

- [J]. Proteomics, 2013, 13(14): 2125-2134.
- [28] LI Y, ZHENG Q, BAO C, et al. Circular RNA is enriched and stable in exosomes: a promising biomarker for cancer diagnosis[J]. Cell Res, 2015, 25(8): 981-984.
- [29] SRIVASTAVA A, AMREDDY N, BABU A, et al. Nanosomes carrying doxorubicin exhibit potent anticancer activity against human lung cancer cells[J]. Sci Rep, 2016, 6: 38541.
- [30] KIM M S, HANEY M J, ZHAO Y, et al. Engineering macrophage-derived exosomes for targeted paclitaxel delivery to pulmonary metastases: in vitro and in vivo evaluations[J]. Nanomedicine, 2018, 14(1): 195-204.
- [31] LI X Q, LIU J T, FAN L L, et al. Exosomes derived from gefitinib-treated EGFR-mutant lung cancer cells alter cisplatin sensitivity via up-regulating autophagy[J]. Oncotarget, 2016, 7(17): 24585-24595.
- [32] WU H, ZENG C, YE Y, et al. Exosomes from irradiated nonsmall cell lung cancer cells reduced sensitivity of recipient cells to anaplastic lymphoma kinase inhibitors[J]. Mol Pharm, 2018, 15(5): 1892-1900.
- (收稿日期: 2019-04-16 修回日期: 2019-07-21)
- 综 述 •

自身抗体在早期肺癌临床诊断中的研究进展

高成磊¹, 黄 猛²综述, 伦立民^{2△}审校

(1. 青岛大学医学部, 山东青岛 266000; 2. 青岛大学附属医院检验科, 山东青岛 266000)

摘 要:肺癌高发病率、高死亡率是全球共同面临的问题。肺癌的诊断通常在晚期, 肺癌晚期 5 年生存率很低, 所以如何早期筛查肺癌尤为重要。血液生物标志物肺癌自身抗体(AABs), 包括 P53、黑色素瘤抗原(MAGE)-A1、G 抗原(GAGE)7、肿瘤相关基因(CAGE)、ATP 结合 RNA 解旋酶(GBU4-5)、性别决定基因家族 2(SOX2)和蛋白基因产物 9.5(PGP9.5)的检测在早期肺癌检测中越来越受到重视。P53 基因在多种恶性肿瘤患者体内突变, P53 作为肿瘤抑制基因产生的自身抗体, 可在临床诊断肺癌前出现。MAGE-A1、GAGE7、CAGE、GBU4-5 均属于肿瘤-睾丸抗原, 在多种恶性肿瘤中表达, 可在肺癌患者体内出现, 不表达于人体正常组织。SOX2 自身抗体主要在小细胞肺癌(SCLC)中检测到。PGP9.5 在非小细胞肺癌(NSCLC)表达增加。本文主要对自身抗体在早期肺癌临床诊断中的研究进展进行了综述。

关键词:自身抗体; 肺癌; 早期诊断

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2019.23.024 **中图法分类号:**R446.1

文章编号:1673-4130(2019)23-2916-06 **文献标识码:**A

Research progress of autoantibodies in the clinical diagnosis of early lung cancer

GAO Chenglei¹, HUANG Meng², LUN Limin^{2△}

(1. Medical College, Qingdao University, Qingdao, Shandong 266000, China;
2. Department of Clinical Laboratory, the Affiliated Hospital of Qingdao University,
Qingdao, Shandong 266000, China)

Abstract: The high incidence and mortality of lung cancer are common problems in the world. The diagnosis of lung cancer is usually in the advanced stage, and the 5-year survival rate of lung cancer is very low, so how to screen lung cancer early is especially important. Blood biomarkers lung cancer autoantibodies (AABs) including P53, MAGE-A1, GAGE7, CAGE, GBU4-5, SOX2 and PGP9.5 have attracted more and more attention in the detection of early stage lung cancer. The P53 gene is mutated in a variety of malignant tumor patients. As an autoantibody produced by tumor suppressor gene, P53 can appear before clinical diagnosis of lung cancer. MAGE-A1, GAGE7, CAGE, and GBU4-5 are all cancer-testis genes antigens and are expressed in various malignant tumors. They can be found in lung cancer patients and not in normal human tissues. SOX2 autoantibodies were mainly detected in small cell lung cancer (SCLC). PGP9.5 increased expression in non-small cell lung cancer (NSCLC). This article reviews the research progress of autoantibodies in the clinical diagnosis of early stage lung cancer.

Key words: autoantibodies; lung cancer; early diagnosis

[△] 通信作者, E-mail: lunlmqd@163.com。
本文引用格式: 高成磊, 黄猛, 伦立民. 自身抗体在早期肺癌临床诊断中的研究进展[J]. 国际检验医学杂志, 2019, 40(23): 2916-2921.

肺癌组织具有侵袭性和异质性^[1-2],目前难以通过早期筛查降低肺癌病死率。90%以上肺癌由吸烟导致,其他公认的危险因素包括被动吸烟、职业暴露,特别是石棉和氡暴露^[3]。在世界范围内,肺癌是最常见的恶性肿瘤之一,也是男女癌症死亡的主要原因^[4]。2018 年肺癌发生率占所有肿瘤发生率的 12.9%,肺癌死亡者占所有肿瘤死亡者的 23.5%,肺癌总体 5 年生存率为 19.4%^[5]。目前肺癌常用的临床诊断方法很多,低剂量螺旋 CT 对早期发现小的肺结节高度敏感,并可降低肺癌死亡率 20%^[6],但仍存在高假阳性、高辐射暴露和高成本等限制因素。通过血液检测肺癌目前主要侧重于检测肿瘤相关抗原标志物,如神经元特异性烯醇化酶(NSE)、鳞状上皮细胞癌抗原(SCC),这些标志物在肺癌晚期阳性率增加,但在肺癌早期不敏感。目前关于肺癌早期的检测试验或者患者可接受的筛选方法仍很匮乏。血清肿瘤相关自身抗体检测体内针对癌细胞产生的自体细胞抗体的自身抗体,在早期肺癌诊断中被提出。肺癌自身抗体谱包括 P53、黑色素瘤抗原(MAGE)-A1、G 抗原(GAGE)7、肿瘤相关基因(CAGE)、ATP 结合 RNA 解旋酶(GBU4-5)、性别决定基因家族 2(SOX2)和蛋白基因产物 9.5(PGP9.5)。P53 作为肿瘤抑制基因产生的自身抗体,可在肺癌患者体内出现。MAGE-A1、GAGE7、CAGE、GBU4-5 属于肿瘤-睾丸抗原,在多种恶性肿瘤中表达,不表达于人体正常组织,可在肺癌患者体内出现。SOX2 自身抗体主要在小细胞肺癌中检测到。PGP9.5 在非小细胞肺癌中表达增加^[7]。研究发现,肺癌自身抗体能在肺癌临床诊断之前 5 年发现^[8],可见肺癌自身抗体有重要的肺癌预警价值。有学者对 2 848 例临床样本开展了前瞻性临床研究,首次确认肺癌 7 项自身抗体在肺癌早期诊断中有重要临床应用价值^[9]。随着自身抗体在肺癌早期诊断中的应用,关于肺癌自身抗体的诊断效能及临床应用价值越来越受到重视。本文主要对自身抗体在早期肺癌临床诊断中的研究进展进行综述。

1 肺癌自身抗体谱

免疫系统除了能保护机体免受病原体危害,还消除能其他威胁,包括肿瘤^[10]。肿瘤细胞在发育过程中产生的肿瘤相关抗原包括肿瘤/睾丸特异性抗原、异常过度表达或异位表达的抗原以及干细胞转录因子等^[11]。肿瘤相关抗原被免疫系统捕获并通过体液免疫反应导致自身抗体的形成。肺癌患者可以对自身的癌细胞产生体液免疫应答^[12],进而可在肺癌患者体内检测到肺癌自身抗体。肺癌 7 项自身抗体的靶点都是免疫源性很强并与肿瘤侵袭密切相关的靶点。

1.1 P53 抑癌基因 P53 基因是最早发现的抑癌基因之一,位于 17 号染色体短臂上^[13]。野生型 P53 基因能抑制细胞转化,并能抑制癌基因的活动,而突变型 P53 基因可引起细胞的转化和癌变,使细胞无限增

生,进而与多种癌症(包括肺癌、结直肠癌和乳腺癌等)的发生有关^[14]。P53 自身抗体的产生通常针对突变的 P53 基因产物。

1.2 肿瘤-睾丸基因家族 肿瘤-睾丸基因(CT genes)的表达产物是肿瘤-睾丸抗原(CTA)。肿瘤-睾丸抗原编码的基因通常只在人类生殖系统表达,但在各种肿瘤组织中表达,包括肺癌、黑色素瘤、膀胱癌和肝癌组织等^[15]。自 1991 年首次将黑色素瘤相关抗原基因 MAGE-A1 序列鉴定为肿瘤抗原以来^[16],大量的 CTA(目前已鉴定出百余种)形成家族,如 GAGE、MAGE、NY-ESO-1、CAGE 等。CTA 正被作为治疗性癌症疫苗的靶点大力研究,评估其在肿瘤发生中的作用有助于影响肿瘤表型特征,包括永生、侵袭性、免疫逃避、低甲基化和转移能力^[15]。MAGE、GAGE 和 BAGE 基因编码自身细胞毒性 T 淋巴细胞识别的肿瘤抗原^[17]。腺癌和鳞癌 DNA 甲基化模式不同^[18],启动子低甲基化是肿瘤细胞中 CTA 基因表达的重要诱导因子^[15],这可能解释了这两种非小细胞肺癌亚型之间 CTA 表达的差异^[19]。由于 CTA 在肺癌患者中广泛表达,检测肺癌患者血清中形成的针对 CTA 的自身抗体可为肺癌的早期诊断提供新方法。

1.2.1 GAGE 肺癌组肿瘤/睾丸抗原 GAGE 基因家族属于 X 染色体簇的癌症/睾丸抗原,可分为三组^[20]。GAGE-1 因它由一个外显子编码的唯一 c 端而具有独特性。其余的 GAGE 成员具有 98%以上的同一性,但根据潜在的磷酸化酪氨酸的存在,可以分为两组,GAGE-2、-8 和 GAGE-3、-7。正常肺组织中不存在 GAGE 抗原,血液不存在 GAGE 自身抗体。GAGE 基因转录体在多种癌症中发现,最常见于黑色素瘤、肺癌^[20](其中高达 54%的样本中发现表达 GAGE)、胃癌^[21-22]和肝细胞癌^[23]。目前 GAGE 蛋白是否对肿瘤转移有影响尚不明确^[17]。

1.2.2 MAGE MAGE 基因家族属于 X 染色体簇的癌症/睾丸抗原,在多种肿瘤中表达,根据功能和表达模式,MAGE 组被分成两大家族,例如 MAGE-I 和 MAGE-II,MAGE-I 家族包括 MAGE-A、MAGE-B 和 MAGE-C 群,MAGE-II 家族包括 7 个亚家族^[24]。MAGE 家族通过与 P53 的结合和调控,能够促进肿瘤细胞的存活,抑制细胞凋亡,在肿瘤的侵袭转移中也发挥着关键作用^[25-27]。在与 NSCLC 相邻的正常肺组织中发现 MAGE-A1、-A3 和-B2 基因的低甲基化,表明这些基因的激活发生在肺癌发生的早期^[28]。MAGE-1 的激活是由于启动子的去甲基化^[29]。MAGE-A3 是能被 CD8⁺ T 细胞特异性识别的第一个人肿瘤相关抗原,在 NSCLC 中表达频繁。表达 MAGE-A3 的细胞不能被呈递给 CD4⁺ 和 CD8⁺ T 淋巴细胞,MAGE-A3 可用于选择性靶向肿瘤细胞免疫治疗^[30]。

1.2.3 CAGE CAGE 属于 DEAD box 解旋酶家

族,是肿瘤-睾丸抗原家族成员,位于 X 染色体^[31]。CAGE 在肿瘤发生中发挥重要作用,它从全局确定基因组中的转录起始位点及其表达水平^[32]。CAGE 可能编码细胞毒性 T 淋巴细胞识别的肿瘤特异性抗原^[33]。每个 CAGE 启动子与 DNA 甲基化位点在 CAGE 峰中心的 -1500~+500 bp 范围内连接^[34]。CAGE 在一些不表达它的细胞系中被去甲基化激活,提示 CAGE 的表达主要受到甲基化的抑制,CAGE 表达与低甲基化之间的具有相关性^[35]。CAGE 的表达与细胞周期有关,CAGE 参与细胞周期表明它在细胞生长和增殖中起作用^[33]。CAGE 基因含有 DEAD 结构域序列,表明它可以编码解旋酶。

1.2.4 GBU4-5 GBU4-5 属于肿瘤-睾丸家族,具有免疫原性、癌症特异性,可能为癌症的诊断和治疗提供潜在的靶点。GBU4-5 是通过用重组 cDNA 表达文库的血清学分析(SEREX)技术最近发现的 7 项自身抗体组合成员之一^[36]。DEAD-box 蛋白通常被称为 RNA 解旋酶,GBU4-5 编码 DEAD-box 结构域(如 CAGE),但直到 2003 年才发现可以引发自身抗体应答^[37]。DEAD-box 的蛋白质参与 RNA 加工、核糖体组装、精子发生、胚胎发生、细胞生长和分裂,在致癌途径中具有重要作用^[38]。

1.3 PGP9.5 PGP9.5 是一种神经特异性肽,是泛素水解酶,广泛表达于神经元分化的各个阶段^[39],细胞蛋白泛素化并通过泛素介导的蛋白水解酶将其靶向降解是调控细胞周期基因的重要机制^[40]。在肿瘤中,PGP9.5 增加细胞周期蛋白的去泛素化可能导致体细胞的不可控生长^[41]。

1.4 SOX2 SOX2 是 SOX 家族的成员之一,其位于 3 号染色体 3q26.33,SOX2 是一个转录基因^[42]。SOX 蛋白可分为若干家族,SOX-B1 (SOX1、SOX2、SOX3 等)、SOX-B2 (SOX14、SOX21 等)和 SOX-C (SOX4、SOX11、SOX12 等)家族^[42]。SOXcDNA 克隆中最保守的区域是 HMG 盒编码区,在 SOX 组 B 家族成员中,这个区域有 88%~96% 相同。SOX 基因家族是高度保守的基因家族,参与转录调控,决定细胞的归宿,对多种组织、器官的发育具有重要的作用,并参与决定人类性别^[43]。SOX 蛋白具有经典转录因子和染色质结构成分的特性^[44]。SOX-B1 可能阻止神经祖细胞的分化^[45]。SOX2 自身抗体是 SOX-B1 家族中一个被认为在神经发生中起重要作用的基因家族的成员。SOX21 被认为可以抑制 SOX-B1,促进分化^[46]。SOX2 在肺癌、乳腺癌、卵巢癌、神经胶质瘤等多种恶性肿瘤组织中表达,并且癌细胞向远处转移的能力与其过表达成正比^[42,47]。

2 自身抗体与肺癌诊断相关性

2.1 P53 大约 60% 的 SCLC 和 50% 的 NSCLC 存在 P53 突变^[3]。第一份关于 P53 自身抗体的报告表明,在肺癌高危铀工人临床肿瘤表现前 17~47 月,就

可以检测到 P53^[48]。最新研究发现突变型 P53 表达可以促进细胞系中细胞套叠(CIC)结构的形成,CIC 在肺腺癌中很常见,是预后不良和疾病复发的独立预测因子,而突变型 P53 状态与肺腺癌中 CIC 发生率的增加有关^[49]。P53 基因突变不仅出现在每个肺癌患者早期病变中,而且随着组织学进展,P53 突变的频率增加,并且几乎总是在病变达到为浸润腺癌阶段时出现^[49]。因此,P53 自身抗体检测用于肺癌早期诊断有较高价值。

2.2 GAGE 有实验证明,在 26.0% 的 NSCLC 肿瘤中检测到 GAGE 蛋白,高水平 GAGE 表达(>50%) 在鳞状细胞癌中更为常见,GAGE 蛋白表达与疾病进展显著相关,II 期 NSCLC 的 GAGE 表达频率明显高于 I 期 NSCLC^[19]。因此,GAGE 在多种癌症中广泛表达,表明其在肿瘤发生中起作用,高水平的 GAGE 表达在鳞状细胞癌中更常见。

2.3 MAGE MAGE-A1 在腺癌中的表达与肿瘤坏死存在显著相关^[50]。MAGE-A3 和 MAGE-A4 与鳞状细胞癌有相似的相关性,在鳞状细胞癌中表达频率高于腺癌^[51-52],这种在鳞状细胞癌中的高频表达可能与 MAGE-A3 和 MAGE-A4 表达的性别差异有关。MAGE-A3 通过诱导上皮间充质转移在 NSCLC 细胞转移中起作用,MAGE-A3 阳性的 NSCLC 患者用 MAGE-A3 疫苗接种效果良好^[19,53]。MAGE-A3 的表达与吸烟史显著正相关,表明吸烟可能在 DNA 去甲基化和随后的 MAGE-A3 表达诱导中起作用^[54]。MAGE-A4 阳性表达似乎预示预后不良,MAGE 基因家族的表达对肺癌的预后有不利影响^[55]。MAGE-C2 与 MAGE-A3 一样,被认为是癌症免疫治疗的潜在靶点^[54]。MAGE-B2 的高表达与肿瘤的不良预后相关^[25]。

2.4 CAGE CAGE 存在于各种癌症患者的血清中^[33,56],它不在白血病或骨髓瘤中表达,表明其在癌症中的表达可能仅限于实体瘤。CAGE 可能在癌细胞生长中起作用,并且可能是癌症免疫疗法的有效靶点^[35]。由于 CAGE 的低甲基化先于肺癌的发展,因此 CAGE 在肺癌中的高频率低甲基化可能是一种有价值的癌症诊断标志物^[57]。

2.5 GBU4-5 2019 年,ZHANG 等^[58]研究表明腺癌患者 GBU4-5 血清浓度明显高于鳞癌患者,与腺癌相比,鳞癌患者和健康人的 GBU4-5 血清水平较低,但鳞癌患者和健康人之间无差异。GBU4-5 在 T、N、M 三个阶段无显著性差异,但在 T、N、M 三个阶段均有下降趋势,随着 TNM 分期的增加,血清中 GBU4-5 水平逐渐降低,提示 GBU4-5 在早期肺癌中可能比在晚期疾病中更准确^[58]。

2.6 PGP9.5 PGP9.5 可在肺癌细胞中异位表达和分泌,但在正常肺组织中检测不到,引起体液反应^[59]。研究发现 SCLC 和 NSCLC 中均存在 PGP9.5,与神经

元分化无关^[60]。在 NSCLC 中, PGP9.5 与蛋白表达、肿瘤病理分期密切相关^[60]。肺鳞癌患者中 PGP9.5 浓度明显高于肺腺癌患者^[58]。多项研究表明, PGP9.5 表达的增加与肺癌的发生具有特异性的相关性, 可能成为肺癌检测的潜在标志物^[59,61]。

2.7 SOX SOX 抗体是癌症早期诊断的重要标志物。SOX1 抗体在 SCLC 中普遍存在, 在患有 SCLC 的个体中, 多达 33% 的人报告了 SOX2 自身抗体, 被认为是 SCLC 的特异性血清学标志物^[62]。SOX2 mRNA 可在某些成人组织中检测到, 与腺癌相比, 肺鳞癌患者的 SOX2mRNA 水平明显更高^[63]。在所检测的 SCLC 细胞系中, 41% 的 SCLC 血清中观察到抗 SOX 抗体, 抗 SOX1 和 SOX2 的血清活性始终高于 SOX3 和 SOX21 的反应性, 表明 SOX1 和/或 SOX2 是引起抗 SOX 反应的主要抗原^[62]。SOX2 的表达与肺鳞状细胞分化标志物相关^[64]。在 SCLC 诊断之前, SOX 存在与疾病的严重程度无关^[65], 健康人体内没有 SOX 抗体^[65]。

单一自身抗体其敏感性和特异性仍不足以满足肺癌早期筛查的需要, 自身抗体联合检测可以提高肺癌检出的敏感性和特异性。2008 年, CHAPMAN 等^[66]首次将肺癌自身抗体联合用于肺癌的检测, 7 项肿瘤自身抗体 (P53、c- myc、HER2、NYESO-1、GAGE、MUG1 和 GBU4-5) 的检测, 单一抗体阳性率在 5%~36%, 特异度为 96%~100%, 联合检测阳性率 76%, 特异度为 92%。2013 年, JETT 等^[67]对 1613 例肺癌高危人群进行了大规模的 EarlyCDT-Lung 检测, 6 项 AABs 检测阳性率为 18%、特异度 83%, 7 项 AABs 检测阳性率 10%、特异度 91%, 61 名患者 (4%) 被确诊患有肺癌, 其中 25 名患者通过 EarlyCDT-Lung 检测为阳性 (灵敏度为 41%)。2018 年, ZHOU 等^[9]对 540 例出现磨玻璃结节 (GGNs) 和/或实性结节的患者进行了 7 项 AABs 检测, 对于 I 期和 II 期 NSCLC, 敏感性分别为 62% 和 59%, 对于局限期 SCLC, 敏感性为 59%; 敏感性明显高于癌胚抗原 (CEA)、NSE 和细胞角蛋白 19 片段 (Cyfra21-1)。对于 GGN 和/或结节大小 ≤ 8 mm 的患者, 结合低剂量螺旋 CT 和 7 项 AABs 检测, 阳性预测值 (PPVs) 从 63.4% 提高到 89.7%; 对于 GGN 和/或结节大小在 8~20 mm 和 >20 mm 的患者, 诊断准确率分别从 50.8% 提高到 90.5%, 以及 63.4% 提高到 90.7%; 与单独使用 AABs 组或单独低剂量螺旋 CT 相比, 7 项 AABs 检测与低剂量螺旋 CT 相结合显著改善了 PPVs^[9]。低剂量螺旋 CT 联合 7 项 AABs 检测显著降低了不同大小和病理类型的 GGN 和/或结节患者的假阳性率^[9]。

3 小 结

综上所述, 肺癌自身抗体 (P53、MAGE-A1、GAGE7、CAGE、GBU4-5、SOX2 和 PGP9.5) 较传统

肺癌血液肿瘤标志在循环血液中持续更长时间、更容易检测, 在肺癌早期诊断中具有很大优势。肺癌自身抗体可以与 CT 等影像学方法结合, 提高早期肺癌的诊断率, 有很好应用前景^[68]。但是, 肺癌自身抗体检测仍有问题有待解决, 如何更好优化自身抗体组合、寻找针对不同肺癌病理类型的自身抗体组合等问题仍待研究。随着自身抗体检测越来越普遍地用于临床肺癌诊断、肺癌筛查, 有望为肺癌的早期诊断中展现更大价值。

参考文献

- [1] LI D, GAD G, WHEELER D A, et al. Somatic mutations affect key pathways in lung adenocarcinoma [J]. *Nature*, 2015, 455(7216): 1069-1075.
- [2] SANDERS H R, ALBITAR M. Somatic mutations of signaling genes in non-small-cell lung cancer [J]. *Cancer Genet Cytogenet*, 2010, 203(1): 7-15.
- [3] TESTA U, CASTELLI G, PELOSI E. Lung cancers: molecular characterization, clonal heterogeneity and evolution, and cancer stem cells [J]. *Cancers*, 2018, 10(8): 248.
- [4] CHEN W, ZHENG R, BAADE P D, et al. Cancer statistics in China, 2015 [J]. *Ca Cancer J Clin*, 2016, 66(2): 115-132.
- [5] U. S. Department of Health and Human Services. Cancer stat facts: lung and bronchus cancer [EB/OL]. (2012-04-15) [2019-04-20]. <https://seer.cancer.gov/statfacts/html/lungb.html>.
- [6] ABERLE D R, ADAMS A M, BERG C D, et al. Reduced lung-cancer mortality with low-dose computed tomographic screening [J]. *N Engl J Med*, 2011, 365(5): 395-409.
- [7] HIBI K, WESTRA W H, BORGES M, et al. PGP9.5 as a candidate tumor marker for non-small-cell lung cancer [J]. *Am J Pathol*, 1999, 155(3): 711-715.
- [8] LI Z, COE S P, STROMBERG A J, et al. Profiling tumor-associated antibodies for early detection of non-small cell lung cancer [J]. *J Thorac Oncol*, 2006, 1(6): 513-519.
- [9] REN S, ZHANG S, JIANG T, et al. Early detection of lung cancer by using an autoantibody panel in Chinese population [J]. *Oncoimmunology*, 2017, 7(2): e1384108.
- [10] BEI R, MASUELLI L, PALUMBO C, et al. A common repertoire of autoantibodies is shared by cancer and autoimmune disease patients; inflammation in their induction and impact on tumor growth [J]. *Cancer letters*, 2009, 281(1): 8-23.
- [11] COULIE P G, EYNDE B T J, VAN DEN, PIERRE V D B, et al. Tumour antigens recognized by T lymphocytes: at the core of cancer immunotherapy [J]. *Nat Rev Cancer*, 2014, 14(2): 135-146.
- [12] CHAPMAN C J, MURRAY A, BOYLE P, et al. Early-CDT®-Lung test: improved clinical utility through additional autoantibody assays [J]. *Tumour Biol*, 2012, 33(5): 1319-1326.

- [13] VIELER M, SANYAL S. p53 Isoforms and Their Implications in Cancer [J]. *Cancers*, 2018, 10(9):288.
- [14] 李宝江, 朱志华, 王军业, 等. Ki67、P53、VEGF 和 C-erbB-2 在乳腺癌组织中表达的相关性研究及其临床意义 [J]. *癌症*, 2004, 23(10):1176-1179.
- [15] SIMPSON A J G, CABALLERO O L, ACHIM J, et al. Cancer/testis antigens, gametogenesis and cancer [J]. *Nat Rev*, 2005, 5(8):615.
- [16] LIAN Y, MENG L, DING P, et al. Epigenetic regulation of MAGE family in human cancer progression-DNA methylation, histone modification, and non-coding RNAs [J]. *Clin Epigenetics*, 2018, 10(1):115.
- [17] GJERSTORFF M F, TERP M G, HANSEN M B, et al. The role of GAGE cancer/testis antigen in metastasis: the jury is still out [J]. *BMC Cancer*, 2016, 16(1):7.
- [18] CARVALHO R H, HABERLE V, HOU J, et al. Genome-wide DNA methylation profiling of non-small cell lung carcinomas [J]. *Epigenetics Chromatin*, 2012, 5(1):9.
- [19] GJERSTORFF M F, METTE P H, OLSEN K E, et al. Analysis of GAGE, NY-ESO-1 and SP17 cancer/testis antigen expression in early stage non-small cell lung carcinoma [J]. *BMC cancer*, 2013, 13(1):466.
- [20] BACKER O, DE, ARDEN K C, BORETTI M, et al. Characterization of the GAGE genes that are expressed in various human cancers and in normal testis [J]. *Cancer research*, 1999, 59(13):3157-3165.
- [21] ZAMBON A, MANDRUZZATO S, PARENTI A, et al. MAGE, BAGE, and GAGE gene expression in patients with esophageal squamous cell carcinoma and adenocarcinoma of the gastric cardia [J]. *Cancer*, 2015, 91(10):1882-1888.
- [22] KONG U, KOO J, CHOI K, et al. The expression of GAGE gene can predict aggressive biologic behavior of intestinal type of stomach cancer [J]. *Hepatogastroenterology*, 2004, 51(59):1519-1523.
- [23] KOBAYASHI Y, HIGASHI T, NOUSO K, et al. Expression of MAGE, GAGE and BAGE genes in human liver diseases; utility as molecular markers for hepatocellular carcinoma [J]. *J Hepatol*, 2000, 32(4):612-617.
- [24] MONTE M, SIMONATTO M, PECHE L Y, et al. MAGE-A tumor antigens target p53 transactivation function through histone deacetylase recruitment and confer resistance to chemotherapeutic agents [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2006, 103(30):11160-11165.
- [25] JIN S, CAO S, LI J, et al. Cancer/testis antigens (CTAs) expression in resected lung cancer [J]. *Onco Targets Ther*, 2018, 11:4491-4499.
- [26] BING Y, O' HERRIN S M, JIANQIANG W, et al. MAGE-A, mMage-b, and MAGE-C proteins form complexes with KAP1 and suppress p53-dependent apoptosis in MAGE-positive cell lines [J]. *Cancer Res*, 2007, 67(20):9954-9962.
- [27] 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.
- [28] AHRENDT S A, CHOW J T, XU L H, et al. Molecular detection of tumor cells in bronchoalveolar lavage fluid from patients with early stage lung cancer [J]. *J Natl Cancer Inst*, 1999, 91(4):332.
- [29] SMET C, DE, BACKER O, DE, FARAONI I, et al. The activation of human gene MAGE-1 in tumor cells is correlated with genome-wide demethylation [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1996, 93(14):7149-7153.
- [30] BRICHARD V G, GODECHAL Q. MAGE-A3-specific anticancer immunotherapy in the clinical practice [J]. *Oncoimmunology*, 2013, 2(10):e25995.
- [31] YEON M, BYUN J, KIM H, et al. CAGE binds to Beclin1, regulates autophagic flux and CAGE-derived peptide confers sensitivity to anti-cancer drugs in non-small cell lung cancer cells [J]. *Front Oncol*, 2018, 8:599.
- [32] FORREST A R R, HIDEYA K, MICHAEL R, et al. A promoter-level mammalian expression atlas [J]. *Nature*, 2014, 507(7493):462-470.
- [33] PARK S, LIM Y, LEE D, et al. Identification and characterization of a novel cancer/testis antigen gene CAGE-1 [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2002, 292(3):715-726.
- [34] HORIE M, KACZKOWSKI B, OHSHIMA M, et al. Integrative CAGE and DNA methylation profiling identify epigenetically regulated genes in NSCLC [J]. *Mol Cancer Res*, 2017, 15(10):1354-1365.
- [35] KIM Y, KIM H, PARK D, et al. miR-217 and CAGE form feedback loop and regulates the response to anti-cancer drugs through EGFR and HER2 [J]. *Oncotarget*, 2016, 7(9):10297-10321.
- [36] TURECI O, USENER D, SCHNEIDER S, et al. Identification of tumor-associated autoantigens with SEREX [J]. *Methods Mol Med*, 2005, 109(137):137-154.
- [37] KRAUSE P, TURECI O, MICKE P, et al. SeroGRID: an improved method for the rapid selection of antigens with disease related immunogenicity [J]. *J immunol methods*, 2003, 283(1/2):261-267.
- [38] PATRICK LINDER. Dead-box proteins; a family affair—active and passive players in RNP-remodeling [J]. *Nucleic acids res*, 2006, 34(15):4168-4180.
- [39] SCHOFIELD J N, DAY I N M, THOMPSON R J, et al. PGP9. 5, a ubiquitin C-terminal hydrolase; pattern of mRNA and protein expression during neural development in the mouse [J]. *Brain Res Dev Brain Res*, 1995, 85(2):229-238.
- [40] HOCHSTRASSER M. Ubiquitin-dependent protein degradation [J]. *Annu Rev Genet*, 1996, 30:405-439.
- [41] SPATARO V, NORBURY C, HARRIS A L, et al. Ubiquitin-proteasome pathway in cancer [J]. *Br J Cancer*, 1998, 77(3):448-455.
- [42] WUEBBEN E L, RIZZINO A. The dark side of SOX2: cancer — a comprehensive overview [J]. *Oncotarget*,

- 2017,8(27):44917-44943.
- [43] 袁虎,王秋菊,韩东一. SOX 家族基因的功能及其研究进展 [J]. 国际遗传学杂志,2005,28(6):332-335.
- [44] PEVNY L H,LOVELL-BADGE R. Sox genes find their feet [J]. Curr Opin Genet Dev,1997,7(3):338-344.
- [45] BYLUND M,ANDERSSON E,NOVITCH B G,et al. Vertebrate neurogenesis is counteracted by Sox1-3 activity [J]. Nat Neurosci,2003,6(11):1162-1168.
- [46] SANDBERG M,KALLSTROM M,MUHR J. Sox21 promotes the progression of vertebrate neurogenesis [J]. Nat Neurosci, 2005,8(8):995-1001.
- [47] 滕杨,陈公琰. 恶性肿瘤中 SOX2 基因的研究进展 [J]. 实用肿瘤学杂志,2014,28(2):173-176.
- [48] ZAENKER P,GRAY E S,ZIMAN M R. Autoantibody production in cancer—The humoral immune response toward autologous antigens in cancer patients [J]. Autoimmun Rev,2016,15(5):477-483.
- [49] IZUMCHENKO E,CHANG X,BRAIT M,et al. Targeted sequencing reveals clonal genetic changes in the progression of early lung neoplasms and paired circulating DNA [J]. Nat Commun,2015,6:8258.
- [50] GRAH J J,KATALINIC D,JURETIC A,et al. Clinical significance of immunohistochemical expression of cancer/testis tumor-associated antigens (MAGE-A1,MAGE-A3/4,NY-ESO-1) in patients with non-small cell lung cancer [J]. Tumori,2014,100(1):60-68.
- [51] SHIGEMATSU Y,HANAGIRI T H,KURODA K,et al. Clinical significance of cancer/testis antigens expression in patients with non-small cell lung cancer [J]. Lung cancer,2010,68(1):105-110.
- [52] YOSHIDA N,ABE H,OHKURI T,et al. Expression of the MAGE-A4 and NY-ESO-1 cancer-testis antigens and T cell infiltration in non-small cell lung carcinoma and their prognostic significance [J]. Int J Oncol,2006,28(5):1089-1098.
- [53] NIR P,OTON A B,HIRSCH F R,et al. MAGE A3 antigen-specific cancer immunotherapeutic [J]. Immunotherapy,2009,1(1):19-25.
- [54] CHEN X,WANG L,LIU J,et al. Expression and prognostic relevance of MAGE-A3 and MAGE-C2 in non-small cell lung cancer [J]. Oncol Lett,2017,13(3):1609-1618.
- [55] YOSHIDA N,ABE H,OHKURI T,et al. Expression of the MAGE-A4 and NY-ESO-1 cancer-testis antigens and T cell infiltration in non-small cell lung carcinoma and their prognostic significance [J]. Int J Oncol,2006,28(5):1089-1098.
- [56] MEISTERE I,WERNER S,ZAYAKIN P,et al. The prevalence of cancer-associated autoantibodies in patients with gastric cancer and progressive grades of premalignant lesions [J]. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 2017,26(10):1564-1574.
- [57] CHO B,LEE H,JEONG S W,et al. Promoter hypomethylation of a novel cancer/testis antigen gene CAGE is correlated with its aberrant expression and is seen in premalignant stage of gastric carcinoma [J]. Biochem Biophys Res Commun,2003,307(1):52-63.
- [58] ZHANG R,MA L,LI W,et al. Diagnostic value of multiple tumor-associated autoantibodies in lung cancer [J]. Onco Targets Ther,2019,12:457-469.
- [59] DU Q,YU R,WANG H,et al. Significance of tumor-associated autoantibodies in the early diagnosis of lung cancer [J]. Clin Respir J,2018,12(6):2020-2028.
- [60] HIBI K,WESTRA W H,BORGES M,et al. PGP9.5 as a candidate tumor marker for non-small-cell lung cancer [J]. Am J Pathol,1999,155(3):711-715.
- [61] BRICHORY F,BEER D,LE NAOUR F,et al. Proteomics-based identification of protein gene product 9.5 as a tumor antigen that induces a humoral immune response in lung cancer [J]. Cancer Res,2001,61(21):7908-7912.
- [62] BURCAK V,LIN-CHI C,PINAR S,et al. Frequency of SOX Group B (SOX1,2,3) and ZIC2 antibodies in Turkish patients with small cell lung carcinoma and their correlation with clinical parameters [J]. Cancer,2010,103(12):2575-2583.
- [63] TESTA U,CASTELLI G,PELOSI E. Lung cancers: molecular characterization, clonal heterogeneity and evolution, and cancer stem cells [J]. Cancers,2018,10(8):248.
- [64] BASS A J,HIDEO W,MERMEL C H,et al. SOX2 is an amplified lineage-survival oncogene in lung and esophageal squamous cell carcinomas [J]. Nat Genet,2009,41(11):1238-1242.
- [65] TITULAER M J,RINSE K,MARKO P,et al. SOX antibodies in small-cell lung cancer and Lambert-Eaton myasthenic syndrome: frequency and relation with survival [J]. J Clin Oncol,2009,27(26):4260-4267.
- [66] CHAPMAN C J,MURRAY A,MCELVEEN J E,et al. Autoantibodies in lung cancer: possibilities for early detection and subsequent cure [J]. Thorax,2008,63(3):228-233.
- [67] JETT J R,PEEK L J,LYNN F,et al. Audit of the autoantibody test, EarlyCDT®-lung, in 1600 patients: an evaluation of its performance in routine clinical practice [J]. Lung Cancer,2014,83(1):51-55.
- [68] EDELSBERG J,WEYCKER D,ATWOOD M,et al. Cost-effectiveness of an autoantibody test (EarlyCDT-Lung) as an aid to early diagnosis of lung cancer in patients with incidentally detected pulmonary nodules [J]. PLoS One,2018,13(5):e0197826.