

РАКОВО-ТЕСТИКУЛЯРНЫЕ АНТИГЕНЫ В ДИАГНОСТИКЕ ОПУХОЛЕЙ ТОЛСТОЙ КИШКИ

Кит О.И.¹, Солдатова К.И.¹, Кутилин Д.С.¹, Водолажский Д.И.¹

¹ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Министерства здравоохранения РФ, Ростов-на-Дону, e-mail: k.denees@yandex.ru

Поиск предиктивных диагностических маркеров рака толстой кишки является актуальной задачей. В данном обзоре рассмотрены современные данные о возможности использования раково-тестикулярных антигенов в диагностике опухолей толстой кишки. Подробно описаны современная классификация раково-тестикулярных антигенов и их наиболее изученные семейства, механизмы регуляции экспрессии, особенности экспрессии некоторых раково-тестикулярных генов (*AKAP*, *OY-TES-1*, *NY-ESO-1*, *MAGE-A3*, *TSP50*, *SPAG9*, *PLAC1*, *GAGE*, *CTAG2* и др.) при раке толстой кишки и связь с развитием метастазов. Проведен сравнительный анализ в базе BioGPS данных об экспрессии некоторых раково-тестикулярных антигенов в тканях человека. Несмотря на многочисленные исследования экспрессии раково-тестикулярных антигенов в опухолях различных локализаций, их транскрипционная активность при раке толстой кишки остается недостаточно изученной, хотя отдельные представители разных семейств раково-тестикулярных антигенов всё же обладают большим потенциалом в диагностике опухолей данной нозологии.

Ключевые слова: раково-тестикулярные антигены, рак толстой кишки, экспрессия генов, онкомаркеры.

CANCER-TESTIS ANTIGENS IN COLON TUMORS DIAGNOSTICS

Kit O.I.¹, Soldatova K.I.¹, Kutilin D.S.¹, Vodolazhsky D.I.¹

¹FGBU "Rostov Research Institute of Oncology" of the Ministry of Health of the Russian Federation, Rostov-on-Don, e-mail: k.denees@yandex.ru

Screening of predictive diagnostic markers of colon cancer is an urgent task. In this review, modern data on the possibility of using cancer-testis antigens (CTA) in the diagnosis of colon tumors are examined. The modern classification of CTA and their most studied families, the mechanisms for CTA expression regulation, and the expression features of some CTA genes (*AKAP*, *OY-TES-1*, *NY-ESO-1*, *MAGE-A3*, *TSP50*, *SPAG9*, *PLAC1*, *GAGE*, *CTAG2* and etc.) for colon cancer and linked to metastases development are described in detail. A comparative analysis of some CTAs expression data in the BioGPS base in human tissues is carried out. Despite numerous studies of the CTA in tumors of various localizations, the transcriptional activity of CTA in colon cancer remains poorly understood, although some representatives of CTAs different families still have a great potential in diagnosing tumors of this nosology.

Keywords: cancer-testis antigens, colon cancer, gene expression, tumor markers.

Во всем мире ежегодно регистрируется порядка 1 миллиона случаев рака толстой кишки и около 715 000 смертей от этого заболевания, что ставит его на 4-е место по показателю смертности [1; 2]. В России с 2006 по 2016 г. значительно увеличилась распространенность рака толстой кишки (на 55% рака ободочной кишки и на 44% рака прямой кишки) [3]. По причине поздней диагностики летальность при раке толстой кишки достигает величины 40% в течение года с момента выявления болезни [3]. Высокие показатели одногодичной летальности свидетельствуют о необходимости поиска предиктивных высокоспецифичных диагностических и прогностических маркеров рака толстой кишки. Интерес исследователей в этом плане привлекли раково-тестикулярные антигены (РТА) - антигены, экспрессируемые клетками опухолей различных гистологических типов, но практически отсутствующие в клетках нормальных тканей [4].

Раково-тестикулярные антигены. Раково-тестикулярные антигены (РТА, Cancer Testis Antigens (СТА)) человека экспрессируются в опухолях различного гистологического происхождения и практически не экспрессируются в нормальных тканях (за исключением семенников и плаценты) [4]. Первый РТА был определен в меланоме и поэтому назван меланомным антигеном - 1 или MAGE-1 [5]. Позже было установлено, что MAGE-1 экспрессируется во многих других злокачественных опухолях. Изучение MAGE-1 позволило идентифицировать порядка 60 генов этого семейства [6]. На сегодняшний день обнаружено 276 РТА, объединённых в 138 семейств, из которых семь (MAGE-A, BAGE, MAGE-B, GAGE, SSX, LAGE1a, LAGE, MAGE-C) являются наиболее изученными [7].

Группа РТА объединяет белки с разным строением, гомология наблюдается в основном внутри семейств. Существует несколько классификаций РТА, первая из них основана на расположении кодирующих их генов в геноме. Согласно этой классификации РТА-гены, расположенные на X-хромосоме, называют СТ-X (cancer-testis X) генами (MAGE-A, MAGE-B, LAGE, NY-ESO-1, GAGE, SSX и др.), а РТА-гены, расположенные на других хромосомах - non-X СТ генами (ACRBP, BAGE, AKAP3, SPO11, BORIS, SYCP1 и др.). Интересно отметить, что на X-хромосоме локализованы 129 РТА генов (из 276), а на Y-хромосоме только 9 генов, принадлежащих семейству TSPY. В 2008 году Hoffman O. с соавторами [8] на основании исследования экспрессии 153 РТА-генов предложили другую классификацию, согласно которой РТА-гены делят на 3 группы в зависимости от того, в каких органах регистрируется их экспрессия: тестикулярно-ограниченные, тестикулярно-энцефалон ограниченные (testis/brain-restricted) и тестикулярно-селективные.

В группу тестикулярно-ограниченных РТА-генов входит 39 генов, которые экспрессируются только в семенниках и плаценте (MAGE-A1, -B1, LAGE1a). В группу тестикулярно-энцефалон ограниченных РТА-генов входит 14 генов, которые экспрессируются в семенниках и мозге (GAGE1, MAGE-A9, MAGE-C2). К группе тестикулярно-селективных РТА-генов относится 85 генетических локусов, которые, помимо перечисленных выше органов, экспрессируются в некоторых других органах: поджелудочной железе, печени, почках, молочной железе, легких и пищеводе (MAGE-A3, -A4, -A6, -A11, -A12, BAGE, NY-ESO-1). То есть к тестикулярно-селективным относится большая часть non-X СТ генов, а большинство СТ-X генов относится к тестикулярно-ограниченным или тестикулярно-энцефалон ограниченным [8]. Следует отметить, что уровни мРНК генов РТА в соматических тканях составляют менее 1% от их экспрессии в семенниках, но значительно увеличиваются в малигнизированных тканях [9], при этом наблюдается определенная специфика в паттернах экспрессии РТА-генов в опухолях различной нозологии [4]. Данные, полученные в работе Водолажского Д.И., Кутилина Д.С. и

др. [10], свидетельствуют о низкой транскрипционной активности в опухолевой и нормальной тканях молочной железы РТА локусов MAGEA1, MAGEA2, MAGEB1, GAGE1, MAGEC1 и NY-ESO1, но при этом такие РТА-гены, как MAGEA3, MAGEA4 и GAGE3, селективно гиперэкспрессированы в опухолевой ткани молочной железы. Авторы предлагают использовать данные локусы в качестве предиктивных онкомаркеров и мишеней для иммунотерапии. В исследовании Капоџа D. и др. [11] продемонстрировано, что в 74% образцов опухолей колоректального рака (КРР) присутствовала экспрессия SPAG9 антигена на уровне мРНК и белка. Анализ базы данных BioGPS [12] показал, что для РТА-гена *SPAG9*, в частности, показатели экспрессии в различных опухолевых и здоровых тканях существенно варьируют (рис. 1).

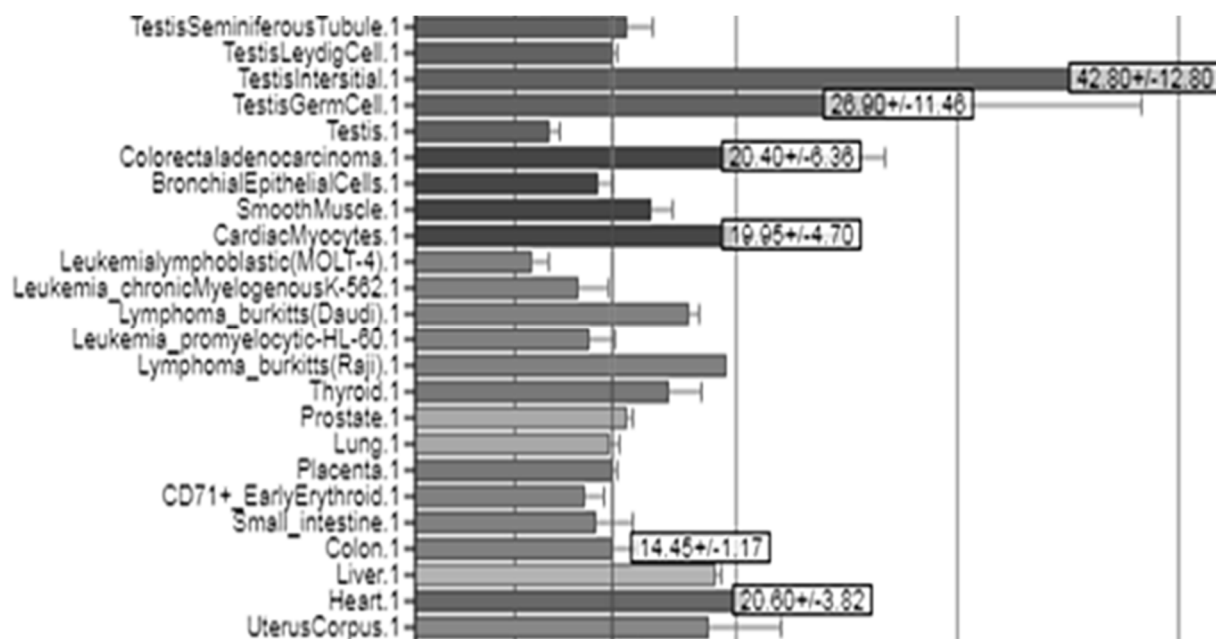


Рис. 1. Экспрессия гена *SPAG9* в здоровых и опухолевых тканях [12]

Экспрессия РТА-генов носит тканеспецифический характер, что объясняется наличием сложных эпигенетических механизмов их регуляции. В настоящее время известно, что процесс метилирования отвечает за эктопическую депрессию РТА-генов [4]. В настоящее время большое количество исследований посвящено клиническому потенциалу РТА генов, при этом относительно мало известно об их функциях. Многие из этих функций не связаны с онкогенным процессом, а активация РТА генов связана с деметилированием промоторных участков соответствующих генов при малигнизации [13].

РТА представляют собой пептиды, которые в сочетании с аллоспецифичными HLA 1-го или 2-го класса презентуются иммунной системе, вызывая цитотоксический и гуморальный иммунные ответы [14]. В тканях здорового взрослого человека экспрессирующиеся РТА недоступны для иммунной системы. Например, в семенниках

взаимодействию иммунной системы с РТА-белками препятствует наличие гемато-тестикулярного барьера и отсутствие HLA класса I на поверхности герминальных клеток [15]. Таким образом, РТА можно рассматривать как оптимальные опухоль-специфические маркеры. При этом очевидно, что каждый тип ткани - как опухолевой, так и нормальной (основываясь на данных BioGPS[12], рис. 1 и 2) - обладает определенным паттерном экспрессии РТА, и для использования РТА в качестве онкомаркера необходим тщательный анализ баз данных и молекулярно-генетические исследования, которые позволят выделить дифференциально экспрессирующиеся РТА.

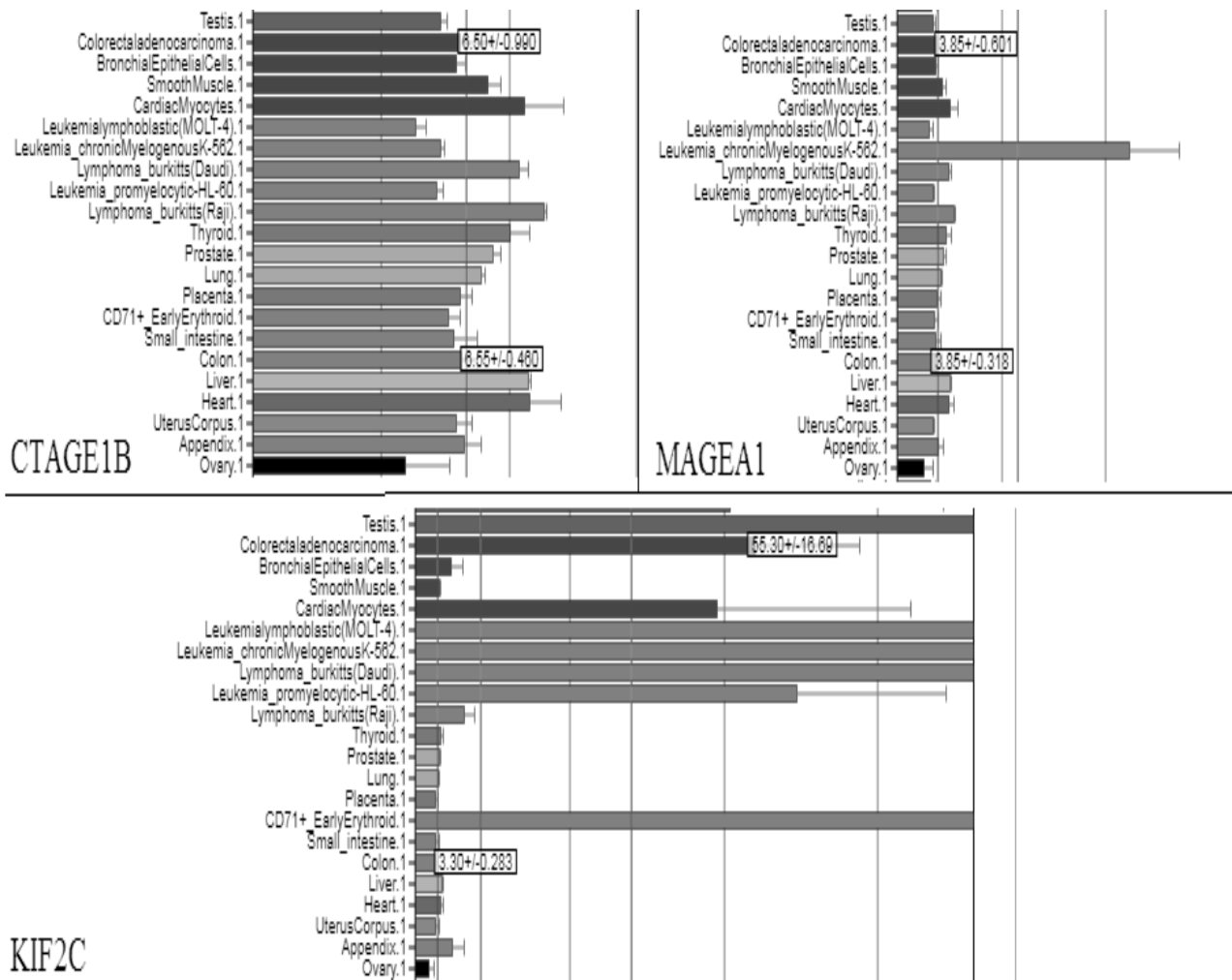


Рис. 2. Экспрессия генов STAGE1B, MAGEA1 и KIF2C в здоровых и опухолевых тканях [12]

Особенности экспрессии РТА при раке толстой кишки. Экспрессия РТА при раке толстой кишки охарактеризована неполно, а на пациентах российской популяции не проводилась [16]. Первые исследования генов РТА при раке толстой кишки (колоректальном раке, КРР) появились в 1996 г., исследовали экспрессию мРНК MAGEA-1; -2; -3 у 54 больных КРР. Гиперэкспрессия MAGEA-1 была обнаружена в 30% случаев, MAGEA-2 – в 28% и MAGEA-3 – в 20%. Экспрессия мРНК РТА была чаще повышена у больных КРР с

наличием метастазов [17]. Это может означать, что более агрессивные или продвинутые формы колоректального рака экспрессируют гены MAGE более сильно, и что они могут даже способствовать метастатическому процессу. Важно отметить, что степень совместной экспрессии генов семейства MAGE или экспрессии по крайней мере одного члена семейства в первичных опухолях не очень широко исследована в сравнении с экспрессией в метастазах КРР в печень, что ограничивает выводы, которые можно извлечь из этих данных [13]. В одном из самых крупных исследований было показано, что в 90 из 250 образцов тканей опухоли толстой кишки по меньшей мере один из трех выше перечисленных генов MAGE-A показывал высокий уровень экспрессии [13].

При изучении экспрессии РТА у 41 больного с первичным КРР и 14 пациентов с метастатическими поражениями печени не было зафиксировано гиперэкспрессии РТА в метастазах по сравнению с первичной опухолью [18]. В другом исследовании D. Perez et al. (2008) изучали корреляцию РТА с прогнозом заболевания у 35 больных КРР. Ретроспективный анализ экспрессии РТА проводили иммуногистохимическим методом с помощью моноклональных антител MA454/MAGE-A1, M3H67/MAGE-A3, 57B/MAGEA4, CT7-33/MAGE-C1, E978/NY-ESO-1. В 40% опухолей обнаружили экспрессию MAGE-A1, MAGE-A3, MAGEA4, MAGE-C1 и NY-ESO-1, в 14% опухолей положительно окрашивались антителами к MAGE-A1, MAGE-A3 и MAGE-A4, 26% опухолей - антителами к MAGE-C1 и 20% - антителами к NY-ESO-1. Также наблюдалась статистически значимая корреляция между экспрессией РТА и риском рецидива заболевания ($p=0,027$), что говорит о хорошем прогностическом потенциале данного маркера [19].

Н.М. Shamtha Kumara и соавт. (2012) исследовали экспрессию генов PLAC1, MAGE-A3, GAGE и CTAG2 у 82 больных КРР, а также иммуногистохимическим методом тестировали экспрессию этих РТА в опухолевой ткани толстой кишки. Экспрессия MAGE-A3 и CTAG2 наблюдалась у 28% и 17% больных соответственно, а PLAC1 был гиперэкспрессирован у 13% пациентов [20]. А. Dakshinamurthy и соавт. изучали частоту и уровень экспрессии 16 РТ-генов X-хромосомной локализации у 34 больных КРР. 12 РТ-генов в образцах опухолей не экспрессировались, 4 РТ-гена показали низкий уровень транскрипционной активности [21]. В 2010 году группой Z. Chen и сотр. было проведено исследование экспрессии 25 РТА в 288 образцах КРР и метастазах в печень. На основании данных об экспрессии PAGE4, вовлечении лимфатических узлов и отсутствии эмболии в сосудах опухоли была создана регрессионная модель для предсказания метастазов в печень. Уровень предсказания метастазирования в печень на основании этих маркеров составил 87% [17]. М. Li и соавт. изучали профиль экспрессии РТ-генов у 121 больного КРР. Результаты показали гиперэкспрессию мРНК NY-ESO-1 и LAGE-1, что, вероятно, может служить

маркером локального метастазирования. У более чем 50% больных экспрессировался по крайней мере один из исследованных РТ-генов, с разной частотой (SCP1 - 1,7% , SSX2 - 2,5%, SSX4 - 2,5%, SSX1 - 5,0%, CT10 - 6,6%, NY-ESO-1 - 9,9%, MAGEA1 - 11,6%, LAGE-1 - 15,7%, MAGEA-4 - 22,3% и MAGEA-3 - 27,3%). При этом окружающие опухоль ткани не экспрессировали РТ-гены [22].

В 2015 году Голышко П.В. и соавт. определяли уровень мРНК 20 РТ - генов в образцах опухоли и периферической крови 98 больных КРР. Среди них мРНК 6 генов семейства MAGEA (MAGEA1-6), мРНК 8 генов семейства GAGE (GAGE1-8), мРНК 3 генов семейства SSX (SSX1, SSX2, SSX4), мРНК генов XAGE1, NY-ESO-1 и MAGE-C1. Авторами показано, что мРНК РТ-генов можно использовать в качестве прогностических показателей. Наличие в крови больного КРР мРНК генов MAGE-C1 и XAGE1 может быть потенциальным маркером более благоприятного течения заболевания. В то же время мРНК MAGE-A1-6 и SSX1-4 генов могут свидетельствовать о неблагоприятном прогнозе [17].

Было обнаружено, что РТА SPAG9 экспрессируется при различных злокачественных новообразованиях, в том числе у 74% пациентов с КРР. Другие РТА OY-TES-1, NY-ESO-1, MAGE-A3, BCP-20, BCP-41, BORIS, CAGE, HAGE и TSP50 также исследовались при КРР (таблица) [13]. АКАР являются специализированными анкерными белками, которые разделяют протеинкиназу А (РКА) и другие ферменты в цитоплазме на специфические субклеточные локализации для выполнения их ферментативных функций. Экспрессия гена АКАР4 при различных стадиях и гистотипах КРР была обнаружена у большинства пациентов (84%). Интересно отметить, что экспрессия гена АКАР4 достоверно ассоциировалась ($p < 0,026$) с поздними стадиями (III и IV) у пациентов с КРР, что указывает на его потенциальную роль в агрессивном поведении опухоли [23].

Особенности экспрессии некоторых раково-тестикулярных генов при раке толстой кишки легли в основу иммунотерапевтических подходов, таких, например, как РТА-пептидные вакцины. Пептидные вакцины хорошо протестированы в клинических испытаниях, что отражает простоту, безопасность и стабильность этого типа вакцин. Однако существует несколько недостатков пептидных вакцин, включая ограничения, связанные с типом МНС; ограниченным количеством идентифицированных эпитопов и нарушением функции дендритных клеток у больных раком. Поэтому дендритные клетки нагружают несколькими РТА-пептидами [24]. РТА семейства MAGE aberrантно экспрессируются в различных типах злокачественных опухолей человека, включая КРР. Саданага и др. (2001) первоначально исследовали дендритно-клеточные вакцины, нагруженные пептидом MAGE-A3 у пациентов с опухолями желудочно-кишечного тракта, в зависимости от гаплотипа HLA (HLA-A2 или A24), включая пациентов с раком толстой кишки. После вакцинации MAGE-3-

специфичные ответы цитотоксических лимфоцитов наблюдались у 50% пациентов. Опухолевые маркеры были снижены у 58% пациентов, при этом обнаружено наличие регрессии опухоли у 25% пациентов [25].

В 2012 году был обнаружен новый подкласс специфичных для мейоза РТА, названный mei-РТА (mei-СТА). В метаанализе объединённой выборки данных, полученных группой Feichtinger J.C. и сотр. с помощью технологии микрочипов, ни один из генов meiСТ не показал достоверной гиперэкспрессии при КРР. Однако когда массивы данных были проанализированы по отдельности, некоторые гены показали значительное усиление экспрессии при КРР: NUT, CCDC105 и TSTE3 при сравнении опухолевой ткани с нормальной тканью толстой кишки [26].

В некоторых исследованиях отмечается, что, несмотря на повышение экспрессии генов РТА в клеточных линиях КРР, в опухолевой ткани кишки такого эффекта не наблюдается. Например, гены MCAK, TAG-1, TAG-2A, TAG-2B и TAG-2C были гиперэкспрессированы в клеточных линиях КРР, но слабо экспрессировались в ткани толстой кишки [13].

Таким образом, колоректальный рак относится в группе опухолей, имеющих ограниченную экспрессию РТА-генов. Однако надо учитывать возможность наличия подгрупп КРР, которые имеют высокую частоту экспрессии генов РТА [13]. В этой работе мы приводим в качестве примера результаты исследований, подтверждающие возможность использования РТА в качестве потенциальных биомаркеров по крайней мере для определенных когорт КРР. В таблице приведены профили экспрессии генов РТА в ткани или клеточных линиях КРР.

Некоторые РТА-гены, экспрессия которых обнаружена при КРР [13]

Название РТА-гена	% образцов опухолевых тканей с экспрессией данного гена (число протестированных образцов)	% образцов культур клеток с экспрессией данного гена (число протестированных образцов)
AKAP3	83.3% (6)	30% (10)
BCP-20(FBXO39)	38.6% (57)	28.6% (7)
BCP-41(TTLL2)	29.8% (57)	-
BORIS	80% (10)	75% (4)
CAGE	74.4% (47)	50% (4)
HAGE	16.0% (288)	-
LAGE-1	13.5%(503)	-
MAGEA1	13.0%(484)	58.3%(12)

MAGEA2	18.3% (338)	35.3% (17)
MAGEA3	22.1% (535)	29.2% (24)
MAGEA4	18.9% (419)	23.5% (17)
MAGEA5	6.8% (250)	-
MAGE-A6	27.6% (250)	40%(5)
TEKT5	50% (10)	9.1% (44)
SPAG9	74.3% (78)	100% (2)
TSP50	89.5% (95)	100% (7)

Хотя некоторые из цитируемых в работе Sammut J. [13] исследований были ограничены по своему масштабу, очевидно, существует не один ген РТА, который широко экспрессируется в разных группах КРР. Однако, учитывая специфику персонализированной иммунотерапии, возможно, исследование экспрессии РТА в определенной когорте пациентов может быть более полезным, если предполагается, что экспрессия РТА-гена связана с продукцией антигена, который может быть терапевтической мишенью.

Заключение. Исследования экспрессии РТА в опухолях толстой кишки, представленные в данном обзоре, позволяют сделать вывод, что отдельные представители разных семейств РТА (LAGE-1, MAGEA3, MAGEA4, MAGE-A6, SPAG9, TSP50 и др.) обладают большим потенциалом как в диагностике и прогнозировании развития, так и иммунотерапии опухолей кишечника.

Список литературы

1. Lech G., Słotwiński R., Słodkowski M., Krasnodębski I.W. Colorectal cancer tumour markers and biomarkers: Recent therapeutic advances // World Journal of Gastroenterology. – 2016. - Vol. 22 (5). - P. 1745-1755. - doi:10.3748/wjg.v22.i5.1745.
2. Qian Z., Zhang G., Song G. et al. Integrated analysis of genes associated with poor prognosis of patients with colorectal cancer liver metastasis // Oncotarget. - 2017. - Vol. 8 (15). - P. 25500-25512. - doi:10.18632/oncotarget.16064.
3. Каприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В. Состояние онкологической помощи населению России в 2016 году. - М.: МНИОИ им. П.А. Герцена филиал ФГБУ «НМИРЦ» Минздрава России, 2017. – 236 с.
4. Водолажский Д.И., Кит О.И., Могушкова Х.А. и др. Раковые тестикулярные антигены в иммунотерапии злокачественных опухолей // Сибирский онкологический журнал. - 2017. - Т. 16 (2). - С. 71-81. - DOI:10.21294/1814-4861-2017-16-2-71-81.

5. Hoon D.S., Yuzuki D., Hayashida M. et al. Melanoma patients immunized with melanoma cell vaccine induce antibody responses to recombinant MAGE-1 antigen 2 // *The Journal of Immunology*. - 1995. - Vol. 154. - P. 730-737.
6. 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 // *Cancer Research*. – 2001. - Vol. 61. - P. 5544-5551.
7. Almeida L.G., Sakabe N.J., deOliveira A.R. et al. CTdatabase: a knowledge-base of high-throughput and curated data on cancer-testis antigens // *Nucleic Acids Res.* – 2009. - 37 (Database issue): D816-819.
8. Hofmann O., Caballero O.L., Stevenson B.J. et al. Genome-wide analysis of cancer/testis gene expression // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. - 2008. -Vol. 105 (51). - P. 20422-20427.
9. Xie C., Fu L., Liu N., Li Q. Overexpression of SPAG9 correlates with poor prognosis and tumor progression in hepatocellular carcinoma // *Tumour Biol*. - 2014. - Vol. 35 (8). - P. 7685-7691. - doi: 10.1007/s13277-014-2030-x.
10. Водолажский Д.И., Кутилин Д.С., Могушкова Х.А. и др. Транскрипционная активность раково-тестикулярных антигенов у больных раком молочной железы люминальных подтипов А и В // *Современные проблемы науки и образования*. - 2017. - № 4. - URL: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=26492> (дата обращения 16.02.2018).
11. Kanojia D., Garg M., Saini S. et al. Sperm associated antigen 9 plays an important role in bladder transitional cell carcinoma // *PLoS One*. – 2013. - Vol. 8 (12): e81348.
12. BioGPS. The Scripps Research Institute. - 2017. - URL: <http://ds.biogps.org>.
13. Sammut J., Wakeman J.A., Stuart N., McFarlane R.J. Cancer/Testis Antigens and Colorectal Cancer // *J. Genet. Syndr. Gene. Ther.* - 2013. - 4:149. - doi:10.4172/2157-7412.1000149.
14. Jager E., Chen Y.T., Drijfhout J.W. et al. Simultaneous humoral and cellular immune response against cancer-testis antigen NY-ESO-1: definition of human histocompatibility leukocyte antigen (HLA)-A2-binding peptide epitopes // *J. Exp. Med.* - 1998. - Vol. 187. - P. 265-270.
15. Kalejs M., Erenpreisa J. Cancer/testis antigens and gametogenesis: a review and “brainstorming” session // *Cancer Cell*. - 2005. - Vol. 5. - P. 4. - doi: 10.1186/1475-2867-5-4.
16. Гольшко П.В., Новиков Д.В., Ананьев С.В. и др. Раково-тестикулярные гены в крови и опухоли больных колоректальным раком // *Российский биотерапевтический журнал*. - 2015. - Т. 14 (1). - С. 19-24.
17. Гольшко П.В., Барышников К.А., Барышников А.Ю. Иммуногенные раково-тестикулярные антигены и их гены при злокачественных новообразованиях // *Российский биотерапевтический журнал*. - 2015. - Т. 2. - С. 31-38.
18. Alves P.M.S., Levy N., Bouzourene H. et al. Molecular and immunological evaluation of the

expression of cancer/testis gene products in human colorectal cancer // *Cancer Immunology, Immunotherapy*. - 2007. - Vol. 56 (6). - P. 839-847.

19. Perez D., Hermann T., Jungbluth A.A. et al. Cancer testis antigen expression in gastrointestinal stromal tumors: new markers for early recurrence // *Int. J. Cancer*. - 2008. - Vol. 123 (7). - P. 1551-5.

20. Shantha Kumara H.M., Grieco M.J., Caballero O.L. et al. MAGE-A3 is highly expressed in a subset of colorectal cancer patients // *Cancer immun.* - 2012. - Vol. 12. - P. 16.

21. Dakshinamurthy A.G., Ramesar R., Goldberg P., Blackburn J.M. Infrequent and low expression of cancer-testis antigens located on the X chromosome in colorectal cancer: implications for immunotherapy in South African populations // *Biotechnol. J.* - 2008. - Vol. 3 (11). - P. 1417-23.

22. 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. - 11 (5). - P. 1809-14.

23. Jagadish N., Parashar D., Gupta N. et al. A novel cancer testis antigen target A-kinase anchor protein (AKAP4) for the early diagnosis and immunotherapy of colon cancer // *Oncoimmunology*. - 2016. - Vol. 5 (2):e1078965. - doi:10.1080/2162402X.2015.1078965.

24. Kajihara M., Takakura K., Kanai T. et al. Dendritic cell-based cancer immunotherapy for colorectal cancer // *World Journal of Gastroenterology*. - 2016. - Vol. 22 (17). - P. 4275-86.

25. Sadanaga N., Nagashima H., Mashino K. et al. Dendritic cell vaccination with MAGE peptide is a novel therapeutic approach for gastrointestinal carcinomas // *Clin. Cancer Res.* - 2001. - Vol. 7. - P. 2277-2284.

26. Feichtinger J., Aldeaij I., Anderson R. et al. Meta-analysis of clinical data using human meiotic genes identifies a novel cohort of highly restricted cancer-specific marker genes // *Oncotarget*. - 2012. - Vol 3. - P. 843-853.