

Twist 基因与食管癌关系的研究进展

赵荣荣, 龚太乾

[摘要] 食管癌是严重威胁人类健康的常见恶性肿瘤之一,食管癌早期即发生淋巴结转移是病人预后的独立危险因素。Twist 作为基本的螺旋-环-螺旋转录因子起初被发现于胚胎发育中起关键作用,最近 10 年研究证明,它在癌症的进展中发挥重要作用。作者主要就 Twist 与食管癌的发生、侵袭、转移、血管生成、细胞凋亡及预后的关系作一综述。

[关键词] Twist;食管癌;上皮-间质转变;发生和转移;预后

[中图分类号] R735.1

[文献标志码] A

[文章编号] 2095-3097(2018)04-0250-04

doi: 10.3969/j.issn.2095-3097.2018.04.015

Research progress of Twist gene in esophageal carcinoma

ZHAO Rongrong, GONG Taiqian

(Department of Thoracic Surgery, Navy General Hospital, Beijing 100048, China)

[Abstract] Esophageal carcinoma is one of the most malignant tumors that threatens human health. The early lymphonode metastasis of esophageal carcinoma is an independent risk factor for the prognosis of patients. Twist was originally found to play a key role in embryogenesis as a member of basic helix-loop-helix transcription factors. In recent ten years, Twist has found to be associate with cancer progression. In this review, we summarized the role of Twist in the tumorigenesis, invasion, metastasis, angiogenesis, apoptosis and prognosis of esophageal carcinoma.

[Key words] Twist; Esophageal carcinoma; Epithelial-mesenchymal transition; Occurrence and metastasis; Prognosis

Twist 是位于常染色体上的编码碱性螺旋-环-螺旋(basic helix-loop-helix, bHLH)的转录因子,最初很多研究表明, Twist 主要在果蝇的胚胎发育中起着关键调控作用,尤其在中胚层的形成和分化中起着重要作用^[1]。而近年来越来越多的研究发现, Twist 作为一种癌基因,与上皮-间质转变(epithelial-mesenchymal transition, EMT)及恶性肿瘤的生长、侵袭、转移和细胞凋亡关系密切^[2-5]。鉴于 Twist 在 EMT 及肿瘤的发生、侵袭、转移和预后中都发挥着很重要的作用, Twist 有望作为恶性肿瘤重要的诊断标志物和潜在的药物靶点,并且还可作为预测患者预后的新指标。

虽然目前关于 Twist 与肿瘤的关系研究较多,但还未见文献就 Twist 与食管癌的关系进行总结。作者就 Twist 与食管癌的发生发展的研究现状作一综述。

1 Twist 简介

Twist 是位于常染色体上的基本的 bHLH 家族的转录因子,在胚胎发育中起重要作用^[1]。在人类中 Twist 包含有 2 种,即 Twist1 和 Twist2,它们编码的蛋白都有相同的 bHLH 结构域, Twist1 又常被称为 Twist^[6]。 Twist 能够识别短的 DNA 保守序列 CANNTG,即 E-box 结构域。 Twist 在不同的种属之

间序列高度保守,在小鼠和人类的氨基酸序列具有 96% 的同源性,而其 DNA 结合区域更是具有 100% 的序列保守,它们都能结合一种 E-box 的 DNA 序列^[7]。 E-box 存在于许多基因中,在不同类型的器官发育中, Twist 通过转录因子调控方式抑制或活化下游基因,从而对器官的发育产生重要的调控作用。

人类的 Twist 基因位于 7p21.2,包含 2 个外显子和 1 个内含子。第一个外显子包含 1 个 ATG 区域随后是 1 个编码 202 个氨基酸的开放阅读框。开放阅读框后是 1 个含有 45 bp 的不翻译的外显子区域,1 个 536 bp 的内含子区及另一个不翻译的外显子区(65 位和 415 位有 2 个潜在的聚腺苷酸位点)^[7]。人类 Twist 的分子量大约为 21 kDa,等电点为 9.6。这个蛋白在临近 N 端的区域包含着更有极性的氨基酸区域,而在 C 端即 bHLH 区域则没有极性,所以 Twist 的 N 端比 C 端更有极性。人类 Twist 蛋白与鼠的 Twist 有着 96% 的同源序列。而果蝇有 490 个氨基酸序列的 Twist,比人类、鼠、爪蟾的氨基酸序列都大。

2 Twist 与 EMT

EMT 指上皮细胞失去了分化的特性,包括细胞与细胞之间的连接及上皮细胞的极性,而具有了间质细胞的特性,比如浸润、游走和侵袭的能力。它是胚胎发育的一个基本过程,使得在特殊部位产生的

[基金项目] 国家自然科学基金(81372556)

[作者单位] 100048 北京,海军总医院胸外科(赵荣荣,龚太乾)

[通讯作者] 龚太乾, E-mail: gongtq@hotmail.com

上皮细胞从上皮组织中分离出来并迁移到其他位置,是正常发育、伤口愈合及恶性上皮肿瘤发生的基础。E 钙黏蛋白(E-cadherin)的减少或丢失是 EMT 最重要的标志性变化。

Twist 是一种 bHLH 转录因子,它已经被鉴定通过调控 E-cadherin 的表达在 EMT 诱导的转移中起重要的作用。Gao 等^[8]研究了食管鳞癌中 Twist 的表达与食管癌 EMT 之间的相关性,并探索了 Twist 表达和肿瘤渗透性及转移性之间的关系。研究表明 Twist 与 Vimentin 在食管癌,尤其是转移的食管癌中过表达,而 E-cadherin 在食管鳞癌中的表达则下调,初步表明 Twist 通过下调 E-cadherin 作为肿瘤侵袭和转移的启动子。Lee 等^[9]于 2012 年用免疫组化和反转录聚合酶链反应检测了 199 例食管癌样本中 Twist 的表达,并用组织样本和体外模型分析了 Twist 和食管癌 EMT 之间的相关性,结果表明 Twist 与食管癌的 EMT 显著相关,并且有可能作为食管癌诊断和预后的分子标志物。Sasaki 等^[10]在食管鳞癌的患者中检测 Twist 和 E-cadherin 的表达以及它们的预后价值,结果发现 Twist 的高表达和 E-cadherin 的低表达与肿瘤侵袭的深度、淋巴结转移、远程的节点转移、临床分期以及预后差显著相关,并且 Twist 的高表达与 E-cadherin 的低表达显著相关。目前还有很多研究发现在食管鳞癌中 Twist 蛋白的表达与 E-cadherin 的表达呈显著负相关,提示 Twist 蛋白可能通过上游调控造成 E-cadherin 表达降低或缺失是发生 EMT 的关键机制,从而增强肿瘤细胞的侵袭力和转移力^[11-13]。

3 Twist 与食管癌血管生成

近年来对肿瘤血管生成的研究表明,血管生成在肿瘤的生长、恶化和转移等方面起着很重要的作用。血管表皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)作为最重要的血管内皮生长因子之一,可以促进血管内皮细胞的增殖,增强血管的通透性,还可以介导内皮细胞的浸润和迁移。在大多数恶性肿瘤中,VEGF 的表达均升高,并且诱导肿瘤血管的生成。赵杰等^[14]研究发现在食管鳞癌临床组织样本中 Twist 与 VEGF 的表达成正相关,提示 Twist 蛋白可能通过 VEGF 介导肿瘤血管生成,在食管鳞癌的生长、转移等方面发挥重要作用。Gong 等^[15]的研究进一步验证了食管鳞癌的临床组织样本中 Twist 与 VEGF-C 共表达,并且发现过表达 Twist 后食管鳞癌细胞的侵袭能力和 VEGF-C 的表达上调。这项研究表明 Twist 在食管鳞癌的淋巴结转移中通过增强 VEGF-C 的表达从而促进淋巴结转移。然而关于 Twist 与食管癌的血管生成的更直接的证据目

前还没有相关文献报道,现有的关于 Twist 与血管生成的直接证据在肝癌及乳腺癌中均有过相关研究,研究发现上调 Twist 表达后可以提高肿瘤血管流量和血管渗透性^[16]。

4 Twist 与食管癌的浸润和转移

肿瘤的转移是一个较为复杂的过程,在此过程中需要不同的基因和信号通路来参与调控。目前肿瘤的转移包括如下几个步骤:①肿瘤细胞从原发性肿瘤病灶中分离,在此步骤中细胞需要经历 EMT 来获得分离的能力;②侵入周围组织,穿透基底膜,进入血管或者淋巴管,各种蛋白溶解酶和趋化因子起着关键作用;③在失巢凋亡情况下存活;④移出或渗出血管或淋巴管;⑤形成微型转移结节;⑥适应周围基质环境,经过 EMT 重新获得上皮细胞增殖特性,形成转移灶。

目前很多研究表明 Twist 在食管癌的浸润和转移中起着重要作用。Gong 等^[15]研究发现细胞核中 Twist 的表达与食管癌的淋巴结转移紧密相关。首先通过免疫组化检测发现 Twist 在转移的食管鳞癌组织中的表达要显著高于非转移的食管鳞癌组织,其次在建立的高转移的食管鳞癌细胞系中检测到 Twist 高表达。研究表明 Twist 可以促进食管癌的淋巴结转移。贺波等^[17]采用免疫组化染色方法检测 Twist 在 58 例食管癌及对癌旁组织表达情况,并分析其细胞亚定位与患者性别、年龄、肿瘤位置、TNM 分期、淋巴结转移等临床资料的关系。结果表明 Twist 在食管癌细胞浆及细胞核中表达水平均显著高于癌旁组织($P < 0.01$), Twist 在食管癌细胞核中的高表达与患者 TNM 分期及淋巴结转移密切相关($P < 0.01$),而与患者性别、年龄及食管癌位置无显著相关性($P > 0.05$)。目前还有很多研究分析了 Twist 的表达与食管鳞癌临床病理资料之间的相关性,发现 Twist 的表达与食管鳞癌的临床分期、淋巴结转移及肿瘤的浸润深度均显著相关,这些发现进一步验证了 Twist 参与了食管癌的浸润和转移^[12,14,18-20]。

5 Twist 与食管癌的细胞凋亡

肿瘤作为一种细胞周期异常疾病,具有增殖失控和凋亡抑制的基本特征。相关研究表明 Twist 通过抑制 p300/CBP 相关因子(p300/CBP-associated factor, PCAF)来调控 p53 转录活性,使 p53 失去调控细胞凋亡的功能,从而促进肿瘤及肿瘤血管生长等生物学功能^[7,21]。另外 Twist 还可通过改变成纤维细胞的特性,抑制可变读框基因(alterative reading frame, ARF)/双微体(murine double minute2, MDM2)/p53,增强抗细胞凋亡作用。研究发现 Twist 对 p53 途

径的作用主要表现在转录和翻译两个层次^[7,21-22]。Twist抑制ARF的表达影响p53稳定性以及抑制p53分子结构中20位的丝氨酸(Ser20)的自身磷酸化,从而使p53介导的细胞凋亡途径失活;另外通过与p53反式作用因子HOXA5的相互作用,减少p53对Twist转录活性的抑制作用;同时Twist还通过抑制p300介导的乙酰化,阻止p53、p300和MDM2形成三元络合物,间接抑制p53介导的基因转录。有相关研究还表明Twist可以绑定p53 C-末端来阻滞p53转录后调控及MDM2介导的降解,发挥促进肿瘤进展的重要作用^[22]。

目前有相关研究通过检测食管癌患者的癌组织、癌旁组织和正常食管组织中Twist、p53、E-cadherin蛋白表达水平,探讨了Twist蛋白表达与食管癌临床病理参数的关系,并分析了Twist与p53、E-cadherin蛋白表达的相关性^[23]。结果表明食管癌组织中p53表达水平显著高于癌旁组织和正常食管组织,并且在不同的浸润深度、TNM分期、肿瘤分化程度和有无淋巴结转移的食管癌组织中p53蛋白表达具有显著差异,同时发现食管癌组织中Twist表达水平与p53之间存在明显的正相关性,表明食管癌中Twist可能通过诱导p53基因突变,使其失去抗癌作用从而参与食管癌的发生和发展,同时可能通过其他p53非依赖性通路抑制细胞的凋亡。这项研究表明Twist可能通过调节ARF/p53途径抑制细胞凋亡促进肿瘤细胞形成,同时影响E-cadherin的表达而促进EMT现象,参与食管癌的发生和转移。

6 Twist与食管癌的预后

Twist被认为是肿瘤细胞中促进转移和诱导EMT的关键因子。在很多肿瘤中都报道过Twist参与了肿瘤的进展和转移,然而关于Twist和肿瘤预后的相关性却仍旧存在争论。Wushou等^[24]用系统回顾和Meta分析法来鉴定Twist的表达是否与肿瘤患者的预后存在相关性。这个研究包含了17个实验:肺癌4个、头颈癌3个、乳腺癌2个、食管癌2个、肝癌2个、骨肉瘤、膀胱癌、宫颈癌和卵巢癌各1个,共2006例患者。结果表明Twist的表达与3年和5年生存率较差相关,与Twist的表达和肿瘤预后较差相关。另外Sasaki等^[10]在166例食管鳞癌患者原发肿瘤外科手术样本中用免疫组化检测了Twist的表达和临床病理资料及预后的关系,研究发现Twist高表达和低表达组5年生存率有显著差异,同样的高表达E-cadherin组和低表达E-cadherin组5年生存率也有显著差异,并且高表达Twist和低表达E-cadherin的5年生存率要比低表达Twist高表达E-cadherin组的5年生存率要差。目前有很多研究表明Twist可以作为食管癌预后的分子标志物^[25-27]。

7 展望

Twist作为一种重要的促癌基因,与食管癌的发生、浸润、转移以及预后密切相关。但目前关于Twist调控食管鳞癌淋巴转移的分子机制以及Twist相关的信号通路都还不清楚,不过随着Twist与肿瘤关系的研究这些问题终将得到解决。鉴于Twist在食管癌侵袭和转移过程中的特定作用,我们可以通过靶向Twist从而阻止食管癌浸润的发生及转移灶的形成,为患者治疗提供新的理论依据。

【参考文献】

- [1] Zhao Z, Rahman MA, Chen ZG, et al. Multiple biological functions of Twist1 in various cancers [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(12): 20380-20393.
- [2] Zhu QQ, Ma C, Wang Q, et al. The role of TWIST1 in epithelial-mesenchymal transition and cancers [J]. *Tumour Biol*, 2016, 37(1): 185-197.
- [3] Srivastava J, Rho O, Youssef RM, et al. Twist1 regulates keratinocyte proliferation and skin tumor promotion [J]. *Mol Carcinog*, 2016, 55(5): 941-952.
- [4] Ren H, Du P, Ge Z, et al. TWIST1 and BMI1 in Cancer Metastasis and Chemoresistance [J]. *J Cancer*, 2016, 7(9): 1074-1080.
- [5] Nayak D, Kumar A, Chakraborty S, et al. Inhibition of Twist1-mediated invasion by Chk2 promotes premature senescence in p53-defective cancer cells [J]. *Cell Death Differ*, 2017, 24(7): 1275-1287.
- [6] Xue G, Hemmings BA. Phosphorylation of basic helix-loop-helix transcription factor Twist in development and disease [J]. *Biochem Soc Trans*, 2012, 40(1): 90-93.
- [7] Qin Q, Xu Y, He T, et al. Normal and disease-related biological functions of Twist1 and underlying molecular mechanisms [J]. *Cell Res*, 2012, 22(1): 90-106.
- [8] Gao Y, Xuan XY, Zhang HY, et al. Relationship between TWIST expression and epithelial-mesenchymal transition of oesophageal squamous cell carcinoma [J]. *Cell Biol Int*, 2012, 36(6): 571-577.
- [9] Lee KW, Kim JH, Han S, et al. Twist1 is an independent prognostic factor of esophageal squamous cell carcinoma and associated with its epithelial-mesenchymal transition [J]. *Ann Surg Oncol*, 2012, 19(1): 326-335.
- [10] Sasaki K, Natsugoe S, Ishigami S, et al. Significance of Twist expression and its association with E-cadherin in esophageal squamous cell carcinoma [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2009, 28(1): 158-166.
- [11] Tomizawa Y, Wu TT, Wang KK. Epithelial mesenchymal transition and cancer stem cells in esophageal adenocarcinoma originating from Barrett's esophagus [J]. *Oncol Lett*, 2012, 3(5): 1059-1063.
- [12] 郭江泽, 姚宏. 食管鳞状细胞癌组织上皮间质转化因子和E-钙黏蛋白的表达及临床病理意义 [J]. *中国药物与临床*, 2012, 12(4): 434-437.

- [13] 张小芬,赵文海,张丽伟,等. Twist 和 E-cadherin 在食管鳞状细胞癌中的表达及意义[J]. 当代医药论丛, 2015, 13(6):68-69.
- [14] 赵杰,杨春雨,王丽华,等. Twist 蛋白、E-cadherin、VEGF 在食管鳞状细胞癌中的表达[J]. 辽宁医学院学报, 2008, 29(6):506-508, 578.
- [15] Gong T, Xue Z, Tang S, et al. Nuclear expression of twist promotes lymphatic metastasis in esophageal squamous cell carcinoma[J]. *Cancer Biol Ther*, 2012, 13(8):606-613.
- [16] Mironchik Y, Winnard PT Jr, Vesuna F, et al. Twist overexpression induces in vivo angiogenesis and correlates with chromosomal instability in breast cancer[J]. *Cancer Res*, 2005, 65(23):10801-10809.
- [17] 贺波,郑琇山,姜建青,等. 转录因子 twist 在食管癌中表达的意义[J]. 西南国防医药, 2016, 26(12):1419-1421.
- [18] 孙凤丹,崔演,张佰玲,等. 食管鳞癌组织中 Twist1 的表达及其临床意义[J]. 临床与实验病理学杂志, 2013, 29(8):836-839.
- [19] Forghanifard MM, Moaven O, Farshchian M, et al. Expression analysis elucidates the roles of MAML1 and Twist1 in esophageal squamous cell carcinoma aggressiveness and metastasis[J]. *Ann Surg Oncol*, 2012, 19(3):743-749.
- [20] 陈海生,王平,陆松华. 食管鳞癌组织中上皮间质转化相关蛋白表达与临床病理学及预后的关系[J]. 交通医学, 2016, 30(3):214-217.
- [21] Franco HL, Casasnovas J, Rodríguez-Medina JR, et al. Redundant or separate entities?-roles of Twist1 and Twist2 as molecular switches during gene transcription[J]. *Nucleic Acids Res*, 2011, 39(4):1177-1186.
- [22] Piccinin S, Tonin E, Sessa S, et al. A "twist box" code of p53 inactivation: twist box: p53 interaction promotes p53 degradation[J]. *Cancer Cell*, 2012, 22(3):404-415.
- [23] 温昱鹏,张鹏,宋世辉,等. Twist 基因联合 p53 E-cadherin 检测在食管癌中的意义[J]. 中国肿瘤临床, 2010, 37(19):1102-1105.
- [24] Wushou A, Hou J, Zhao YJ, et al. Twist-1 up-regulation in carcinoma correlates to poor survival[J]. *Int J Mol Sci*, 2014, 15(12):21621-21630.
- [25] Nakajima TE, Yoshida H, Okamoto N, et al. Nucleostemin and TWIST as predictive markers for recurrence after neoadjuvant chemotherapy for esophageal carcinoma[J]. *Cancer Sci*, 2012, 103(2):233-238.
- [26] Lee KW, Sung CO, Kim JH, et al. CD10 expression is enhanced by Twist1 and associated with poor prognosis in esophageal squamous cell carcinoma with facilitating tumorigenicity in vitro and in vivo[J]. *Int J Cancer*, 2015, 136(2):310-321.
- [27] Lee KW, Lee NK, Kim JH, et al. Twist1 causes the transcriptional repression of claudin-4 with prognostic significance in esophageal cancer[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2012, 423(3):454-460.

(收稿日期:2017-05-12 本文编辑:冯 博)

(上接第 246 页)

- [3] 李艳玲,李洁,曹崑,等. 乳腺癌动态增强 MRI 特征:非肿块样强化与肿块样强化的比较[J]. 中国医学影像技术, 2010, 26(7):1258-1261.
- [4] Sardanelli F, Calabrese M, Zandrino F, et al. Dynamic helical CT of breast tumors[J]. *J Comput Assist Tomogr*, 1998, 22(3):398-407.
- [5] Izzo L, Stasolla A, Basso L, et al. Characterization of tumoral lesions of the breast: preliminary experience with multislice spiral CT[J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2005, 24(2):209-215.
- [6] Nishino M, Hayakawa K, Yamamoto A, et al. Multiple enhancing lesions detected on dynamic helical computed tomography-mammography[J]. *J Comput Assist Tomogr*, 2003, 27(5):771-778.
- [7] 续晋铭,卢晓玲,薛晓瑜. 乳腺良恶性病变的 MRI 和多层螺旋 CT 诊断[J]. 中国医学影像技术, 2009, 25(3):434-437.
- [8] Gradishar WJ, Anderson BO, Balassanian R, et al. Invasive breast cancer version 1. 2016, NCCN clinical practice guidelines in oncology[J]. *J Natl Compr Canc Netw*, 2016, 14(3):324-354.
- [9] Khawaja RD, Singh S, Gilman M, et al. Computed tomography (CT) of the chest at less than 1 mSv: an ongoing prospective clinical trial of chest CT at submillisievert radiation doses with iterative model image reconstruction and iDose4 technique[J]. *J Comput Assist Tomogr*, 2014, 38(4):613-619.
- [10] 潘丹,姜彦,陈鑫,等. 迭代模型重建技术不同辐射剂量对肝脏 CT 增强扫描图像质量的影响[J]. 中国医学影像学杂志, 2015, 23(1):10-13, 18.
- [11] Zhang F, Yang L, Song X, et al. Feasibility study of low tube voltage (80 kVp) coronary CT angiography combined with contrast medium reduction using iterative model reconstruction (IMR) on standard BMI patients[J]. *Br J Radiol*, 2016, 89(1058):20150766.
- [12] Nakaura T, Iyama Y, Kidoh M, et al. Comparison of iterative model, hybrid iterative, and filtered back projection reconstruction techniques in low-dose brain CT: impact of thin-slice imaging[J]. *Neuroradiology*, 2016, 58(3):245-251.
- [13] Tardivon AA, Athanasiou A, Thibault F, et al. Breast imaging and reporting data system (BIRADS): magnetic resonance imaging[J]. *Eur J Radiol*, 2007, 61(2):212-215.
- [14] EUR 16262. European guidelines on quality criteria for computed tomography [EB/OL]. [2015-06-10]. <http://www.dr.dk/guidelines/ct/quality/htmlindex.htm>
- [15] 郭勇,蔡祖龙,蔡幼铨,等. 动态增强 MRI 鉴别乳腺良恶性病变的前瞻性研究[J]. 中华放射学杂志, 2001, 35(9):26-30.
- [16] Inoue M, Sano T, Watai R, et al. Dynamic multidetector CT of breast tumors: diagnostic features and comparison with conventional techniques[J]. *AJR Am J Roentgenol*, 2003, 181(3):679-86.
- [17] Brown J, Smith RC, Lee CH. Incidental enhancing lesions found on MR imaging of the breast[J]. *AJR Am J Roentgenol*, 2001, 176(5):1249-1254.

(收稿日期:2017-10-11 本文编辑:冯 博)