

doi: 10.3872/j.issn.1007-385X.2013.01.022

Twist 相关信号通路与肿瘤的研究进展

Research advance of Twist associated signaling pathway and tumor

张晶晶 综述,孙晓红 审阅(南华大学附属南华医院 妇产科,湖南 衡阳 421000)

[摘要] Twist 基因属于碱性螺旋-环-螺旋(basic helix-loop-helix, bHLH)转录因子家族,具有高度保守性,是肿瘤细胞发生间质-上皮转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)并获得迁徙、侵袭和转移能力的主要诱导因子之一,它的信号通路是一个复杂、多途径的网络系统。Twist 可通过 AKT 磷酸化影响口腔鳞癌和膀胱癌的发生和侵袭,通过调控 AKT 信号途径使鼻咽癌细胞和乳腺癌细胞株产生对紫杉醇的耐药性;STAT3、Twist1 和 AKT2 形成一个功能信号轴参与乳腺癌细胞的侵袭和转移、参与胃癌的发生和发展,异常的 p-STAT3/Twist/E-cadherin 信号轴可能介导肝癌的侵袭与转移。随着 Twist 相关信号通路与肿瘤关系的深入研究,其在肿瘤的诊断、治疗和预后预测中的重要作用逐步显现,本文就近年来关于 Twist 癌基因的结构、功能及其相关信号通路与肿瘤的关系的研究做一综述。

[关键词] Twist; 上皮-间质转化(EMT); PI3K/AKT; Wnt; 信号通路

[中图分类号] R730.2

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-385X(2013)01-0124-04

1 Twist 的简介

Twist 基因最早于 1983 年在果蝇中被发现,此后相继在多种动物体内及人类中得到确认。在不同物种之间, Twist 的核苷酸和氨基酸序列均高度保守,能编码碱性的螺旋-环-螺旋(basic/helix-loop-helix, bHLH) DNA 结合的转录因子。人类 Twist 有 2 种, Twist1 和 Twist2, 他们编码的蛋白有共同的 bHLH 结构域,但羧基末端不同, Twist1 又常被称为 Twist^[1]。人 Twist 基因位于 7p21.2, mRNA 全长 1 669 bp, 含有 2 个外显子和 1 个内含子。第 1 个外显子长约 772 bp, 包含整个编码区域; 内含子长约 538 bp。基因 5' 端调节区域的启动子上游含有核因子- κ B (nuclear factor- κ B, NF- κ B)、engrailed、AP-2、SP-1、RB 和 ATE/CREB 的结合位点^[2]。Twist 是近年来倍受关注的癌基因之一,参与肿瘤细胞上皮-间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)过程,使肿瘤细胞通过适应周围基质环境获得新的上皮特性,形成转移病灶,且这种转移灶中的肿瘤细胞迁移、增殖的活性较原发肿瘤更强,并出现抗肿瘤药物的活性^[3]。Twist 在多种上皮性肿瘤细胞中过度表达,在抗细胞凋亡、耐药性等方面起重要作用^[4]; 与其他恶性肿瘤,如涎腺腺样囊性癌^[5]、喉鳞癌^[6]等的关系也有少量报道。Twist 基因与肿瘤的发生、发展、侵袭、转移及化疗耐药均关系密切,但 Twist 如何激活信号通路致肿瘤的发生、发展至今仍不清楚。大量研究^[7-9]显示, Twist 基因的信号通路是一

个复杂、多途径的网络系统,是肿瘤发生、发展相关信号通路级联反应的中心环节,如: EMT、Wnt、P53/ARF 和 N-Myc 等,其中研究较多的是 EMT、AKT 和信号转导和转录激活因子 3(signal transducer and activator of transcription, STAT3)信号通路。现就与 Twist 相关的信号通路与肿瘤的关系做如下综述。

2 Twist 与 EMT 信号通路

EMT 是指上皮细胞通过特定程序转化为具有间质表型细胞的生物学过程,其主要的特征为细胞黏附分子(如 E-钙黏蛋白)表达的减少、细胞角蛋白为主的细胞骨架转化为波形蛋白(vimentin)为主的细胞骨架,以及形态上具有间质细胞的特征等。通过 EMT, 上皮细胞可获得较高的迁移与侵袭、抗凋亡和降解细胞外基质能力等间质表型。众所周知, EMT 是上皮细胞来源的恶性肿瘤获得迁移和侵袭能力的重要生物学过程。以 EMT 发生的特定生物学环境为依据将其分为 3 个亚型: 1 型、2 型和 3 型。1 型 EMT 主要参与胚胎及组织器官发育, 2 型 EMT 主要参与创伤修复及组织纤维化, 3 型 EMT 参与恶性肿瘤的侵袭和转移。因原发性上皮组织肿瘤细胞通过 3 型 EMT 形成转移灶, 故近年对其的研究较

[作者简介] 张晶晶(1986-),女,湖南省常德市人,硕士生,主要从事妇科肿瘤方面的研究。E-mail: pandering@163.com

[通信作者] 孙晓红(Sun Xiaohong, corresponding author), E-mail: csxhht@sina.com

热。在多种肿瘤的研究^[10]中发现, Twist 是肿瘤细胞发生 EMT, 并获得迁徙、侵袭和转移能力的主要诱导因子之一。Twist 具有独立的抑制 E 钙黏蛋白表达, 并上调纤连蛋白和 N 钙黏蛋白的作用。Fu 等^[11]的研究指出: Twist 以 Twist/Mi2/NuRD 蛋白复合物的形式发挥作用, Twist/Mi2/NuRD 与 E-钙黏蛋白的启动子区域结合, 抑制 E-钙黏蛋白的表达, 减弱细胞间连接, 促进细胞侵袭及转移, 从而诱导 EMT 的发生。Li 等^[12]研究乳腺癌 MCF7 细胞系和宫颈癌 HeLa 细胞系中 Twist 的表达时发现, Twist 高表达可诱导与 EMT 相关的细胞形态学变化, 采用 Western blotting 法和荧光素酶检测发现 Twist 高表达的细胞, 连环蛋白和 AKT 的信号途径是激活的。由此可知, Twist 与 EMT 及 PI3K-Akt 信号通路有着紧密的联系。

3 Twist 与 PI3K/AKT 信号通路

磷酸酰肌醇-3 激酶 (phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K) 家族成员属于原癌基因, 是一种能催化磷酸酰肌醇的第 3 羟基磷酸化的磷酸酰肌醇激酶。AKT (又称 PKB, 蛋白激酶 B) 是一种丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶, AKT 是 PI3K 下游的作用靶点。AKT 是肿瘤发生的重要信号分子, 活化的 AKT 在介导细胞增殖, 运动与侵袭、凋亡与抵抗化疗、放疗方面有重要的作用。PI3K/AKT 信号转导途径是细胞内重要的抗凋亡信号途径, 在细胞的凋亡、存活、增殖以及细胞骨架的变化等活动中发挥重要的生物学功能。

在胃癌中, Twist 作为 miR-10b 的诱导者, 通过 miR-10b 促进 AKT 的磷酸化以及肿瘤细胞的侵袭^[13]。Kim 等^[14]研究发现, 膀胱癌中骨膜蛋白通过 Twist 调节 AKT 信号通路, 在调节 E 钙黏蛋白表达和细胞侵袭中扮演重要的角色。在口腔鳞癌细胞 (oral squamous cell carcinoma, OSCC) KB 和 KOSCC-25B 细胞系中, AKT 抑制剂磷酸肌醇醚脂类似物 (phosphatidylinositol ether lipid analogues, PIA) 可抑制 AKT 活性, 降低 NF- κ B 的信号强度, 从而导致 Twist 的表达下调。由此可知 Twist 可通过 AKT 磷酸化影响口腔鳞癌和膀胱癌的发生和侵袭^[15]。AKT2 在有侵袭能力的肿瘤细胞中表达均增高, 而 Twist 基因能增加 AKT 的转录活性, 沉默 AKT2 可降低 Twist 诱导的肿瘤细胞转移、侵袭和对紫杉醇的耐药^[16]。由上述可知 Twist 通过调节 AKT 的活化影响肿瘤细胞的发生、发展、侵袭及转移。

PI3K/AKT 信号通路不仅在恶性肿瘤中异常激

活, 并且与多种一线化疗药物关系密切, 如紫杉醇、顺铂、蒽环类抗生素以及依托泊苷^[17]。Twist 可以通过 PI3K/AKT 信号通路产生耐药。在鼻咽癌细胞中, Twist 可以通过调控 AKT 信号途径使细胞产生对紫杉醇的耐药性^[18]。在乳腺癌细胞株 MCF-7 中, Twist 通过上调 AKT2 的表达, 发挥抗凋亡作用, 增加 MCF-7 对紫杉醇的抗药性。通过敲除 Twist 基因, 证实, Akt2 是 Twist 基因下游的功能性调节介质, Twist-Akt2 信号在增强乳腺癌细胞侵袭能力、存活能力及对抗癌药的抵抗中发挥重要作用^[19]。因此, Twist 通过调控 PI3K/Akt 信号通路, 影响肿瘤的发生、发展、侵袭及转移, 及肿瘤细胞对化疗药物的耐药性。

4 Twist 与 STAT3 信号通路

STAT3 在细胞内起着重要的信号传递作用, 负责将细胞外的信号传递到细胞核, 通过诱导靶基因转录发挥生物学效应。多项研究^[20]表明, STAT3 活化在细胞恶变过程中起关键作用。Cheng 等^[21]提出, STAT3、Twist1 和 AKT2 形成一个功能性信号轴, 参与肿瘤细胞的形成。Ling 等^[22]运用靶向 STAT3 的短发夹 RNA (short hairpin RNA, shRNA), 研究在荷瘤小鼠中沉默 STAT3 的表达对乳腺癌生长的影响, 发现 STAT3 沉默的细胞中 Twist 表达也下调, 细胞的增殖虽保持不变, 但侵袭、转移能力明显下降。该结果提示乳腺癌中的致癌基因 STAT3 与 Twist 的表达呈正相关。Hsu 等^[23]研究显示, 在人胃癌中 Notch 信号和 STAT3、Twist 均是胃癌发展的决定性调节因子, Notch1/STAT3/Twist 信号轴参与胃癌的发展。Huang 等^[24]研究表明, 胰腺癌细胞中 STAT3 信号通路的激活可通过上调 Twist 的表达来促进 EMT, 增加胰腺癌细胞的侵袭能力。Zhang 等^[25]研究又显示, 活化的 STAT3 信号可能与 Twist、E-钙黏蛋白表达相联系, 并介导肝癌的侵袭与转移, 异常的 p-STAT3/Twist/E-cadherin 信号轴可能导致肝癌病人预后差。综上, STAT3 与 Twist 信号通路在肿瘤的发生、发展和侵袭中有密切的联系。

5 Twist 与 Wnt 信号通路

Wnt 是一类被脂肪酸修饰的分泌型蛋白, 迄今在哺乳动物中共发现了 19 种 Wnt 家族蛋白。不同的分泌型 Wnt 蛋白与细胞膜上的 7 次穿膜卷曲蛋白受体相结合后, 激活细胞内不同的信号通路。Wnt 信号通路是保守信号通路, 存在于从线虫到人类的各种动物体内, 在调控胚胎正常发育、参与细胞

增殖与分化等过程中起重要的作用,其异常激活或调节基因失调均可导致肿瘤发生。20 世纪 90 年代研究^[26-27]证实,Wnt 通路参与遗传性家族性腺瘤性息肉病(familial adenomatous polyposis, FAP)和自发形成的结肠癌。此外,在白血病、肝癌、大肠癌、皮肤癌等肿瘤中,Wnt 信号通路在维持肿瘤干细胞的特性如肿瘤干细胞的数量、耐药性、克隆形成能力、体内成瘤性等方面也有着重要作用^[28]。Wnt 信号转导途径分为经典 Wnt 信号途径(又称 Wnt/ β -catenin 信号通路)、细胞极性通路(又称 Wnt/JNK 通路)和 Wnt/ Ca^{2+} 的非经典途径^[29-31]。目前,以 Wnt/ β -catenin 信号通路研究较多,该通路又由细胞膜、细胞质、细胞核信号 3 部分组成^[32-33]。在肝癌、卵巢癌、毛母质瘤皮肤癌、前列腺癌、黑素瘤和 Wilms 瘤中最常见的也是经典 Wnt 信号通路(Wnt/ β -catenin)的异常^[34]。

研究^[35]发现, Twist 或许是 Wnt 信号通路中的一个新的介导子,抑制 Wnt 信号通路可减弱 Twist 转导因子的表达,在 Wnt-1 转基因鼠的乳腺癌中 Twist 的表达明显增加。经典的 Wnt 信号通路很大程度抑制了软骨细胞,研究^[36]亦发现 Twist1 是 Wnt 重要的下游调节者。随着对 Twist 及 Wnt 通路的深入研究发现, Twist 与 Wnt 存在重要的联系,而这种联系对于肿瘤的研究及治疗有重要的意义。

6 Twist 与其他信号通路

Twist 基因在肿瘤细胞中的信号通路是一个复杂、多途径的网络系统,各个信号通路间又存在联系。Hong 等^[37]的研究中指出 JNK 激活多个信号通路可能通过影响 Twist 的磷酸化明显地促进乳腺癌细胞 EMT 和转移。Horikawa 等^[38]的研究显示,EB 病毒潜伏膜蛋白 1(latent membrane protein 1, LMP1)通过调节 NF- κ B 通路上调 Twist1 致产生 EMT,使鼻咽癌有高的转移性。Sun 等^[39]在肝癌细胞的研究中显示,凋亡蛋白 Bcl-2 与 Twist 形成复合物,激活下游基因,从而促进肿瘤细胞的转移和血管生成能力。在肿瘤化疗中,Y-Box 结合蛋白 1(Y-Box binding protein-1, YB-1)作为 Twist 的靶基因之一,具有抗肿瘤细胞凋亡作用,同时也是肿瘤细胞耐药的重要标志, Twist 可通过调节 YB-1 的表达,使肿瘤细胞对多柔比星产生耐药^[40]。

7 结 语

肿瘤的形成是细胞信号调节通路及其整体网络调控系统紊乱的结果。近年来,靶向肿瘤特异的信

号转导分子和(或)特殊代谢途径的“靶点治疗”已成为肿瘤研究领域的热点。Twist 作为一种癌基因,与 EMT 及恶性肿瘤的生长、侵袭、转移、耐药及细胞凋亡密切相关。随着对 Twist 研究的深入,更多关于它在肿瘤进程中的具体作用机制及其参与的信号通路也将被相继阐明。从信号转导通路角度探讨 Twist 在肿瘤的发生、侵袭、转移、化疗耐药等方面的作用,对提高肿瘤患者的预后及改进肿瘤治疗方案具有重要的临床意义。

[参 考 文 献]

- [1] 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.
- [2] 董衍东, 何涛. Twist 与肿瘤的关系研究进展 [J]. *西南军医*, 2009, 11(3): 493-495.
- [3] Wang B, Lindley LE, Fernandez-Vega V, et al. The T box transcription factor TBX2 promotes epithelial-mesenchymal transition and invasion of normal and malignant breast epithelial cells [J]. *PLoS One*, 2012, 7(7): e41355-e41370.
- [4] Gasparotto D, Polesel J, Marzotto A, et al. Overexpression of TWIST2 correlates with poor prognosis in head and neck squamous cell carcinomas [J]. *Oncotarget*. 2011, 2(12): 1165-1175.
- [5] Shen ML, Wen YL, Hua CG, et al. The expression of Twist in salivary adenoid cystic carcinoma and its clinicopathological significance [J]. *Chinese-German J Clin Oncol*, 2010, 9(4): 187-192.
- [6] 黄勇, 张华东, 李宏伟, 等. Twist 蛋白上皮性钙黏蛋白 mRNA 及蛋白在喉鳞癌中表达的研究 [J]. *山西医药杂志*, 2011, 40(5): 447-449.
- [7] Tran PT, Shroff EH, Burns TF, et al. Twist1 suppresses senescence programs and thereby accelerates and maintains mutant K-Ras-induced lung tumorigenesis [J]. *PLoS Genet*, 2012, 8(5): e1002650-1002665.
- [8] Morel AP, Hinkal GW, Thomas C, et al. EMT inducers catalyze malignant transformation of mammary epithelial cells and drive tumorigenesis towards claudin-low tumors in transgenic mice [J]. *PLoS Genet*. 2012, 8(5): e1002723-1002737.
- [9] Pallier K, Cessot A, Côté JF, et al. TWIST1 a new determinant of epithelial to mesenchymal transition in EGFR mutated lung adenocarcinoma [J]. *PLoS One*, 2012, 7(1): e29954-29964.
- [10] Ansieau S, Bastid J, Doreau A, et al. Induction of EMT by TWIST proteins as a collateral effect of tumor-promoting inactivation of premature senescence [J]. *Cancer Cell*, 2008, 14(1): 79-89.
- [11] Fu J, Qin L, He T, et al. The TWIST/Mi2/NuRD protein complex and its essential role in cancer metastasis [J]. *Cell Res*, 2011, 21(2): 275-289.
- [12] Li JL, Zhou BH. Activation of B-catenin and Akt pathways by Twist are critical for the maintenance of EMT associated cancer stem cell-like characters [J]. *BMC Cancer*, 2011, 1(11):

- 49-59.
- [13] Liu Z, Zhu J, Cao H, et al. miR-10b promotes cell invasion through RhoC-AKT signaling pathway by targeting HOXD10 in gastric cancer [J]. *Int J Oncol*, 2012, 40(5): 1553-1560.
- [14] Hong KO, Kim JH, Hong JS, et al. Inhibition of Akt activity induces the mesenchymal-to-epithelial reverting transition with restoring E-cadherin expression in KB and KOSCC-25B oral squamous cell carcinoma cells [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2009, 28(1): 28-38.
- [15] Cheng GZ, Chan J, Wang Q, et al. Twist transcriptionally up-regulates Akt2 in breast cancer cells leading to increased migration, invasion, and resistance to paclitaxel [J]. *Cancer Res*, 2007, 67(5): 1979-1987.
- [16] Chen LX, He YJ, Zhao SZ, et al. Inhibition of tumor growth and vasculogenic mimicry by curcumin through down-regulation of the EphA2/PI3K/MMP pathway in a murine choroidal melanoma model [J]. *Cancer Biol Ther*, 2011, 11(2): 229-235.
- [17] Zhang X, Wang Q, Ling MT, et al. Anti-apoptotic role of TWIST and its association with Akt pathway in mediating taxol resistance in nasopharyngeal carcinoma cells [J]. *Int J Cancer*, 2007, 120(9): 1891-1898.
- [18] Chappell WH, Steelman LS, Long JM, et al. Ras/Raf/MEK/ERK and PI3K/PTEN/Akt/mTOR inhibitors: Rationale and importance to inhibiting these pathways in human health [J]. *Oncotarget*, 2011, 2(3): 135-164.
- [19] Korinek V, Barker N, Morin PJ, et al. Constitutive transcriptional activation by a beta-catenin-Tcf complex in APC^{-/-} colon carcinoma [J]. *Science*, 1997, 275(5307): 1784-1787.
- [20] Tang GS, Cai JM, Ni J, et al. Effects of STAT3 antisense oligodeoxynucleotides on apoptosis and proliferation of mouse melanoma cell line B16 [J]. *Chin J Cancer*, 2006, 25(3): 269-274.
- [21] Cheng GZ, Zhang W, Wang LH. Regulation of cancer cell survival, migration, and invasion by Twist: AKT2 comes to interplay [J]. *Cancer Res*, 2008, 68(4): 957-960.
- [22] Ling X, Arlinghaus RB. Knockdown of STAT3 expression by RNA interference inhibits the induction of breast tumors in immunocompetent mice [J]. *Cancer Res*, 2005, 65(7): 2532-2536.
- [23] Hsu KW, Hsieh RH, Huang KH, et al. Activation of the Notch1/STAT3/Twist signaling axis promotes gastric cancer progression [J]. *Carcinogenesis*, 2012, 33(8): 1459-1467.
- [24] Huang C, Yang G, Jiang T, et al. The effects and mechanisms of blockage of STAT3 signaling pathway on IL-6 inducing EMT in human pancreatic cancer cells *in vitro* [J]. *Neoplasma*, 2011, 58(5): 396-405.
- [25] Zhang CH, Xu GL, Jia WD, et al. Activation of STAT3 signal pathway correlates with Twist and E-cadherin expression in hepatocellular carcinoma and their clinical significance [J]. *J Surg Res*, 2012, 174(1): 120-129.
- [26] Morin PJ, Sparks AB, Korinek V, et al. Activation of beta-catenin-Tcf signaling in colon cancer by mutations in beta-catenin or APC [J]. *Science*, 1997, 275(5307): 1787-1790.
- [27] Kanwar SS, Yu Y, Nautiyal J, et al. The Wnt/beta-catenin pathway regulates growth and maintenance of colonospheres [J]. *Mol Cancer*, 2010, 9(212): 1-13.
- [28] Howard B, Ashworth A. Signalling pathways implicated in early mammary gland morphogenesis and breast cancer [J]. *PLoS Genet*, 2006, 2(8): 1121-1130.
- [29] Herman MA, Wu M. Noncanonical Wnt signaling pathways in *C. elegans* converge on POP-1/TCF and control cell polarity [J]. *Front Biosci*, 2004, 1(9): 1530-1539.
- [30] Veeman MT, Axelrod JD, Moon RT. A second canon functions and mechanisms of beta-catenin-independent Wnt signaling [J]. *Dev Cell*, 2003, 5(3): 367-377.
- [31] Yee DS, Tang Y, Li X, et al. The Wnt inhibitory factor 1 restoration in prostate cancer cells was associated with reduced tumor growth, decreased capacity of cell migration and invasion and a reversal of epithelial to mesenchymal transition [J]. *Mol Cancer*, 2010, 9(162): 1-14.
- [32] Bhanot P, Brink M, Samos CH, et al. A new member of the frizzled family from drosophila functions as a wingless receptor [J]. *Nature*, 1996, 382(6588): 225-230.
- [33] He X, Saint-Jeannet JP, Wang Y, et al. A member of the Frizzled protein family mediating axis induction by Wnt-5A [J]. *Science*, 1997, 275(5306): 1652-1654.
- [34] Behr B, Lonqaker MT, Quarto N. Craniosynostosis of coronal suture in Twist1^{+/-} mice occurs through endochondral ossification recapitulating the physiological closure of posterior frontal suture [J]. *Front Physiol*, 2011, 2(37): 1-7.
- [35] DiMeo TA, Anderson K, Phadke P, et al. A novel lung metastasis signature links Wnt signaling with cancer cell self-renewal and epithelial-mesenchymal transition in basal-like breast cancer [J]. *Cancer Res*, 2009, 69(13): 5364-5373.
- [36] Gu S, Boyer TG, Naski MC. Basic helix-loop-helix transcription factor Twist1 inhibits transactivator function of master chondrogenic regulator sox9 [J]. *J Biol Chem*, 2012, 287(25): 21082-21092.
- [37] Ma L, Teruya-Feldstein J, Weinberg RA. Tumour invasion and metastasis initiated by microRNA-10b in breast cancer [J]. *Nature*, 2007, 449(7163): 682-688.
- [38] Horikawa T, Yang J, Kondo S, et al. Twist and epithelial-mesenchymal transition are induced by the EBV oncoprotein latent membrane protein 1 and are associated with metastatic nasopharyngeal carcinoma [J]. *Cancer Res*, 2007, 67(5): 1970-1978.
- [39] Sun T, Sun BC, Zhao XL, et al. Promotion of tumor cell metastasis and vasculogenic mimicry by way of transcription coactivation by Bcl-2 and Twist1: A study of hepatocellular carcinoma [J]. *Hepatology*, 2011, 54(5): 1690-1706.
- [40] Shiota M, Yokomizo A, Tada Y, et al. P300/CBP-associated factor regulates Y-box binding protein-1 expression and promotes cancer cell growth, cancer invasion and drug resistance [J]. *Cancer Sci*, 2010, 101(8): 1797-1806.

[收稿日期] 2012 - 09 - 27

[修回日期] 2012 - 11 - 24

[本文编辑] 周玲琳