup>[34]</sup>。在有血管浸润的 HCC 患者中, NCAPG 上调也与不良预后有关<sup>[35]</sup>。本研究对出院的 HCC 患者进行为期 5 年的随访, 发现 MAGEA6 mRNA 高表达组患者生存率明显低于低表达组, 提示不良预后。并且一般多因素 Cox 回归分析发现 MAGEA6 基因高表达是影响 HCC 患者预后的独立危险因素之一, 这为 HCC 预后评判提供了新的参考指标。还有研究报道, MAGEA6 是一种癌症特异性泛素连接酶, 可促进肿瘤抑制剂 AMPK 的降解<sup>[10]</sup>。本课题前期研究发现, miR-448 通过靶向下调

MAGEA6 的表达而激活 AMPK 信号通路, 从而抑制 HCC 细胞的球体形成、菌落生长、迁移和侵袭能力<sup>[16]</sup>。基于此, 笔者进一步在临床样本中检测 AMPK mRNA 表达, 发现 HCC 组织 AMPK mRNA 相对表达量明显低于癌旁组织, 且与 MAGEA6 mRNA 表达呈负相关, 因此推测 MAGEA6 可能通过抑制 AMPK 信号通路的激活, 在 HCC 中发挥促癌作用。

综上所述, 本研究首次探讨了 MAGEA6 在肝癌中的表达及与预后的关系, 但是, 本研究仅检测了一个时间点 MAGEA6 的表达, 下一步可动态监测 MAGEA6 的表达。且纳入分析的病例数和事件数相对较少, 未来研究中可以进一步扩大临床样本量, 开展多中心、大规模的研究, 以进一步明确 MAGEA6 对 HCC 的预后评估价值。此外, 本研究初步检测了 HCC 组织 AMPK mRNA 表达, 推测 MAGEA6 可能通过 AMPK 信号通路在 HCC 中发挥促癌作用, 未来可进行更多的分子机制探讨, 进一步分析 MAGEA6 影响 HCC 患者预后的病理生理机制。

#### 参 考 文 献 :

- [1] WANG Q M, HUANG J, ZHANG H H, et al. Identification and analysis of immune-related subtypes of hepatocellular carcinoma [J]. *Exp Biol Med* (Maywood), 2021, 246(6): 667-677.
- [2] HOU G J, DING D Y, TIAN T, et al. Metabolomics-based classification reveals subtypes of hepatocellular carcinoma[J]. *Mol Carcinog*, 2022, 61(11): 989-1001.
- [3] ZHOU Y L, LIU F, MA C Y, et al. Involvement of microRNAs and their potential diagnostic, therapeutic, and prognostic role in hepatocellular carcinoma[J]. *J Clin Lab Anal*, 2022, 36(10): e24673.
- [4] VILLANUEVA A. Hepatocellular carcinoma[J]. *N Engl J Med*, 2019, 380(15): 1450-1462.
- [5] FUJIYA K, TERASHIMA M, OHSHIMA K, et al. MAGEA10 expression is a predictive marker of early hepatic recurrence after curative gastrectomy for gastric and gastroesophageal junction cancer[J]. *Gastric Cancer*, 2021, 24(2): 341-351.
- [6] FUJIWARA-KURODA A, KATO T, ABIKO T, et al. Prognostic value of MAGEA4 in primary lung cancer depends on subcellular localization and p53 status[J]. *Int J Oncol*, 2018, 53(2): 713-724.
- [7] 李青. MAGE-A3 基因对宫颈癌细胞增殖及凋亡的作用研究[D]. 保定: 河北大学, 2020.
- [8] 田俊, 王斌全, 夏立军, 等. 喉鳞癌组织 MAGEA1 和 MAGEA3 蛋白表达及其生物学意义的研究[J]. *中华肿瘤防治杂志*, 2011, 18(6): 432-435.
- [9] UJIIE H, KATO T, LEE D, et al. Overexpression of MAGEA2 has a prognostic significance and is a potential therapeutic target for

- patients with lung cancer[J]. *Int J Oncol*, 2017, 50(6): 2154-2170.
- [10] PAN S J, REN J, JIANG H, et al. *MAGEA6* promotes human glioma cell survival via targeting AMPK $\alpha$ 1[J]. *Cancer Lett*, 2018, 412: 21-29.
- [11] 段晶晶. *MAGEA6* 调控 Caspase-1 介导的细胞焦亡而影响食管鳞癌顺铂化疗敏感性[D]. 广州: 南方医科大学, 2020.
- [12] GUO J C, YANG Y J, ZHANG J Q, et al. microRNA-448 inhibits stemness maintenance and self-renewal of hepatocellular carcinoma stem cells through the *MAGEA6*-mediated AMPK signaling pathway[J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234(12): 23461-23474.
- [13] BRITO A, MERLE C, LAGARDE P, et al. Cell fusion enhances energy metabolism of mesenchymal tumor hybrid cells to sustain their proliferation and invasion[J]. *BMC Cancer*, 2021, 21(1): 863.
- [14] 郑海伦, 赵睿, 李大鹏, 等. 肿瘤标志物 DCP 和 AFP 在原发性肝癌中的诊断价值[J]. *中华全科医学*, 2016, 14(1): 29-31.
- [15] 彭孝春, 陆霜, 柳扬, 等. 肝细胞癌患者射频消融术后血清长链非编码 RNA LINC00205 表达量及临床意义[J]. *介入放射学杂志*, 2021, 30(4): 351-355.
- [16] 刘金涛, 高玲, 周会会. *MAGEA4* 和 EB1 蛋白在肺癌组织中的表达及其与临床病理特征及预后的相关性分析[J]. *实用肿瘤学杂志*, 2019, 33(4): 334-339.
- [17] ZHAN H, ZHAO X, LU Z X, et al. Correlation and survival analysis of distant metastasis site and prognosis in patients with hepatocellular carcinoma[J]. *Front Oncol*, 2021, 11: 652768.
- [18] PELIZZARO F, SOLDÀ F, CARDIN R, et al. SCCA-IgM in hepatocellular carcinoma patients treated with transarterial chemoembolization: gender-related differences[J]. *Biomark Med*, 2020, 14(10): 855-867.
- [19] ABBASTABAR M, SARFI M, GOLESTANI A, et al. lncRNA involvement in hepatocellular carcinoma metastasis and prognosis[J]. *EXCLI J*, 2018, 17: 900-913.
- [20] YAN G X, CHANG Z H, WANG C Z, et al. lncRNA ILF3-AS1 promotes cell migration, invasion and EMT process in hepatocellular carcinoma via the miR-628-5p/MEIS2 axis to activate the notch pathway[J]. *Dig Liver Dis*, 2022, 54(1): 125-135.
- [21] LOU G H, CHEN L, XIA C X, et al. MiR-199a-modified exosomes from adipose tissue-derived mesenchymal stem cells improve hepatocellular carcinoma chemosensitivity through mTOR pathway[J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2020, 39(1): 4.
- [22] ATTWA M H, EL-ETREBY S A. Guide for diagnosis and treatment of hepatocellular carcinoma[J]. *World J Hepatol*, 2015, 7(12): 1632-1651.
- [23] GALLE P R, FOERSTER F, KUDO M, et al. Biology and significance of alpha-fetoprotein in hepatocellular carcinoma[J]. *Liver Int*, 2019, 39(12): 2214-2229.
- [24] JOHNSON P J. The role of serum alpha-fetoprotein estimation in the diagnosis and management of hepatocellular carcinoma[J]. *Clin Liver Dis*, 2001, 5(1): 145-159.
- [25] PINEDA CT, RAMANATHAN S, FON TACER K, et al. Degradation of AMPK by a cancer-specific ubiquitin ligase[J]. *Cell*, 2015, 160(4): 715-728.
- [26] TSANG Y H, MILLS G B. The roles of *MAGEA6* variants in pancreatic cancer development and their potential impact on cancer immunotherapy[J]. *Autophagy*, 2020, 16(10): 1923-1924.
- [27] 杜天宇, 肖旭阳. Rac 3 通过 *MAGEA6*/AMPK $\alpha$  途径抑制肺腺癌 A549 细胞的自噬[J]. *锦州医科大学学报*, 2021, 42(3): 5-10.
- [28] ENDO M, KANDA M, SAWAKI K, et al. Tissue expression of melanoma-associated antigen A6 and clinical characteristics of gastric cancer[J]. *Anticancer Res*, 2019, 39(11): 5903-5910.
- [29] 霍景瑞. 肝癌相关抗原的扩增及肝癌相关蛋白的抗体制备[D]. 北京: 中国人民解放军军事医学科学院, 2010.
- [30] 焦龙先, 邓庆, 梅铭惠, 等. *MAGEA9* 基因在肝癌中的表达及 RNAi 沉默后对肝癌细胞生长和克隆形成的影响[J]. *肿瘤防治研究*, 2010, 37(6): 647-651.
- [31] 钱茹. *MAGE-A3* 基因沉默对肝癌化疗药物敏感性的影响及凋亡机制的初步研究[D]. 福州: 福建医科大学, 2015.
- [32] WANG H, WANG H W, CUI W Y, et al. Enhanced expression of miR-889 forecasts an unfavorable prognosis and facilitates cell progression in hepatocellular carcinoma[J]. *Diagn Pathol*, 2021, 16(1): 51.
- [33] SHEN H M, WU H, SUN F K, et al. A novel four-gene of iron metabolism-related and methylated for prognosis prediction of hepatocellular carcinoma[J]. *Bioengineered*, 2021, 12(1): 240-251.
- [34] LIU R Q, LI R Q, YU H Y, et al. NTF3 correlates with prognosis and immune infiltration in hepatocellular carcinoma[J]. *Front Med (Lausanne)*, 2021, 8: 795849.
- [35] GUO Z Y, ZHU Z T. NCAPG is a prognostic biomarker associated with vascular invasion in hepatocellular carcinoma[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2021, 25(23): 7238-7251.

(童颖丹 编辑)

本文引用格式: 焦嫦亮, 郑进方, 郭骏成. 黑色素瘤相关抗原 A6 在肝细胞癌中的表达及与预后的关系[J]. *中国现代医学杂志*, 2022, 32(24): 61-67.

Cite this article as: JIAO C L, ZHENG J F, GUO J C. Expression of melanoma-associated antigen A6 in hepatocellular carcinoma and its relationship with prognosis[J]. *China Journal of Modern Medicine*, 2022, 32(24): 61-67.