

· 论 著 ·

卵巢上皮性癌组织中 SP17、SPAG9、OY-*TES-1* 基因的去甲基化表达及其与临床病理的关系

崔梦瑶¹, 岑尧²

1. 内蒙古医科大学, 内蒙古 呼和浩特 010010; 2. 内蒙古自治区人民医院妇科, 内蒙古 呼和浩特 010010

摘要: **目的** 检测在卵巢上皮性癌与非卵巢癌中, 精子蛋白 17 (SP17)、精子相关抗原 9 (SPAG9)、OY-*TES-1* 这三种癌-睾丸抗原基因启动子区域去甲基化表达的差异, 探讨其与卵巢上皮性癌临床病理分期的关系。 **方法** 收集 2015 年 1 月至 2016 年 4 月 25 例新鲜的卵巢上皮性癌组织标本, 及 25 例新鲜的非卵巢癌组织标本, 采用 DNA 酸性亚硫酸盐转化、PCR 扩增及甲基化敏感性内切酶方法检测 SP17、SPAG9、OY-*TES-1* 在卵巢上皮性癌与非卵巢癌中 CpG 岛的去甲基化表达。 **结果** 与非卵巢癌组织比较, 卵巢上皮性癌组织中 SP17、SPAG9、OY-*TES-1* 基因启动子区存在高去甲基化表达 (P 均 < 0.01)。三种癌-睾丸抗原基因启动子区域去甲基化表达阳性率在卵巢上皮性癌不同年龄、组织学类型和分化程度中比较, 差异无统计学意义 (P 均 > 0.05); SP17、SPAG9 启动子区域去甲基化表达阳性率在有淋巴结转移者中高于无淋巴结转移者 ($P < 0.01, P < 0.05$), 在 III ~ IV 期患者中高于 I ~ II 期患者 (P 均 < 0.05); 而 OY-*TES-1* 启动子区域去甲基化表达阳性率仅在淋巴结转移者中高于无淋巴结转移者 ($P < 0.05$)。 **结论** SP17、SPAG9、OY-*TES-1* 基因启动子区域在卵巢上皮性癌中存在高去甲基化表达, 且其去甲基化表达均与患者发病年龄、组织学类型、分化程度无关; 部分与淋巴结转移、肿瘤分期相关。SP17、SPAG9、OY-*TES-1* 或可成为卵巢上皮性癌免疫治疗的靶位点。

关键词: 癌-睾丸抗原; 精子蛋白 17; 精子相关抗原 9; OY-*TES-1*; 上皮性卵巢癌; 去甲基化; 临床病理特征
中图分类号: R 737.31 **文献标识码:** A **文章编号:** 1674-8182(2016)10-1307-05

Demethylation expressions of SP17, SPAG9 and OY-*TES-1* in ovarian epithelial cancer tissues and their relationship with clinicopathological features

CUI Meng-yao*, CEN Yao

* Inner Mongolia Medical University, Hohhot, Inner Mongolia 010010, China

Corresponding author: CEN Yao, E-mail: cenyao_2006@126.com

Abstract: Objective To detect demethylation expressions of cancer-testis antigens [sperm protein 17 (SP17), sperm associated antigen 9 (SPAG9) and OY-*TES-1*] of gene promotor regions in ovarian epithelial cancer and non ovarian cancer tissues, and to analyze the association with demethylation expression and clinicopathological staging of ovarian epithelial cancer. **Methods** From January 2015 to April 2016, twenty-five fresh samples of ovarian epithelial cancer and 25 fresh samples of non ovarian cancer tissues were collected. DNA acid bisulfite conversion, PCR amplification and methylation sensitive inner enzyme digestion method were used to detect the demethylation expressions of SP17, SPAG9 and OY-*TES-1* in CpG islands of ovarian epithelial cancer and non ovarian cancer tissues. **Results** Compared with non ovarian cancer tissues, SP17, SPAG9 and OY-*TES-1* in gene promotor regions presented high demethylation expressions in ovarian epithelial cancer tissues (all $P < 0.01$). There were no significant differences in positive demethylation expression rates of these three kinds of cancer-testis antigen of gene promotor regions in age, histological types and degree of tumor differentiation (all $P > 0.05$). The positive demethylation expression rates of SP17 and SPAG9 of promotor regions were significantly higher in patients with lymph node metastasis than those in patients without lymph node metastasis ($P < 0.01, P < 0.05$), and also significantly higher in patients with TNM stage III-IV than those in patients with TNM stage I-II (all $P < 0.05$), while the positive demethylation expression rate of OY-*TES-1* of promotor regions was higher in patients with lymph node metastasis

than that in patients without lymph node metastasis only ($P < 0.05$). **Conclusions** SP17, SPAG9 and OY-TES-1 of gene promotor regions present high demethylation expressions in ovarian epithelial cancer tissues. The demethylation expressions are associated with lymph node metastasis and tumor staging in some patients, but not with the age of onset, histological types and degree of tumor differentiation in all patients. SP17, SPAG9 and OY-TES-1 may be served as targets for the immunotherapy of ovarian epithelial cancer.

Key word: Sperm protein 17; Sperm associated antigen 9; OY-TES-1; Cancer-testis antigen; Ovarian epithelial cancer; Demethylation; Clinicopathological feature

在妇科恶性肿瘤中上皮性卵巢癌是位居首位的死亡因素,2012 年一项流行病学调查提示:中国卵巢癌粗发病率从 2003 年到 2007 年增长了 18.85%;其中,城市上升 10.37%,农村更是上升了 102.60%^[1]。但接近 70% 的卵巢癌患者出现症状时已经是国际妇产科联盟 (FIGO) 分期的 II B 期或 IV 期。目前卵巢癌治疗仍以手术为主,辅以放、化疗及其他综合治疗,但其 5 年生存率仅为 40%~50%^[2]。免疫治疗作为一种新兴辅助治疗,目前已运用到多种肿瘤治疗中,并取得一定的临床效果,为探讨精子蛋白 17 (sperm protein 17, SP17)、精子相关抗原 9 (sperm associated antigen 9, SPAG9)、OY-TES-1 这三种癌-睾丸抗原基因启动子区域去甲基化程度及其与卵巢癌临床病理分期的关系,为卵巢癌免疫学治疗提供理论依据,我们设计了本实验。

1 材料与方 法

1.1 标本和主要试剂 25 例卵巢上皮性癌患者卵巢标本均来自内蒙古自治区人民医院 2015 年 1 月至 2016 年 4 月住院的患者,所有卵巢上皮性癌标本均经病理检测确定;25 例非卵巢癌患者的标本来自内蒙古自治区人民医院 2015 至 2016 年同期卵巢良性肿物及因子宫肌瘤、子宫腺肌症等需要切除卵巢的卵巢组织。所有的标本取出后置于液氮环境中保存。主要试剂:DNA 提取及纯化试剂盒 (Wizard® Genomic DNA Purification Kit),甲基化试剂盒 (MethylEdge™ Bisulfite Conversion System)。

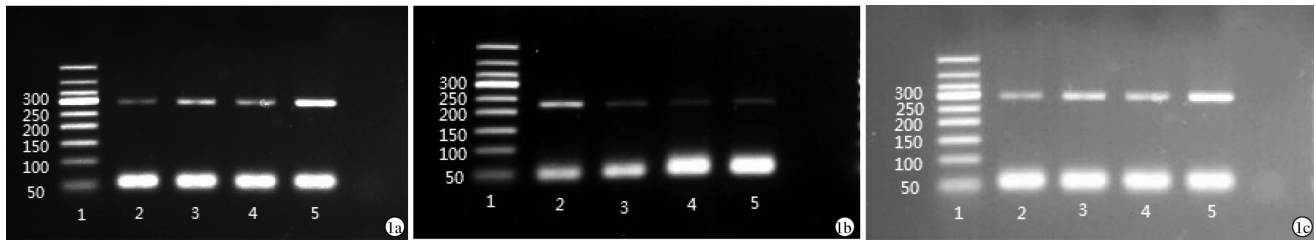
1.2 实验方法

1.2.1 DNA 的提取 取 20 mg 置于液氮环境中保存的样本,用消毒后的剪刀将其剪碎,置于 DNA 提取及纯化试剂盒中 1.5 ml 的离心管中,加 275 μ l 溶解消化混合物[包括:200 μ l 细胞核溶解溶液;50 μ l 乙二胺四乙酸 (0.5 mol/L, pH = 8.0);20 μ l 蛋白酶 K (20 mg/ml);5 μ l 核糖核酸酶 A 溶液 (4 mg/ml)],置于 55 $^{\circ}$ C 恒温培养箱中孵化 18 h。于孵化后的样本中加入 250 μ l 的 Wizard SV 溶解缓冲液,充分混匀后转移至迷你收集装置中,离心转移后,取过滤后的产物

重复用 650 μ l 的 CWA 洗液 (含有 95% 酒精) 清洗 4 遍,离心、干燥、转移后,于清洗后的反应装置中加入 250 μ l 室温的无酶水,孵育 2 min 后离心,并重复上述操作 1 遍,得到净化的 DNA。并置于 -20 $^{\circ}$ C 保存。使用核酸蛋白测定仪测定 DNA 纯度与浓度,取 OD260/OD280 比值在 1.8~2.0 范围内并且 OD260 在 0.02 以上的样本。

1.2.2 DNA 亚硫酸盐修饰 取 20 μ l 的 DNA 样本,加入 130 μ l 酸性亚硫酸盐试剂,混匀离心后,于 98 $^{\circ}$ C 下孵育 8 min,54 $^{\circ}$ C 下孵育 60 min 后保存于 4 $^{\circ}$ C,并加入 600 μ l Me 混合缓冲液,离心后取收集管中过滤后的液体加入 100 μ l 1 \times Me 清洗缓冲液 (含有酒精),离心过滤后加入 200 μ l Me 脱硫缓冲液,关紧装置盖子并于室温中孵育 15 min,在最大转速下离心 ($\geq 10\ 000 \times g$) 30 s。于反应过滤后的液体中加入 200 μ l Me 清洗缓冲液 (含有酒精) 清洗,于最大转速下离心后取过滤溶液重复上述清洗 1 遍。将最终清洗后的液体转移至干净的 EP 管中,加入 20 μ l Me 洗脱缓冲液,最大转速下离心 30 s,并于室温中孵育 2 min,最终得到亚硫酸氢盐修饰后的 DNA 置于 -20 $^{\circ}$ C 保存。

1.2.3 PCR 扩增 利用 CpG 岛预测软件搜索并分析目的基因转录起始位点上、下游各 1 000 bp 范围内的 CpG 岛。软件设定 GC 含量 > 50%, CpG 出现频率 > 0.6。引物由美吉生物技术公司合成。引物序列见表 1。PCR 反应体系:取 0.5 μ l cDNA 样本,上游引物 0.75 μ l,下游引物 0.75 μ l,2 \times KAPA HiFi 酶 12.5 μ l,PCR-grade 水 10.5 μ l,共 25 μ l。反应条件:在 95 $^{\circ}$ C 预变性 3 min,然后进行 PCR 反应,98 $^{\circ}$ C 变性 20 s,退火 15 s (根据引物调节退火温度:SP17 引物的退火温度为 67 $^{\circ}$ C;SPAG9 引物的退火温度为 69 $^{\circ}$ C;OY-TES-1 退火温度为 70 $^{\circ}$ C),72 $^{\circ}$ C 延伸 30 s,35 个循环,72 $^{\circ}$ C 延伸 1 min。PCR 产物行 2.5% 琼脂糖凝胶电泳后采用凝胶成像系统进行分析,SP17 PCR 产物的大小为 294 bp;SPAG9 PCR 产物的大小为 227 bp;OY-TES-1 PCR 产物的大小为 300 bp。三种癌-睾丸抗原在卵巢上皮性癌及非卵巢癌患者 DNA



注:1a:SP17;1b:SPAG9;1c:OY-TES-1;1 为标记;2,3 为卵巢癌组织;4,5 为非卵巢癌组织。

图 1 三种癌-睾丸抗原在卵巢上皮性癌及非卵巢癌 DNA 中被亚硫酸氢盐修饰后的电泳图

中被亚硫酸氢盐修饰后的电泳图见图 1,说明 PCR 后的产物均被亚硫酸氢盐修饰。PCR 后产物的甲基化测定由美吉生物技术公司完成。

1.3 统计学方法 所得数据用 SPSS 19.0 软件处理。计数资料采用 χ^2 检验或 Fisher 确切概率法进行比较。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

表 1 PCR 引物序列

基因	序列	长度 (bp)	退火温度 (°C)
SP17	上游:GGGTTTAATTTACTAGATTTTGTAGAT	294	67.2
	下游:AAACCCACTTCCCAATCCTAAAC		
SPAG9	上游:TTATTTGGGTAGATTTTGGTTATGG	259	68.8
	下游:AACTTTTTAAACTCACAAAACACTACT		
OY-TES-1	上游:TTTATTAATAATAATAAATTAGTTGGG	212	69.6
	下游:TAACAACAACACTACCTTCACTTAAC		

2 结果

2.1 两种组织中三种癌-睾丸抗原去甲基化阳性率

表 2 两种组织中三种癌-睾丸抗原去甲基化比较 例 (%)

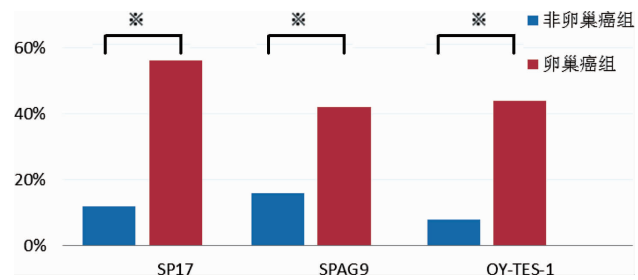
分组	例数	SP17		SPAG9		OY-TES-1	
		去甲基化	甲基化	去甲基化	甲基化	去甲基化	甲基化
卵巢癌组	25	14(56.0)	11(44.0)	13(52.0)	12(48.0)	11(44.0)	14(56.0)
非卵巢癌组	25	3(12.0)	22(88.0)	4(16.0)	21(84.0)	2(8.0)	23(92.0)
χ^2 值		10.783		7.219		8.420	
P 值		<0.01		<0.01		<0.01	

表 3 三种癌-睾丸抗原与临床病理特征的特点 (例)

临床病理特征	SP17			SPAG9			OY-TES-1		
	去甲基化	甲基化	P 值	去甲基化	甲基化	P 值	去甲基化	甲基化	P 值
年龄									
≥50 岁	9	6	0.697	8	7	1.000	7	8	1.000
<50 岁	5	5		5	5		4	6	
组织类型									
浆液性囊腺癌	10	8	0.408	10	8	0.813	8	10	0.408
黏液性囊腺癌	3	2		2	3		2	3	
子宫内膜样癌	1	1		1	1		1	1	
分化程度									
高分化	2	6	0.073	2	6	0.167	1	7	0.096
中分化	4	3		4	3		4	3	
低分化	8	2		7	3		6	4	
淋巴结转移									
有	12	3	0.005 *	10	4	0.047 *	9	5	0.042 *
无	2	8		3	8		2	9	
临床分期									
I ~ II 期	3	7	0.049 *	2	7	0.041 *	2	8	0.099
III ~ IV 期	11	4		11	5		9	6	

比较 SP17、SPAG 9 和 OY-TES-1 基因启动子区去甲基化阳性率均显示,在卵巢上皮性癌组织中明显高于非卵巢癌组织(P 均 < 0.01)。见图 2、表 2。

2.2 25 例卵巢上皮性癌组织中三个基因去甲基化联合检测的结果 25 例卵巢上皮性癌组织中至少检测到一种癌-睾丸抗原;20 例卵巢上皮性癌组织中至少检测到两种癌-睾丸抗原;7 例卵巢上皮性癌组织中同时检测到三种癌-睾丸抗原,提示联合检测三种



注: * 表示组间比较, $P < 0.01$ 。

图 2 三种癌-睾丸抗原启动子区去甲基化阳性率比较

癌-睾丸抗原中的去甲基化阳性率较单独检测一种癌-睾丸抗原能提高诊断的准确度。

2.3 三种癌-睾丸抗原与临床病理特征的关系 三种癌-睾丸抗原基因启动子区域去甲基化表达阳性率在卵巢上皮性癌不同年龄、不同组织学类型、不同分化程度中比较,差异无统计学意义(P 均 >0.05); SP17、SPAG9 启动子区域去甲基化表达阳性率在有淋巴结转移者中高于无淋巴结转移者($P < 0.01$, $P < 0.05$);在Ⅲ~Ⅳ期患者中高于Ⅰ~Ⅱ期患者(P 均 <0.05);而 OY-*TES-1* 启动子区域去甲基化表达阳性率仅在淋巴结转移者中高于无淋巴结转移者($P < 0.05$)。见表 3。

3 讨论

癌-睾丸抗原是由免疫原基因产生,在正常的组织中低表达或不表达,但在不同组织类型的恶性肿瘤细胞中表达,是肿瘤早期检测及免疫治疗具有潜能的抗原靶点^[3]。研究表明在原发性卵巢癌肿瘤组织中,通过 RT-PCR 法检测卵巢癌细胞系和组织切片,发现 SP17 mRNA 的阳性率为 83%;SPAG 9 mRNA 的阳性表达率为 90%;OY-*TES-1* mRNA 的阳性表达率为 69%^[4]。卵巢癌患者外周血单个核细胞可产生特异性的抗 SP17 的细胞毒性 T 淋巴细胞,提示 SP17 具有成为卵巢癌疫苗的潜力^[5];在 67% 的卵巢癌患者血清中检出抗 SPAG 9 抗体存在,更有意义的是,在早期卵巢癌患者(Ⅰ期或Ⅱ期)中 SPAG 9 血清抗体高达 62.5%,提示 SPAG 9 可以作为卵巢癌早期诊断的标志物^[6]。这些为探究这三种癌-睾丸抗原基因启动子区域甲基化的改变对卵巢癌发生的影响提供了理论依据。

肿瘤的发生一部分是由于基因序列的改变所致基因表达的异常,还有一部分是影响基因转录及翻译而 DNA 的序列不发生改变的基因表达调控(包括甲基化、组蛋白修饰和染色质重塑及 RNA 干扰)^[7]。本研究主要探究 SP17、SPAG9、OY-*TES-1* 基因启动子区域在卵巢上皮性癌中的甲基化表达,发现其基因启动子区域在卵巢上皮性癌中去甲基化表达,与非卵巢癌相比存在差异。这三种基因的去甲基化表达可以激活肿瘤的原癌基因,从而使其蛋白行使功能;也有可能启动并维护肿瘤干细胞样细胞,促进肿瘤的发生和恶性进展^[8-9];还有可能上调上皮细胞-间充质转化和转移基因,使属于上皮细胞来源的恶性肿瘤细胞获得迁移和侵袭能力^[10]。其可能在卵巢上皮性癌的发生发展过程中起重要的作用,有可能成为卵巢上皮

性癌早期诊断的肿瘤标记物。

Odunsi 等^[11]在纽约食管鳞状上皮癌抗原 1(NY-ESO-1)受甲基化调控的基础上,运用 NY-ESO-1 疫苗治疗 12 名复发的上皮性卵巢癌患者,在大多数肿瘤患者体内发现了增加的 NY-ESO-1 血清抗体和 T 细胞的免疫应答,同时也引起其他针对抗原的抗体产生。本研究结果表明,SP17、SPAG9、OY-*TES-1* 基因启动子区域去甲基化程度与卵巢上皮性癌发生的年龄、组织学类型、分化程度无关,SP17、SPAG9 启动子区域去甲基化表达与卵巢癌淋巴结转移情况及分期有关;而 OY-*TES-1* 启动子区域去甲基化表达仅与卵巢癌淋巴结转移有关,提示这三种癌-睾丸抗原基因启动子区域去甲基化的检测可能对预测卵巢癌淋巴结转移、判断其临床分期、提示卵巢上皮性癌的预后具有重要意义。

在卵巢癌治疗方面,DNA 甲基化过程是可逆的,通过逆转 DNA 去甲基化可使得激活的基因再次抑制,这种使去甲基化的癌-睾丸抗原基因甲基化的方法可作为卵巢癌免疫治疗潜在的药物靶点,最近,有科学家将基因治疗的方法(如基因自杀治疗)与一些癌-睾丸抗原的特殊表达结合在一起,Yawata 等^[12]运用滑膜肉瘤 X 断裂点基因(SSX4)的启动子在胶质瘤中表达,而在正常胶质细胞中不表达的特性,将携带有自杀基因的逆转录病毒载体导入胶质瘤细胞中,SSX4 的启动子将单纯疱疹病毒胸苷激酶基因启动,从而发现胶质瘤细胞系有效地被更昔洛韦(阻止病毒复制)杀死。上述研究表明,运用 SP17、SPAG9、OY-*TES-1* 基因启动子区域在卵巢上皮性癌中高去甲基化表达的特性,可能会使卵巢癌免疫治疗的临床应用成为现实。

有研究表明癌-睾丸抗原基因的去甲基化程度在不同种类肿瘤中有一定的时间特异性,在某些癌症(如膀胱癌)早期诊断及癌前病变中存在广泛的低甲基化表达,而在某些肿瘤(如结肠癌)中其去甲基化多表达于肿瘤发生的后期^[13],所以仍需要继续研究这三种癌-睾丸抗原启动子区域在卵巢上皮性癌不同时期的去甲基化表达变化,从而为其免疫治疗的时间提供更充足的理论依据。癌-睾丸抗原家族有超过 100 种抗原,其余抗原是否存在卵巢癌特异性标记物尚需更多研究;本实验未从血清中提取癌-睾丸抗原的 DNA,未做肿瘤组织与血清学基因启动子区域去甲基化水平的对比,可能无法充分说明卵巢上皮性癌的发生机制,将在下一步实验中继续研究。

性增强,而 Survivin 促进细胞增殖存活,从而形成新的病灶,使腺肌病发生发展。

参考文献

- [1] Ambrosini G, Adidia C, Altieri DC. A novel Anti-apoptosis gene, Survivin, expressed in Cancer and Lymphoma [J]. *Nature Med*, 1997, 3(8):917-921.
- [2] Li E. Role of Survivin and its splice variants in tumori - genesis [J]. *Br J Cancer*, 2005, 92(2):212-216.
- [3] Wu J, Zhao S, Zhang J, et al. Over-expression of survivin is a factor responsible for differential responses of ovarian cancer cells to S-allylmercaptocysteine (SAMC) [J]. *Exp Mol Pathol*, 2016, 100(2):294-302.
- [4] 陈阳静,李宏慧,赵瑞敏,等. Survivin 蛋白在喉癌组织中的表达及临床意义分析 [J]. *中国临床研究*, 2016, 29(1):72-74.
- [5] 汤淼,王敏. 生存素在子宫腺肌病异位病灶中的表达及其意义 [J]. *中国妇产科临床杂志*, 2007, 3(8):213-215.
- [6] 唐利,龙玉芬,李燕,等. Survivin 与 Smac 在子宫腺肌病中的表达及意义 [J]. *实用医学杂志*, 2013, 29(20):3320-3322.

- [7] 王爽,吕丽春,周伟,等. 转录因子 snail 及黏附分子 E-cadherin 在鼻咽癌中的表达 [J]. *广东医学杂志*, 2011, 31(7):845-847.
- [8] 华金莲,王秀伟. 子宫腺肌病患者在位及异位内膜中 E-cadherin 的表达及意义 [J]. *山东医药*, 2008, 48(18):69-70.
- [9] 王秀伟. 子宫腺肌病患者上皮型钙粘附因子、诱生型一氧化氮合酶表达的研究 [D]. 济南:山东大学, 2004.
- [10] 余星,陈雄,黄娟. 子宫内位异位性疾病患者子宫内位组织 EGFR 和 EMT 相关蛋白表达及意义 [J]. *山东医药*, 2015, 55(44):18-20.
- [11] 龚青. E-cadherin、Snail 在子宫腺肌病中的表达及意义初步研究 [D]. 武汉:华中科技大学, 2012.
- [12] Peroukides S, Bravou V, Alexopoulos A, et al. Survivin overexpression in HCC and liver cirrhosis differentially correlates with p-STAT₃ and E-cadherin [J]. *Histol Histopathol*, 2010, 25(3):299-307.
- [13] 熊萍香,周玉平,熊江琴,等. 血吸虫病患者不同胃黏膜病变中 Survivin、p53、E-cadherin 蛋白表达及临床意义 [J]. *实用临床医学*, 2015, 16(3):15-18.

收稿日期:2016-06-15 修回日期:2016-07-14 编辑:石嘉莹

(上接第 1310 页)

参考文献

- [1] 杨念念,严亚琼,龚洁,等. 中国 2003~2007 年卵巢癌发病与死亡分析 [J]. *中国肿瘤*, 2012, 21(6):401-405.
- [2] Jayson GC, Kohn EC, Kitchener HC, et al. Ovarian cancer [J]. *Lancet*, 2014, 384(9951):1376-1388.
- [3] Sammut SJ, Feichtinger J, Stuart N, et al. A novel cohort of cancer-testis biomarker genes revealed through meta-analysis of clinical data sets [J]. *Oncoscience*, 2014, 1(5):349-359.
- [4] 黄巍,范蓉. 癌-睾丸抗原与卵巢癌 [J]. *中国妇幼保健*, 2010, 25(21):3053-3055.
- [5] Straughn JM Jr, Shaw DR, Guerrero A, et al. Expression of sperm protein 17 (Sp17) in ovarian cancer [J]. *Int J Cancer*, 2004, 108(6):805-811.
- [6] Garg M, Chaurasiya D, Rana R, et al. Sperm-associated antigen 9, a novel cancer testis antigen, is a potential target for immunotherapy in epithelial ovarian cancer [J]. *Clin Cancer Res*, 2007, 13(5):1421-1428.
- [7] 陆嵘,房静远. 表观遗传修饰与肿瘤 [J]. *生命科学*, 2006, 18(1):10-14.

- [8] 刘运强,张思仲. 癌/睾丸抗原基因研究进展 [J]. *免疫学杂志*, 2006, 22(3):S80-S82.
- [9] Yamada R, Takahashi A, Torigoe T, et al. Preferential expression of cancer/testis genes in cancer stem-like cells: proposal of a novel subcategory, cancer/testis/stem gene [J]. *Tissue Antigens*, 2013, 81(6):428-434.
- [10] Yang P, Huo Z, Liao H, et al. Cancer/testis antigens trigger epithelial-mesenchymal transition and genesis of cancer stem-like cells [J]. *Curr Pharm Des*, 2015, 21(10):1292-1300.
- [11] Odunsi K, Matsuzaki J, James SR, et al. Epigenetic potentiation of NY-ESO-1 vaccine therapy in human ovarian cancer [J]. *Cancer Immunol Res*, 2014, 2(1):37-49.
- [12] Yawata T, Maeda Y, Okiku M, et al. Identification and functional characterization of glioma-specific promoters and their application in suicide gene therapy [J]. *J Neurooncol*, 2011, 104(2):497-507.
- [13] Kanojia D, Garg M, Gupta S, et al. Sperm-associated antigen 9 is a novel biomarker for colorectal cancer and is involved in tumor growth and tumorigenicity [J]. *Am J Pathol*, 2011, 178(3):1009-1020.

收稿日期:2016-06-26 修回日期:2016-07-10 编辑:石嘉莹