

# TTN、OBSCN轴在结直肠癌肝转移中免疫功能临床进展

杜碧涟<sup>1</sup>, 谭云波<sup>2</sup>, 金礼权<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>大理大学临床医学院, 云南 大理

<sup>2</sup>大理大学第一附属医院普外一科, 云南 大理

收稿日期: 2023年2月13日; 录用日期: 2023年3月7日; 发布日期: 2023年3月14日

## 摘要

结直肠癌(Colorectal Cancer, CRC)是我国最常见的恶性肿瘤之一, 其发病率呈上升趋势。结直肠癌肝转移是患者主要死亡原因, 但其分子机制尚未明确。近年来, 免疫治疗在结直肠癌治疗中取得重大进展, 但对于结直肠癌肝转移患者只有少部分人受益。TTN、OBSCN是常见的突变基因之一, 他们的突变状态或可以作为免疫治疗的预测因子, 本文将TTN/OBSCN轴在结直肠癌肝转移中的免疫功能进行综述。

## 关键词

结直肠癌, 肝转移, TTN (Titin), OBSCN

## Clinical Progress of TTN and OBSCN Axes in Liver Metastasis of Colorectal Cancer

Bilian Du<sup>1</sup>, Yunbo Tan<sup>2</sup>, Liqun Jin<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>School of Clinical Medicine, Dali University, Dali Yunnan

<sup>2</sup>Department 1 of General Surgery, First Affiliated Hospital of Dali University, Dali Yunnan

Received: Feb. 13<sup>th</sup>, 2023; accepted: Mar. 7<sup>th</sup>, 2023; published: Mar. 14<sup>th</sup>, 2023

## Abstract

Colorectal cancer (CRC) is one of the most common malignancies in China, and its incidence is on the rise. Colorectal cancer liver metastases are the leading cause of death in patients, but its molecular mechanism has not been defined. In recent years, immunotherapy has made significant

\*通讯作者。

progress in colorectal cancer treatment, but only a small number of patients with colorectal cancer liver metastases have benefited. TTN and OBSCN are one of the common mutant genes, their mutation status may be used as predictors of immunotherapy, this article will elaborate the immune function of TTN and OBSCN axis in colorectal cancer liver metastasis.

## Keywords

Colorectal Cancer, Liver Metastasis, TTN (Titin), OBSCN

Copyright © 2023 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

## 1. 引言

结肠直肠癌(Colorectal Cancer, CRC)是全球第三大癌症,也是与癌症有关的死亡率的第三大原因[1]。目前,CRC的治疗方式包括手术切除、靶向治疗、辅助化疗和放射治疗。然而,30%的CRC患者在一线治疗后仍然出现复发或转移[2]。肝脏是结肠直肠癌血行转移最主要的靶器官。肝转移(LM)的参与是CRC预后中非常重要的因素[3],它是由多种因素的相互作用引起的,其临床表型、特征和转移的分子机制也是目前临床和基础研究的热点。肿瘤细胞基因组的变异是肿瘤发生和转移的重要因素[4][5]。同时结肠直肠癌肝转移(mCRC)也是结肠直肠癌治疗的重点和难点之一。[6]据统计,有15%~25%结肠直肠癌患者在确诊时即合并有肝转移,而另有15%~25%患者在结肠直肠癌原发灶根治术后可发生肝转移,其中绝大多数(80%~90%)的肝转移灶初始无法获得根治性切除。肝转移也是结肠直肠癌患者最主要的死亡原因,未经治疗的肝转移患者的中位生存期仅6.9个月,无法切除患者的5年生存率低于5%,而肝转移灶完全切除[或可以达到“无疾病证据(No Evidence of Disease, NED)”状态]患者的中位生存期为35个月,5年生存率为30%~57%。有一部分最初肝转移灶无法根除的患者经治疗后可以转化为可切除或达到NED状态[6]。但是由于以下原因,例如骨或脑转移,并存全身性疾病或残余肝容量不足,大多数患者不适合手术。这导致需要其他新的治疗来改善不符合手术切除条件的mCRC患者的不良临床结果。辅助化疗、放射治疗、分子靶向治疗和联合治疗已在众多临床试验中证明对某些患者有效,其中一些已被批准用于临床。其中,更值得注意的是各种免疫疗法的出现。免疫疗法主要由免疫检查点抑制剂(ICIs),过继性细胞免疫疗法(ACI)和癌症疫苗组成。免疫疗法的原理是增强或削弱各种免疫细胞(T细胞, NK细胞,巨噬细胞,骨髓来源的抑制细胞)的功能,以达到抗肿瘤作用。而目前对于晚期结肠直肠癌肝转移,已运用免疫治疗,在CRC中,免疫疗法于2017年获得批准,用于治疗DNA不匹配修复缺陷(dMMR)或微卫星不稳定型高频(MSI)的患者。除MSI外,还有其他分类系统来分层患者,如一致分子亚型、肿瘤突变负担(TMB)、PD-1/PD-L1、CTLA-4和肿瘤免疫微环境[7]。然而,这些分类方法并不能完美地预测免疫疗法的反应,只有一小部分CRC患者受益[8]。基于此,我们需要找到有关结肠直肠癌肝转移可能出现的新的分子标记或靶点。

### 1.1. TTN 分子结构

TTN是由363个编码外显子组成,并编码肌节蛋白Titin,最大表征的3~4 MDa的肌节蛋白同工型是半肌节,它们与Z-盘的氨基末端相互作用,并通过羧基末端扩展其分子偶联到M波段区域。除了厚肌

球蛋白丝和薄肌动蛋白丝的成分外, 多功能肌动蛋白丝属于收缩纤维[9] [10] [11]。研究表明, Titin 在蛋白质支架和细胞信号传导中的作用, 包括肌肉发育过程中的肌原纤维组装, 机械传感和信号整合作为肌细胞的调节节点, 以及决定收缩系统被动拉伸的分子弹簧。由于 Titin 基因包含长序列, TTN 基因的任何突变都有可能导导致肌球蛋白功能障碍, 导致肌肉纤维的异常生长[12]。此外, Titin 具有约 4200 kDa 的最大分子量, 并且具有由免疫球蛋白(Ig)和纤连蛋白 III 型(FnIII)结构域和独特序列组成的模块化结构域。同时 Titin 的 M 带区包含丝氨酸/苏氨酸激酶(TK)结构域, 并参与许多信号通路。在以往的研究当中, 多关注的是 TTN 突变与家族性肥厚型心肌病及骨骼肌营养不良的 TTN 突变[13]。而在近来的研究中, 越来越多的研究开始关注 TTN 突变的实体瘤与免疫治疗反应之间的关系[14]。在最近的研究中, 表明 TTN 突变是肺腺癌的免疫治疗的独立预测因子, 但尚未应用于动物实验及临床[15]。

## 1.2. OBSCN 分子结构

OBSCN 基因位于 1 号染色体上, 包含超过 80 个外显子, 跨越超过 150 kb, 因此, obscurin 转录的复杂选择性剪接产生各种同工型, 从较小的 obscurin 到约 800 kDa 的巨型蛋白质物种[16]。与肌节结构内深埋的 Nebulin 和 titin 细丝相反[17], obscurin 暗色蛋白在 a 带, M 线和 Z 盘复合物处具有更外围的相互作用模式, 这使得能够向周围的细胞质区域发出信号。同时 obscurin 蛋白是一种多结构域分子, 包含大量的串联粘附和信号传导, 包括免疫球蛋白样结构域, 纤连蛋白结构域,  $Ca^{2+}$ /钙结合结构域, RhoGEF 结构域与相关的 PH 结构域, 以及丝氨酸/苏氨酸激酶结构域。OBSCN 最初是在横纹肌细胞中鉴定的[18], 但在过去十年中, 越来越清楚的是, 它们在非肌肉组织中也表达, 它们在维持细胞稳态方面起着关键作用[19]。这一概念是在一项开创性研究中提出的, 该研究对乳腺癌和结直肠癌中的 13,023 个基因进行测序分析, 结果表明单个肿瘤平均积累 90 个突变基因, 但只有其中的一个子集参与了肿瘤的形成过程。通过使用严格的标准来描述这个子集, 确定了 189 个基因(平均每个肿瘤 11 个)在显著频率上发生突变, 而 OBSCN 是这 189 个高频体细胞突变的候选基因之一[20]。同时 OBSCN 表达水平的变化被认为是前列腺癌和肾上腺皮质癌的潜在诊断标记物[21]。除此之外, 使用公开可用的数据库表明, OBSCN 在胰腺癌中的突变频率为 5%~8%, 其中大多数是跨越其整个长度的错义突变。与此相一致的是, OBSCN 被描述为胰腺癌中最常见的突变基因之一, 其已鉴定的突变预计将具有破坏性作用[22]。并且在乳腺癌的转移研究中发现乳腺上皮细胞中 OBSCN 的丧失导致粘附结(AJS)的破坏, 上皮到中性转移(EMT)的诱导和干细胞样特征的获得, 导致细胞活动增加, 体外和肿瘤原性与体内转移[23]。因此, TTN、OBSCN 基因在不同类型的癌症中发生高度突变, 同时 TTN 被发现促进乳腺癌的骨转移[18]。我们推测 TTN 的变异可能导致染色体不稳定, 从而促进肿瘤的发生和转移。OBSCN 参与调节多个细胞信号的重要信号蛋白, 在 GPCR、RAS、p75 或 Wnt 信号通路中起着重要作用。我们假设 OBSCN 突变可能导致异常的细胞内信号通路传导, 从而促进细胞功能的变化。

## 2. 结直肠癌肝转移与 TTN、OBSCN

肝转移(LM)的介入是结直肠癌(CRC)预后中一个非常重要的因素[3], 它是由多种因素相互作用引起的, 其临床表型、特征和转移分子机制也是目前临床和基础研究的热点。肿瘤细胞基因组的变异是肿瘤发生和转移的重要因素[5] [24]。而在 CRC 的 LM 患者中突变频率最高的基因是 TTN、OBSCN、HIPK2 和 HYDIN。TTN 基因是最常变异的基因, TTN 基因已知编码狂犬病, 该基因的突变也与家族肥大型心肌病(HCM)相关[25]。与此同时, 在最近的研究中, 对结直肠癌利用单样本基因富集分析(ssGSEA)和无监督共识聚类分析得出, TTN 和 MUC16 在高免疫组中显示出更高的突变频率, 且高免疫力与 KRAS 信号通路及 KRAS 基因突变频率高有关。此外, 该研究还分析了 TMB, 结论是经典肿瘤相关基因 APC、TTN

和 TP53 在 3 个免疫亚群中也有较高的突变频率[26]。这提示 TTN 和 TP53 双突变可能通过调节下游通路参与肿瘤的发生,并在信号网络上有其他共表达基因参与[27]。

近年来,全基因组测序在研究疾病特别是恶性肿瘤的发生和发展方面发挥着越来越重要的作用。其高产量和低成本优势使研究人员能够探索疾病的致病基因,并从基因组学水平筛选潜在的分子标记和治疗靶点。目前最新研究显示,结直肠癌多发转移患者 4 例单细胞测序中并进行了高深度完整外显子测序,以分析变异基因、肿瘤突变负担(TMB)、分子功能和与 LMC 相关的信号通路。研究发现在原发性病变组织中发现了 8565 个单核苷酸变异(SNV)和 429 个插入/删除(InDel),突变频率最高的基因是 TTN、OBSCN 和家常蛋白相互作用蛋白激酶 2 (HIPK2)。对突变基因进行了基因本体论(GO)和京都基因与基因组百科全书(KEGG)通路分析,发现突变基因主要集中在 GO 的细胞、细胞部分和细胞过程。KEGG 通路分析结果表明,突变主要分布在昼夜阻塞、胰岛素分泌和谷胱甘肽突触中[28]。而常见的频繁突变的基因 TTN 和 OBSCN 与更高的肿瘤突变负担(TMB)和有利的整体生存有显著的相关性。TTN 和 OBSCN 也表现出明显的减少现象。但缺少临床大样本及结合临床资料具体分析,并未在临床样本中证实。(这些与结直肠癌肝转移相关性不大)。

### 3. 结语与展望

随着近年来医学对结直肠癌的研究越来越深入,但对结直肠癌肝转移的研究相对较少。通过此次研究,对利用高度突变的基因及其信号通路寻找新的免疫治疗靶点具有重要意义。遗憾的是本研究缺乏细胞和动物实验来验证后续机制。我们希望 TTN/OBSCN 轴调节结直肠癌肝转移的免疫功能的潜在机制能够在未来通过细胞和动物实验加以验证。

### 基金项目

本文系云南省教育厅科学研究基金项目“TTN/OBSCN 轴调节结直肠癌肝转移患者中免疫功能的临床研究”编号为:2022Y832。

### 参考文献

- [1] Sung, H., Ferlay, J., Siegel, R.L., *et al.* (2021) Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, **71**, 209-249. <https://doi.org/10.3322/caac.21660>
- [2] Oaknin, A., Rubio, M.J., Redondo, A., *et al.* (2015) SEOM Guidelines for Cervical Cancer. *Clinical and Translational Oncology*, **17**, 1036-1042. <https://doi.org/10.1007/s12094-015-1452-2>
- [3] Engstrand, J., Nilsson, H., Strömberg, C., Jonas, E. and Freedman, J. (2018) Colorectal Cancer Liver Metastases—A Population-Based Study on Incidence, Management and Survival. *BMC Cancer*, **18**, Article No. 78. <https://doi.org/10.1186/s12885-017-3925-x>
- [4] Bhullar, D.S., Barriuso, J., Mullamitha, S., *et al.* (2019) Biomarker Concordance between Primary Colorectal Cancer and Its Metastases. *eBioMedicine*, **40**, 363-374. <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2019.01.050>
- [5] Van Huizen, N.A., Coebergh van den Braak, R.R.J., Doukas, M., *et al.* (2019) Up-Regulation of Collagen Proteins in Colorectal Liver Metastasis Compared with Normal Liver Tissue. *Journal of Biological Chemistry*, **294**, 281-289. <https://doi.org/10.1074/jbc.RA118.005087>
- [6] 中国结直肠癌肝转移诊断和综合治疗指南(2020 版) [J]. 临床肝胆病杂志, 2021, 37(3): 543-553.
- [7] Ganesh, K., Stadler, Z.K., Cercek, A., *et al.* (2019) Immunotherapy in Colorectal Cancer: Rationale, Challenges and Potential. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, **16**, 361-375. <https://doi.org/10.1038/s41575-019-0126-x>
- [8] Kather, J.N., Halama, N. and Jaeger, D. (2018) Genomics and Emerging Biomarkers for Immunotherapy of Colorectal Cancer. *Seminars in Cancer Biology*, **52**, 189-297. <https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2018.02.010>
- [9] Deshmukh, A.S., Murgia, M., Nagaraj, N., *et al.* (2015) Deep Proteomics of Mouse Skeletal Muscle Enables Quantitation of Protein Isoforms, Metabolic Pathways, and Transcription Factors. *Molecular & Cellular Proteomics*, **14**,



- 841-853. <https://doi.org/10.1074/mcp.M114.044222>
- [10] Murphy, S. and Ohlendieck, K. (2018) Proteomic Profiling of Large Myofibrillar Proteins From Dried and Long-Term Stored Polyacrylamide Gels. *Analytical Biochemistry*, **543**, 8-11. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2017.11.022>
- [11] Murgia, M., Nagaraj, N., Deshmukh, A.S., et al. (2015) Single Muscle Fiber Proteomics Reveals Unexpected Mitochondrial Specialization. *EMBO Reports*, **16**, 387-395. <https://doi.org/10.15252/embr.201439757>
- [12] Savarese, M., Maggi, L., Vihola, A., et al. (2018) Interpreting Genetic Variants in Titin in Patients with Muscle Disorders. *JAMA Neurology*, **75**, 557-565. <https://doi.org/10.1001/jamaneurol.2017.4899>
- [13] Cao, X., Liu, B., Cao, W., et al. (2013) Autophagy Inhibition Enhances Apigenin-Induced Apoptosis in Human Breast Cancer Cells. *Chinese Journal of Cancer Research*, **25**, 212-222.
- [14] Jia, Q., Wang, J., He, N., Hem J. and Zhu, B. (2019) Titin Mutation Associated with Responsiveness to Checkpoint Blockades in Solid Tumors. *JCI Insight*, **4**, e127901. <https://doi.org/10.1172/jci.insight.127901>
- [15] Wang, Z., Wang, C., Lin, S. and Yu, X. (2021) Effect of TTN Mutations on Immune Microenvironment and Efficacy of Immunotherapy in Lung Adenocarcinoma Patients. *Frontiers in Oncology*, **11**, Article ID: 725292. <https://doi.org/10.3389/fonc.2021.725292>
- [16] Manring, H.R., Carter, O.A. and Ackermann, M.A. (2017) Obscure Functions: The Location-Function Relationship of Obscurins. *Biophysical Reviews*, **9**, 245-258. <https://doi.org/10.1007/s12551-017-0254-x>
- [17] Tskhovrebova, L. and Trinick, J. (2017) Titin and Nebulin in Thick and Thin Filament Length Regulation. In: Parry, D. and Squire, J., Eds., *Fibrous Proteins: Structures and Mechanisms*. *Subcellular Biochemistry*, Vol. 82, Springer, Cham, 285-318. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-49674-0\\_10](https://doi.org/10.1007/978-3-319-49674-0_10)
- [18] Russell, M.W., Raeker, M.O., Korytkowski, K.A. and Sonneman, K.J. (2002) Identification, Tissue Expression and Chromosomal Localization of Human Obscurin-MLCK, a Member of the Titin and Dbl Families of Myosin Light Chain Kinases. *Gene*, **282**, 237-246. [https://doi.org/10.1016/S0378-1119\(01\)00795-8](https://doi.org/10.1016/S0378-1119(01)00795-8)
- [19] Perry, N.A., Ackermann, M.A., Shriver, M., Hu, L.-Y.R. and Kontrogianni-Konstantopoulos, A. (2013) Obscurins: Unassuming Giants Enter the Spotlight. *IUBMB Life*, **65**, 479-486. <https://doi.org/10.1002/iub.1157>
- [20] Sjöblom, T., Jones, S., Wood, L.D., et al. (2006) The Consensus Coding Sequences of Human Breast and Colorectal Cancers. *Science*, **314**, 268-274. <https://doi.org/10.1126/science.1133427>
- [21] Babur, Ö., Gönen, M., Aksoy, B.A., et al. (2015) Systematic Identification of Cancer Driving Signaling Pathways Based on Mutual Exclusivity of Genomic Alterations. *Genome Biology*, **16**, Article No. 45. <https://doi.org/10.1186/s13059-015-0612-6>
- [22] Murphy, S.J., Hart, S.N., Lima, J.F., et al. (2013) Genetic Alterations Associated with Progression from Pancreatic Intraepithelial Neoplasia to Invasive Pancreatic Tumor. *Gastroenterology*, **145**, 1098-109. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2013.07.049>
- [23] Shriver, M., Stroka, K.M., Vitolo, M.I., et al. (2015) Loss of Giant Obscurins from Breast Epithelium Promotes Epithelial-to-Mesenchymal Transition, Tumorigenicity and Metastasis. *Oncogene*, **34**, 4248-4259. <https://doi.org/10.1038/onc.2014.358>
- [24] Alves, J.M., Prado-López, S., Cameselle-Teijeiro, J.M. and Posada, D. (2019) Rapid Evolution and Biogeographic Spread in a Colorectal Cancer. *Nature Communications*, **10**, Article No. 5139. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-12926-8>
- [25] Neidhardt, J., Fehr, S., Kutsche, M., Löhler, J. and Schachner, M. (2003) Tenascin-N: Characterization of a Novel Member of the Tenascin Family That Mediates Neurite Repulsion from Hippocampal Explants. *Molecular and Cellular Neuroscience*, **23**, 193-209. [https://doi.org/10.1016/S1044-7431\(03\)00012-5](https://doi.org/10.1016/S1044-7431(03)00012-5)
- [26] Wang, X., Duanmu, J., Fu, X., Li, T. and Jiang, Q. (2020) Analyzing and Validating the Prognostic Value and Mechanism of Colon Cancer Immune Microenvironment. *Journal of Translational Medicine*, **18**, Article No. 324. <https://doi.org/10.1186/s12967-020-02491-w>
- [27] Cheng, X., Yin, H., Fu, J., et al. (2019) Aggregate Analysis Based on TCGA: TTN Missense Mutation Correlates with Favorable Prognosis in Lung Squamous Cell Carcinoma. *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology*, **145**, 1027-1035. <https://doi.org/10.1007/s00432-019-02861-y>
- [28] Yi, H., Liao, Z.-W., Chen, J.-J., et al. (2021) Genome Variation in Colorectal Cancer Patient with Liver Metastasis Measured by Whole-Exome Sequencing. *Journal of Gastrointestinal Oncology*, **12**, 507-515. <https://doi.org/10.21037/jgo-21-9>