УДК 612.017.1: 618.146-006.6-085

МЕХАНИЗМЫ РЕГУЛЯЦИИ ЭКСПРЕССИИ РАКОВЫХ ТЕСТИКУЛЯРНЫХ АНТИГЕНОВ

Водолажский Д.И., Кит О.И., Могушкова Х.А., Пушкин А.А., Межевова И.В., Тимошкина Н.Н.

ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» МЗ РФ, Ростов-на-Дону, e-mail: dvodolazhsky@gmail.com

Раковые тестикулярные антигены (РТА) или CancerTestisAntigens (CTA) представляют собой большое семейство опухолевых антигенов, экспрессирующихся, в основном, опухолями человека. Такая топически ограниченная экспрессия вместе с естественными сильными иммуногенными свойствами превращают РТА в идеальную мишень для разработки специфических иммуно-терапевтических подходов. Целью данного обзора было обобщение основных известных механизмов регуляции экспрессии РТА и выполняемых ими функциях, знание которых может быть полезно для создания новых вакцин и оптимизации их работы при лечении онкологических заболеваний. Фармакологическое воздействие на профили экспрессии РТА с помощью ДНК гипометилирующих препаратов обсуждается в качестве возможного подхода для использования в новых схемах комбинированной терапии потенциально способных улучшить эффективность иммунотерапии онкологических пациентов.

Ключевые слова: раковый тестикулярный антиген, тумор ассоциированный антиген, дендритно-клеточная вакцина, микроРНК, экспрессия, ДНК, гипометилирующий агент, метилирование.

MECHANISMS OF REGULATION OF EXPRESSION OF CANCER TESTIS ANTIGENS

Vodolazhsky D.I., Kit O.I., Mogushkova H.A., Pushkin A.A., Mezhevova I.V., Timoshkina N.N.

Rostov Research Institute of Oncology, Rostov-on-Don, e-mail: dvodolazhsky@gmail.com

Cancer testis antigens (CTA) are a large family of tumor antigens that are expressed primarily in human tumors. Such topically limited expression along with strong immunogenic properties of natural CTA make them an ideal target for the development of specific immuno-therapeutic approaches. The aim of this review was a generalization of the main known mechanisms of regulation of expression of CTA and functions performed, knowledge of which may be useful for the development of new vaccines and for optimization of their performance in the treatment of cancer. Pharmacological effect on CTA expression profiles with DNA hypomethylating agents is discussed as a possible approach for use in new schemes of combination therapy that can potentially improve the efficiency of the immunotherapy for oncological patients.

Keywords: Cancer Testis Antigens (CTA), Tumor antigen, dendritic cell vaccine, microRNA, expression, DNA hypomethylating agent, methylation.

Более ста лет назад John Beard предложил «трофобластную теорию рака», основанную на сходных биологических особенностях клеток трофобласта и раковых клеток. Эта теория предсказывает, что раковые клетки могут возникать из зародышевых клеток, которые не в состоянии завершить свою эмбриональную миграцию к гонадам. Известные на сегодняшний день факты подтверждают подобие между развитием половых и раковых клеток. Существуют экспериментальные данные, согласно которым ряд опухолей человека секретирует хорионический гонадотропин человека [48].

Дополнительные доказательства трофобластной теории рака были получены после открытия белковых антигенов, которые присутствуют только в зародышевых клетках, трофобластах и опухолях. Эти антигены первоначально описали как раковые тестикулярные (РТ) антигены на основании тканевой локализации их паттерна экспрессии (тестикулярная

локализация). Однако последние данные позволяют предположить, что эту группу генов более правильно рассматривать как раково-герминальные (РГ) антигены, так как они обычно экспрессируются в эмбриональных яичниках [18]. Обнаружение РГ (или РТ) антигенов подтверждает теорию, согласно которой одной из причин онкогенеза является ненормальная активация генов гамет в соматических клетках.

В последние десятилетия усилия сообщества онко-иммунологов были направлены на поиски тумор-ассоциированных антигенов (ТАА), способных вызвать направленный против опухоли иммунный ответ, и создание соответствующих вакцин. Значительные успехи были сделаны в области идентификации ТАА человека, распознаваемых Т-клетками. В начале 1990-х годов, Бун и др. сообщили о первом успешном клонировании антигена опухоли человека, названного меланомным антигеном-1 (MAGE-1). MAGE-1 вызывал специфический ответ аутологичных цитотоксических Т-лимфоцитов (ЦТЛ) у пациента с меланомой [53].

Раковые тестикулярные антигены (РТА) или Cancer Testis Antigens (CTA) представляют собой большое семейство опухолевых антигенов, экспрессирующихся в опухолях человека различного гистологического происхождения, а в нормальных тканях – только в семенниках и плаценте. Такая топически ограниченная экспрессия вместе с естественными сильными иммуногенными свойствами превращают РТА в идеальную мишень для разработки специфических иммуно-терапевтических подходов при лечении опухолей. Разработано несколько ДКВ-вакцин с использованием РТА, проходящие клинические испытания [1; 2; 64; 65]. В связи с интересом для практического применения в последнее время были предприняты значительные усилия для более детального изучения характеристик биологии РТА. На сегодняшний день идентифицировано 70 семейств РТА, включающих в себя около 140 членов. Большинство из этих РТА экспрессируются в процессе сперматогенеза, но их функции до сих пор неизвестны. По всей видимости, эпигенетические события, особенно метилирование ДНК и пост-транскрипционная регуляция, являются основными механизмами, контролирующими экспрессию РТА в нормальных, онко-трансформированных, а также в раковых стволовых клетках.

Цель данного обзора – общий анализ и предоставление информации об основных механизмах регуляции экспрессии РТА и выполняемых ими функциях, знание которых может быть полезно для создания новых вакцин и оптимизации их работы при лечении онкологических заболеваний. Фармакологическое воздействие на профили экспрессии РТА опухолевыми клетками с помощью ДНК гипометилирующих препаратов обсуждается в качестве возможного подхода для использования в новых схемах комбинированной терапии потенциально способных улучшить эффективность иммунотерапии онкологических пациентов.

1. Экспрессия РТА в нормальных и раковых тканях

В тканях семенников гены X- РТА экспрессируются, прежде всего, в сперматогониях – пролиферирующих половых клетках, в то время как non-X- РТА экспрессируются на более поздних стадиях дифференцировки, например, в сперматоцитах [48]. В дополнение к экспрессии в тестикулах, экспрессия MAGE-A3, MAGE-A8, MAGE-A10, XAGE-2и XAGE-3 была найдена в плаценте [6]. Показано, что некоторые соматические ткани, такие как поджелудочная железа, печень и селезенка экспрессируют мРНК нескольких РТА. Тем не менее, на основании результатов данных количественной RT-PCR, уровни мРНК генов РТА в соматических тканях составляют, как правило, <1 % от их экспрессии в семенниках [6; 42].

РТА широко распространены в опухолях различных гистотипов. Имеющиеся данные основаны, главным образом, на анализе их транскриптов и демонстрируют, что экспрессия РТА в опухолях значительно варьирует как по степени выраженности, так и по качественному составу паттернов экспрессии. Согласно данным RT-PCR, члены различных семейств и супер-семейств РТА в основном экспрессируются в клетках меланомы, опухолях мочевого пузыря и немелкоклеточного рака легкого, умеренно экспрессируются в опухолях молочной железы и простаты, слабо экспрессируются в опухолях почки и толстой кишки [41, 42], а также в гематологических опухолях, таких как первичная эффузионная лимфома, ходжкинская и неходжкинская лимфомы [7,16]. По всей видимости, РТА MAGE-A1,MAGE-A3, NY-ESO-1, SSX-2 и SSX-4 экспрессируются наиболее часто, в то время как BAGE, GAGE-A1 и SCP-1 – редко [41]. Частота обнаружения мРНК генов NY-ESO-1 составляет от 17 до 42 % в меланомах [8; 37; 44], от 32 % до 80 % при раке мочевого пузыря [29; 42], приблизительно 27 % при немелкоклеточном раке легкого (НМРЛ) [19], и от 2 до 10 % при раке толстой кишки [30]. В то же время экспрессию РТА не идентифицировали в почечно-клеточной карциноме и лимфоме [8]. Аналогично, транскрипция MAGE-A3 была отмечена в 57–76 % меланом [5; 17; 36; 44], 35–60 % НМРЛ [34; 40], 57 % случаев рака мочевого пузыря [53], в 75 % случаев плоскоклеточного рака пищевода [59] и в 42 % гепатокарцином [9]. Активность гена BAGE была обнаружена в 21 % гепатокарцином [28], в 17–20 % НМРЛ [34; 52], в 14 % – 28 % меланом [4; 37; 44] и в 15 % случаев рака мочевого пузыря [41]. По некоторым данным в различных опухолях наблюдается множественная ко-экспрессия РТА [19]. Исследование, проводившееся с целью оценки экспрессии РТА в опухолях молочной железы и меланомы, показало, что экспрессия РТА отсутствовала в 47 % опухолей молочной железы и 26 % меланом, а в 40 % случаев рака молочной железы и 65 % меланом наблюдалась экспрессия, по меньшей мере, трёх РТА [39]. В то время как 11 из 33 опухолей легких не продемонстрировали экспрессии ни одного из исследованных РТА, 19 из 22 РТА – положительных опухолей легкого экспрессировали, по крайней мере, два РТА, а 13 из 22

экспрессировали три РТА-маркера [40]. Статистически значимой связи между экспрессией исследованных РТА (MAGE-A2, -A3 и -A4, GAGE-1-6, BAGE, NY-ESO-1 и PRAME) в различных метастатических образованиях 53-х пациентов с меланомой выявлено не было [44].

В дополнение к анализу мРНК методом RT-PCR, экспрессия некоторых РТА была исследована на протеомном уровне с помощью иммуногистохимических методов (ИГХ), показавших хорошую корреляцию с результатами экспрессии мРНК [23,30; 35]. Использование ИГХ-метода позволяет исследовать топику внутриопухолевой распространенности РТА, что демонстрирует внутриопухолевую неоднородность экспрессии РТА при онкологических заболеваниях. Менее чем 50 % опухолевых клеток окрашивается anti-MAGE-A1, анти-NY-ESO-1 или анти–SSX моноклональными антителами в большинстве РТА -положительных опухолей разных гистотипов [14; 23, 32].

2. Регуляция экспрессии РТА

Эпигенетические события представляют собой уникальный механизм обратимой и регулируемой экспрессии РТА как в нормальных, так и опухолевых клетках [22]. Термин «эпигенетические» относится к наследственным изменениям в экспрессии генов, которые не являются результатом изменений нуклеотидной последовательности геномной ДНК [1; 25; 44]. Метилирование ДНК, пост-трансляционные модификации гистонов и микроРНК-сайленсинг генов на сегодняшний день – наиболее полно охарактеризованные эпигенетические факторы, контролирующие экспрессию РТА.

2.1. Метилирование ДНК

Метилирование ДНК – общераспространенная модификация, приводящая к угнетению транскрипционной активности гена. Процесс метилирования ДНК млекопитающих реализуется ДНК-метил-трансферазами (DNMT) путём ковалентного присоединения метильной группы к цитозину в составе цитозин-гуаниновых динуклеотидов (CpG) в позиции 5’-углеродацитозинового кольца. Метилирование ДНК может стать причиной транскрипционного подавления генов в результате прямого нарушения связывания специфических факторов транскрипции с ДНК [57] или из-за присоединения метил-CpG-связывающих белков (MBD). MBD предотвращают транскрипцию генов путем привлечения хроматин ремоделирующих ко-репрессорных комплексов [21; 55; 56; 63]. Все исследованные гены РТА имели метилированные промоторы в нормальных, не-экспрессирующих РТА соматических тканях, и активировались путем деметилирования во время сперматогенеза [12]. Первые доказательства того, что экспрессия РТА (MAGE-1) регулируется метилированием ДНК, были получены Weber и соавт. В этой работе было продемонстрировано, что применение ДНК гипометилирующего агента (ДГА) 5-аза-2-

дезоксицитидина (5-AZA-CdDR) активировало экспрессию denovoгена MAGE-A1 в клеточной линии меланомы человека [58]. Дальнейшие исследования показали, что экспрессия гена MAGE-A1 коррелирует со статусом метилирования его промотора в неопластических клетках различных гистотипов [11]. Также для разных членов MAGE-A и NY-ESO показана инвариантная ассоциация экспрессии со статусом гипометилирования их промоторов в исследованных опухолях и клеточных линиях [11; 13;20; 44]. Доказательства того, что статус метилирования промоторов РТА является ведущим молекулярным механизмом регуляции экспрессии РТА, получены в экспериментах по трансфекции репортерных генов, управляющих РТА промоторами, и в экспериментах по метилированию/деметилированию invitro. В целом было продемонстрировано, что метилирование – единственный фактор, ограничивающий активность промотора РТА в раковых клетках [10,44]. Статус метилирования промоторов непосредственно отвечает за выраженную неоднородность внутри опухолевой экспрессии РТА, что часто наблюдается в меланомах человека [45]. Эта неоднородность метилирования промоторов наследуется в дочерних поколениях одной клетки [15]. Связь между гипометилированием ДНК промоторов и экспрессией РТА была подтверждена в популяциях стволовых клеток меланомы, что свидетельствует в пользу участия эпигенетической регуляции в контроле экспрессии генов РТА в раковых стволовых клетках [47].

2.2. Модификация гистонов

Модификация гистонов играет важную роль в эпигенетической регуляция экспрессии РТА [25; 46; 62]. Гистоны – это белки, содержащие гибкие N-концевые участки, выступающие из нуклеосомы, которые служат мишенью для пост-трансляционных модификаций, в том числе ацетилирования и метилирования.

2.2.1. Ацетилирование гистонов

Статус ацетилирования гистонов контролируется сбалансированным действием гистон-ацетилтрансфераз (histoneacetyltransferases – ГАТ), добавляющих ацетильные группы кN-концевым остаткам лизина, и гистоновых деацетилаз (histonedeacetylases – ГДА), играющих противоположную роль. Регуляция транскрипции путем ацетилирования довольно проста: ацетилирование гистонов приводит к разуплотнению хроматина и транскрипции генов, в то время как дезацетилирование приводит к уплотнению структуры хроматина и ассоциируется с репрессированием генов [22]. Эксперименты invitro показали, что ингибирование ГДАспецифическими ингибиторами (ГДАИ) ассоциировано с незначительным воздействием на экспрессию РТА в злокачественных опухолях человека. Однако некоторые данные продемонстрировали небольшое влияние на экспрессию генов MAGE-A и up-регуляцию транскрипционной активности метилирования и деметилирования

промоторов MAGE-A2 и -A12 генов после введения HDACi [62]. Подтверждает основную роль ГДА в функциональной модуляция экспрессии РТА, при комбинированном воздействии на раковые клетки различных гистотипов ГДА и HDACi и небольшой синергический эффект, в результате которого сочетанное воздействие этих агентов увеличивает уровни мРНК РТА по сравнению с воздействием только ГДА [43; 46; 60; 61].

2.2.2. Метилирование гистонов

Метилирование гистонов также регулирует экспрессию генов. Метилирование гистонов включает добавление метильных групп кN-терминальным остаткам аргинина и лизина и, в отличие от ацетилирования гистонов, связано как с активацией транскрипции, так и с репрессией, в зависимости от того, какой аминокислотный остаток модифицирован [38]. Первое исследование потенциальной роли метилирования гистонов в регуляции генов РТА продемонстрировало, что нокаутгистоновых метилтрансфераз (ГМТ или GLP), которые являются мишенью эухроматиновых локусов и катализируют H3K9 деметилирование (H3K9me2), был достаточным воздействием, чтобы индуцировать экспрессию генов MAGE-A в мышиных эмбриональных стволовых клетках [50; 51].

2.3 МикроРНК

МикроРНК – семейство небольших по размеру молекул РНК (от 19 до 21 нуклеотидов), негативно регулирующих экспрессию (RISC) и транскрипцию (RITS) многих генов.

3.1. МикроРНК-874 как опухолевый супрессор

Раковый тестикулярный антиген HCA587/MAGE-C2 рассматривается в качестве эффективной опухоль-специфичной мишени для иммунотерапии. Как было установлено, HCA587/MAGE-C2 играет активную роль в онкогенезе, стимулируя рост и выживаемость опухолевых клеток. Тем не менее механизмы регуляции экспрессии HCA587/MAGE-C2 в раковых клетках остаются в значительной степени неизвестными. Были проведены поиски микроРНК, регулирующих экспрессию гена HCA587/MAGE-C2. Эксперименты продемонстрировали, что мРНК гена HCA587/MAGE-C2 является прямой мишенью для микроРНК-874 (MIR-874). В то же время отмечена значительная отрицательная регуляция транскрипции микроРНК-874 в опухолевых тканях по сравнению с соседними нормальными тканями. В итоге избыточная экспрессия микроРНК-874 и, как следствие, подавление транскрипционной активности гена HCA587/MAGE-C2, приводит к угнетению пролиферативной и инвазионной активности опухолевых клеток. Более того, эффект угнетающего воздействия микроРНК-874 на пролиферацию и инвазию клеток мог быть обратимым при возобновлении экспрессии гена HCA587/MAGE-C2 в клетках линии A375. Таким образом, эти данные наглядно демонстрируют, что HCA587/MAGE-C2 является

прямой мишенью для микроРНК-874, которая может функционировать в качестве опухоль-супрессорной микроРНК, по крайней мере, частично, путем негативной регуляции транскрипционной активности гена HCA587/MAGE-C2 в онко-трансформированных клетках [49].

3.2. miR-200b как регулятор опухолевой супрессии

Раково-тестикулярные антигены или раково-ассоциированные гены (cancer-associated gene CAGE), участвуют в различных клеточных процессах, таких как пролиферация, подвижность клеток, а также ответственны за устойчивость клеток к противораковой терапии, однако механизм регуляции экспрессии CAGE остается неизвестным. Скрининговый модельный анализ позволил предсказать связывание микроРНК-200b (MIR-200B) с промоторами генов CAGE. Экспрессия генов CAGE продемонстрировала отрицательную корреляцию с транскрипционной активностью гена микроРНК-200b в различных линиях раковых клеток, что не исключает того, что микроРНК-200b служит эффективным сайленсером CAGE. МикроРНК-200b связывается с 3'-UTR CAGE и регулирует экспрессию этой группы генов на уровне транскрипции. В лабораторных условиях также было продемонстрировано, что эта микроРНК повышает чувствительность к действию препаратов, разрушающих микротрубочки клеток. В целом микроРНК-200b и CAGE оказывали противоположное действие на инвазию и реакцию на лекарственные противомикротрубочковые препараты. Эксперименты на ксено-трансплантатах показали, что микроРНК-200b отрицательно влияет на онкогенный и метастатический потенциал раковых клеток. При этом влияние на метастатический потенциал клеток реализовывалось на уровне регуляции экспрессии группы генов CAGE. МикроРНК-200b снижает онкогенный потенциал линий раковых клеток, резистентных к лекарственным препаратам, имеющим своей мишенью микротрубочки клеток, что также связано с понижением регуляции группы генов CAGE. Исследования хроматиновой иммуно-преципитации показали прямое регулирование со стороны микроРНК-200b на группу генов CAGE [26].

МикроРНК-200b отрицательно регулирует опухолевый ангиогенез. Эпигенетическое ингибирование генов CAGE приводит к понижению экспрессии PAI-1 (ингибитор плазминогена 1), белков, взаимодействующих с TGFβ, вовлеченных в ангиогенез, а также VEGF (семейство эндотелиальных факторов роста сосудов). CAGE – опосредованный опухоль – индуцированный ангиогенез необходим для VEGF-зависимого ангиогенеза. Человеческий рекомбинантный белок CAGE проявляет ярко выраженный ангиогенный потенциал. Таким образом, микроРНК-200b и группа генов CAGE образуют отрицательную регуляторную петлю и регулируют реакцию клеток на лекарственные препараты, имеющих

своими мишенями микротрубочки, а также на инвазионный, онкогенный потенциалы, и ангиогенез [26].

Заключение

Экспрессия раковых тестикулярных антигенов создаёт благоприятные предпосылки для лечения онкологических заболеваний методами иммунотерапии. Выяснение механизмов регуляции транскрипционной активности генов РТА в онко-трансформированных клетках необходимо для создания эффективных терапевтических подходов, позволяющих усилить иммуногенность опухолевых клеток при использовании деметилирующих агентов (5-aza-CdR) или, наоборот, подавить экспрессию микроРНК, таргетирущих транскрипцию РТА генов.

Списоклитературы

1. Водолажский Д.И., Меньшенина А.П., Двадненко К.В. и др. Опыт конструирования дендритно-клеточной вакцины для лечения рака шейки матки // Фундаментальные исследования. – 2015. – № 1. – С. 716-720.
2. Водолажский Д.И., Покудина И.О., Шкурат М.А. и др. Использование дендритных клеток в онкологии // Валеология. – 2015. – № 1. – С. 68-76.
3. Antequera F., Bird A. CpG islands as genomic footprints of promoters that are associated with replication origins // Curr. Biol. 1999. V.9. P.661-667.
4. Boel P., Wildmann C., Sensi M.L., Brasseur R., Renauld J.C., Coulie P., Boon T., van der B.P. BAGE: a new gene encoding an antigen recognized on human melanomas by cytolytic T lymphocytes // Immunity.1995. V.2. P. 167-175.
5. Brasseur F., Rimoldi D., Lienard D. et al. Expression of MAGE genes in primary and metastatic cutaneous melanoma // Int. J. Cancer. 1995. V.63. P. 375-380.
6. Caballero O.L., Chen Y.T. Cancer/testis (CT) antigens: potential targets for immunotherapy // Cancer Sci. 2009. V.100. P. 2014-2021.
7. Calabro L., Fonsatti E., Altomonte M. et al. Methylationregulated expression of cancer testis antigens in primary effusion lymphoma: immunotherapeutic implications // J. Cell Physiol. 2005. V. 202. P. 474-477.
8. Chen Y.T., Scanlan M.J., Sahin U. et al.A testicular antigen aberrantly expressed in human cancers detected by autologous antibody screening // Proc. Natl. Acad. Sci. USA.1997. V.94. P. 1914-1918.
9. Chen C.H., Huang G.T., Lee H.S. et al.High frequency of expression of MAGE genes in human hepatocellular carcinoma // Liver. 1999. V.19. P. 110-114.

10. De Smet C., Courtois S.J., Faraoni I. et al.Involvement of two Ets binding sites in the transcriptional activation of the MAGE1 gene // Immunogenetics.1995. V. 42. P. 282-290.

11. De Smet C., De Backer O., Faraoni I. et al.The activation of human gene MAGE-1 in tumor cells is correlated with genome-wide demethylation // Proc. Natl. Acad. Sci. USA.1996. V.93 P. 7149-7153.

12. De Smet C., Lurquin C., Lethe B., Martelange V., Boon T. DNA methylation is the primary silencing mechanism for a set of germ line- and tumor-specific genes with a CpG-rich promoter // Mol. Cell Biol. 1999. V.19. P. 7327-7335.

13. De Smet C., Loriot A., Boon T. Promoter-dependent mechanism leading to selective hypomethylation within the 5' region of gene MAGE-A1 in tumor cells // Mol. Cell Biol. 2004. V.24. P. 4781-4790.

14. dos Santos N.R., Torensma R., de Vries T.J. et al.Heterogeneous expression of the SSX cancer/testis antigens in human melanoma lesions and cell lines // Cancer Res. 2000. V.60. P. 1654-1662.

15. Fratta E., Sigalotti L., Colizzi F. et al.Epigenetically regulated clonal heritability of CTA expression profiles in human melanoma // J. Cell Physiol. 2010. V.223. P. 352-358.

16. Gattei V., Fonsatti E., Sigalotti L. et al.Epigenetic immunomodulation of hematopoietic malignancies // Semin. Oncol. 2005. V.32. P. 503-510.

17. Gaugler B., van den E.B., van der B.P. et al. Human gene MAGE-3 codes for an antigen recognized on a melanoma by autologous cytolytic T lymphocytes // J. Exp. Med. 1994. V.179. P. 921-930.

18. Gjerstorff M.F., Kock K., Nielsen O., Ditzel H.J. MAGE-A1, GAGE and NY-ESO-1 cancer/testis antigen expression during human gonadal development // Hum Reprod. 2007. V. 22(4). P.953–960.

19. Gure A.O., Chua R., Williamson B. et al. Cancer-testis genes are coordinately expressed and are markers of poor outcome in non-small cell lung cancer // Clin. Cancer Res. 2005. V.11. P. 8055-8062.

20. Honda T., Tamura G., Waki T. et al.Demethylation of MAGE promoters during gastric cancer progression // Br. J. Cancer.2004. V.90. P. 838-843.

21. Jones P.L., Veenstra G.J., Wade P.A. et al.Methylated DNA and MeCP2 recruit histone deacetylase to repress transcription // Nat. Genet. 1998. V.19. P. 187-191.

22. Iizuka M., Smith M.M., Functional consequences of histone modifications // Curr. Opin. Genet. Dev. 2003. V.13. P. 154-160.

23. Jungbluth A.A., Chen Y.T., Stockert E. et al. Immunohistochemical analysis of NY-ESO-1 antigen expression in normal and malignant human tissues // Int. J. Cancer.2001. V.92. P. 856-860.

24. Karpf A.R., Jones D.A. Reactivating the expression of methylation silenced genes in human cancer // Oncogene.2002. V.21. P. 5496-5503.

25. Karpf A.R. A potential role for epigenetic modulatory drugs in the enhancement of cancer/germ-line antigen vaccine efficacy // Epigenetics.2006. V.1. 116e120.

26. Kim Y., Park D., Kim H. et al. miR-200b and Cancer/Testis Antigen CAGE Form a Feedback Loop to Regulate the Invasion and Tumorigenic and Angiogenic Responses of a Cancer Cell Line to Microtubule-targeting Drugs // J of Biol Chem. 2013. V. 288(51). P. 36502–36518.

27. Klose R.J., Bird A.P. Genomic DNA methylation: the mark and its mediators // Trends Biochem. Sci. 2006. V.31. P. 89-97.

28. 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. Hepatol. 2000. V.32. P. 612-617.

29. Kurashige T., Noguchi Y., Saika T. et al. Ny-ESO-1 expression and immunogenicity associated with transitional cell carcinoma: correlation with tumor grade // Cancer Res. 2001. V.61. P. 4671-4674.

30. Landry C., Brasseur F., Spagnoli G.C. et al.Monoclonal antibody 57B stains tumor tissues that express gene MAGE-A4 // Int. J. Cancer 2000. V.86. P. 835-841.

31. Li M., Yuan Y.H., Han Y. et al. Expression profile of cancer-testis genes in 121 human colorectal cancer tissue and adjacent normal tissue // Clin. Cancer Res. 2005. V.11. P. 1809-1814.

32. Maio M., Coral S., Fratta E., Altomonte M., Sigalotti L. Epigenetic targets for immune intervention in human malignancies // Oncogene.2003. V. 22. P. 6484-6488.

33. Mashino K., Sadanaga N., Tanaka F. et al. Expression of multiple cancer-testis antigen genes in gastrointestinal and breast carcinomas // Br. J. Cancer.2001. V.85. P. 713-720.

34. Melloni G., Ferreri A.J., Russo V. et al. Prognostic significance of cancer-testis gene expression in resected nonsmall cell lung cancer patients // Oncol. Rep. 2004. V.12.P. 145-151.

35. Rimoldi D., Salvi S., Schultz-Thater E., Spagnoli G.C., Cerottini J.C. Anti-MAGE-3 antibody 57B and anti- MAGE-1 antibody 6C1 can be used to study different proteins of the MAGE-A family // Int. J. Cancer.2000. V.86. P. 749-751.

36. Roeder C., Schuler-Thurner B., Berchtold S. et al. MAGE-A3 is a frequent tumor antigen of metastasized melanoma // Arch. Dermatol. Res. 2005. V.296. P. 314-319.

37. Ruault M., van der Bruggen P., Brun M.E. et al. New BAGE (B melanoma antigen) genes mapping to the juxtacentromeric regions of human chromosomes 13 and 21 have a cancer/testis expression profile // Eur J Hum Genet. 2002. V.10 (12). P. 833-40.

38. Santos-Rosa H., Caldas C. Chromatin modifier enzymes, the histone code and cancer // Eur. J. Cancer.2005. V.41. P. 2381-2402.

39. Sahin U., Tureci O., Chen Y.T. et al. Expression of multiple cancer/testis (CT) antigens in breast cancer and melanoma: basis for polyvalent CT vaccine strategies // Int. J. Cancer.1998. V.78. P. 387-389.

40. Scanlan M.J., Altorki N.K., Gure A.O. et al. Expression of cancertestis antigens in lung cancer: definition of bromodomain testis-specific gene (BRDT) as a new CT gene, CT9 // Cancer Lett. 2000. V.150. P. 155-164.

41. Scanlan M.J., Gure A.O., Jungbluth A.A., Old L.J., Chen Y.T., Cancer/testis antigens: an expanding family of targets for cancer immunotherapy //Immunol. Rev. 2002. V.188 P. 22-32.

42. Scanlan M.J., Simpson A.J., Old L.J. The cancer/testis genes: review, standardization, and commentary // Cancer Immun. Jan.2004. V.23. P. 4-11.

43. Schrump, D.S., Nguyen, D.M., Targeting the epigenome for the treatment and prevention of lung cancer //Semin. Oncol. 2005. V.32. P. 488-502.

44. Sigalotti L., Coral S., Nardi G. et al. Promoter methylation controls the expression of MAGE2, 3 and 4 genes inhumancutaneous melanoma // Int. J. Cancer.2002. V.25. P. 16-26.

45. Sigalotti L., Fratta E., Coral S. et al. Intratumor heterogeneity of cancer/testis antigens expression in human cutaneous melanoma is methylationregulated and functionally reverted by 5-aza-20-deoxycytidine // Cancer Res. 2004. V.64. P. 9167-9171.

46. Sigalotti L., Fratta E., Coral S. et al. Epigenetic drugs as pleiotropic agents in cancer treatment: biomolecular aspects and clinical applications // J. Cell Physiol. 2007. V.212. P. 330-344.

47. Sigalotti L., Covre A., Zabierowski S. et al. Cancer testis antigens in human melanoma stem cells: expression, distribution, and methylation status // J. Cell Physiol. 2008. V.215. P. 287-291.

48. Simpson A.J., Caballero O.L., Jungbluth A., Chen Y.T., Old L.J. Cancer/testis antigens, gametogenesis and cancer // Nat Rev Cancer. 2005. V. 5(8). P.615–625.

49. Song X., Song W., Wang Y. et al. MicroRNA-874 Functions as a Tumor Suppressor by Targeting Cancer/Testis Antigen HCA587/MAGE-C2 // Journal of Cancer. 2016. V. 7(6). P. 656-663. doi: 10.7150/jca.13674.

50. Tachibana M., Sugimoto K., Nozaki M. et al. G9a histone methyltransferase plays a dominant role in euchromatic histone H3 lysine 9 methylation and is essential for early embryogenesis // Genes Dev. 2002. V.16. P. 1779-1791.

51. Tachibana M., Ueda J., Fukuda M. et al. Histone methyltransferases G9a and GLP form heteromeric complexes and are both crucial for methylation of euchromatin at H3-K9 // Genes Dev. 2005. V.19. P. 815-826.

52. Tajima K., Obata Y., Tamaki H. et al. Expression of cancer/testis (CT) antigens in lung cancer // Lung Cancer.2003. V.42. P. 23-33.

53. Van Der Bruggen P., Zhang Y., Chaux P. et al. Tumor-specific shared antigenic peptides recognized by human T cells //Immunol. Rev. 2002. V.188. P. 51-64.

54. Van der Bruggen P., Traversari C., Chomez P. et al. A gene encoding an antigen recognized by cytolytic T lymphocytes on a human melanoma // Science. 1991.V.13. P. 1643-1647.

55. Wade P.A., Gegonne A., Jones P.L. et al. Mi-2 complex couples DNA methylation to chromatin remodelling and histone deacetylation // Nat. Genet. 1999. V. 23. P. 62-66.

56. Wade P.A. Methyl CpG binding proteins: coupling chromatin architecture to gene regulation // Oncogene.2001. V.20. P. 3166-3173.

57. Watt F.M. Epidermal stem cells: markers, patterning and the control of stem cell fate //Philos Trans R SocLond. B.Biol Sci.1998. V.353. p. 831-837.

58. Weber J., Salgaller M., Samid D. et al. Expression of the MAGE-1 tumor antigen is up-regulated by the demethylating agent 5-aza-20-deoxycytidine // Cancer Res. 1994. V.54. P. 1766-1771.

59. Weinert B.T., Krishnadath K.K., Milano F. et al. Real-time PCR analysis of genes encoding tumor antigens in esophageal tumors and a cancer vaccine // Cancer Immun. 2009. V.9. P. 9.

60. Weiser T.S., Guo Z.S., Ohnmacht G.A. et al. Sequential 5-aza-20-deoxycytidinedepsipeptide FR901228 treatment induces apoptosis preferentially in cancer cells and facilitates their recognition by cytolytic T lymphocytes specific for NY-ESO-1 // J. Immunother. 2001a. V.24. P. 151-161.

61. Weiser T.S., Ohnmacht G.A., Guo Z.S. et al. Induction of MAGE-3 expression in lung and esophageal cancer cells // Ann. Thorac. Surg. 2001b. V.71. P. 295-301.

62. Wischnewski F., Pantel K., Schwarzenbach H. Promoter demethylation and histone acetylation mediate gene expression of MAGE-A1, -A2, -A3, and -A12 in human cancer cells // Mol. Cancer Res. 2006. V.4. P. 339-349.

63. Zhang Y., Ng H.H., Erdjument-Bromage H. et al. Analysis of the NuRD subunits reveals a histone deacetylase core complex and a connection with DNA methylation // Genes Dev. 1999. V.13. P. 1924-1935.