

DOI: 10.13376/j.cbls/2018066

文章编号: 1004-0374(2018)05-0551-08

Wnt信号通路对细胞增殖的调控

张宁芳, 高鹏飞, 成志敏, 乐宝玉, 郭晓红, 李步高, 曹果清*

(山西农业大学动物科技学院, 太谷 030801)

摘要: Wnt 信号通路是一种在进化上高度保守的信号通路, 在机体细胞的生长、发育以及代谢平衡等过程中发挥重要作用。细胞增殖是生物体生长、发育和遗传的基础。许多研究发现, Wnt 信号通路中关键分子的变化会促进或抑制细胞增殖。现综述 Wnt 信号通路的组成、调控机理以及 Wnt 信号通路对细胞增殖的调控, 并讨论基于 Wnt 信号通路影响细胞增殖的理论开发治疗癌症药物的可能性。

关键词: Wnt 信号通路; 细胞增殖; 癌症; 调控

中图分类号: R392.5; R730.2 文献标志码: A

Regulation of the Wnt signaling pathway on cell proliferation

ZHANG Ning-Fang, GAO Peng-Fei, CHENG Zhi-Min, LE Bao-Yu, GUO Xiao-Hong,

LI Bu-Gao, CAO Guo-Qing*

(College of Animal Science and Veterinary Medicine, Shanxi Agricultural University, Taigu 030801, China)

Abstract: Wnt signaling pathway is evolutionarily conserved, and has multiple biological functions during animal growth and development, and metabolic balance regulation. Cell proliferation is the base of genetics, growth and development. Previous studies demonstrate that alteration of Wnt signaling component either enhance or inhibit cell proliferation. In this review, the composition and regulation mechanisms of Wnt signaling pathway were summarized, and its effect on cell proliferation was reviewed. Additionally, possibility for developing new drugs targeted Wnt signaling pathway for cancer treatment was discussed.

Key words: Wnt signaling pathway; cell proliferation; cancer; regulation

Wnt 信号通路因其启动蛋白为 Wnt 而得名, 该通路主要由四部分组成, 分别是作为配体的 Wnt 蛋白、与配体结合的细胞膜受体、胞浆中的信号传递成分以及转录调控部分。Wnt 信号通路是一种在进化中高度保守的信号通路, 即使受到细胞内外多种因素的影响, 该通路仍可以起到精确的调控作用。Wnt 通路在多种生物学过程中都发挥重要作用, 涉及到机体细胞的生长、发育以及代谢平衡等^[1]。

1 Wnt信号通路的组成

Wnt 基因的发现是研究 Wnt 信号通路的基础。Wnt 基因是 *wingless* 基因和 *int1* 原癌基因的合称, 其中 *wingless* 基因于 1973 年在果蝇胚胎发育研究过程中被发现, 且该基因与 *int1* 基因具有同源性, 而 *int1* 基因是 1982 年在小鼠乳腺癌病毒整合部位

的研究中被发现并命名的^[2]。随着对 Wnt 通路研究的加深, 该通路的组成成分已经较为清楚, 其主要包括两部分: Wnt 蛋白和 Wnt 信号通路相关蛋白。

1.1 Wnt蛋白

Wnt 蛋白是由 *Wnt* 基因编码的一种分泌型糖蛋白, 富含半胱氨酸^[3], 是一种高度保守的蛋白。到目前为止, 在哺乳动物中共发现并证实了 19 个 Wnt 家族的成员^[4], 包括 Wnt1、Wnt2、Wnt3a、Wnt4、Wnt5a、Wnt5b、Wnt6、Wnt7b、Wnt11 等。经过糖

收稿日期: 2017-11-08; 修回日期: 2018-01-24

基金项目: 山西省科技创新重点团队(201605D131045-24); 三晋学者支持计划(2016, 2017); 山西省“1331 工程”

*通信作者: E-mail: anniecao710502@aliyun.com

基化和棕榈酰化等修饰后, Wnt 蛋白成为一类高度不溶的糖蛋白, 通过与相应受体结合发挥作用。作为一种信号分子, Wnt 蛋白与不同受体的结合决定其发挥自分泌调节作用还是旁分泌调节作用。

1.2 Wnt信号通路的相关蛋白

Wnt 信号通路的相关蛋白主要包括 β -连环蛋白 (β -catenin)、Wnt 蛋白受体、散乱蛋白、轴蛋白、结肠腺瘤性息肉蛋白和糖原合成酶激酶 3 β 等成员。

β -catenin 是 Wnt 通路的核心成分^[5], 编码该蛋白的基因位于人类染色体 3p21-22, 其一级结构包括 N 末端、中间重复区和 C 末端。其中, N 末端与糖原合成酶激酶 3 β 的磷酸化位点结合^[6]; 而 C 末端的 Arm-repeats 区域则与转录因子 TCF/LEF 家族 (T cell factor/lymphoid enhancer factor, TCF/LEF) 等转录因子结合, 激活下游靶基因^[7]。

Wnt 蛋白受体包含受体卷曲蛋白 (frizzled, Fzd/Frz) 和低密度脂蛋白受体相关蛋白 5/6 (low density lipoprotein receptor related protein, LRP5/6)。受体 Fzd 蛋白是一种跨膜蛋白^[8], 该家族包含至少 10 个成员。从结构上看, Fzd 蛋白具有富含半胱氨酸的高度保守的配体结合区 (cysteine rich domain, CRD), 该区域是 Fzd 蛋白与 Wnt 蛋白相结合的部位。作为受体的 Fzd 蛋白与作为配体的 Wnt 蛋白结合后, 激活细胞内信号通路, 进而调节靶基因的表达。此外, LRP5 蛋白在骨骼肌的动态平衡中也发挥重要的作用。

散乱蛋白 (dishevelled, DSH/Dvl) 属于一种胞浆蛋白, 在组织中广泛表达。该蛋白由 670 个氨基酸组成, 主要包含 3 个高度保守的区段, 即 N 端 DIX 区、中间 PDZ 区以及 C 端 DEP 区^[9]。散乱蛋白的主要作用是阻断 β -catenin 蛋白的降解, 使 β -catenin 能够在细胞中积聚, 从而能够进入细胞核调控靶基因的表达。

轴蛋白 (axin scaffolding protein, Axin) 是一种支架蛋白。经预测发现, 该蛋白全长 862 个氨基酸, N 端为 RGS 结构域, C 端为 DIX 结构域, 还存在一个 GSK3 激酶结合的部位^[10]。该蛋白在 RGS 结构域中出现的错义突变可能会导致 Wnt 信号失调。

结肠腺瘤性息肉蛋白 (adenomatous polyposis coli, APC) 也是 Wnt 通路中的关键蛋白。人类的结肠腺瘤性息肉蛋白包含 2 844 个氨基酸, 是一个相对分子质量为 300 kDa 的大分子多结构域蛋白。N 端是由氨基酸螺旋缠绕形成的超螺旋二聚体, C 端是可变区^[11]。作为 Wnt 通路中的重要成分, 在细

胞的信号转导中起作用。

糖原合成酶激酶 3 β (glycogen synthase kinase 3 β , GSK3 β) 是一种丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶, 包含 3 个结构域: N 端包含一个紧闭的 β -桶状结构; C 端包括激酶折叠结构和一个小的外结构域; C 端和 N 端之间为磷酸化催化结构域, 包含 ATP 结合位点^[12]。

酪蛋白激酶 (casein kinase 1, CK1) 的主要作用是与 Axin、APC、GSK3 β 结合形成胞质复合物, 作用于 β -catenin 的 Ser45 位点并将其磷酸化, 之后 GSK-3 β 进一步将 β -catenin 的 Thr41、Ser37、Ser33 位点磷酸化, 引起 β -catenin 的降解^[13]。

阻遏蛋白 β -Trecp (β -transducin repeats-containing proteins, β -Trecp) 是一种调节组件蛋白, 由 *Slimb* 基因编码, 包含 569 个氨基酸, 相对分子质量为 60 kDa, 也是 SCF (skp1-cullin1-f-box) 型泛素连接酶 E3 的关键组分。 β -Trecp 的 N 末端含有 42~48 个氨基酸的 F-box 基序, 负责与 Skp1 蛋白相互作用; C 末端含有 7 个 WD40 重复序列, 用于识别并结合特异性底物蛋白^[14]。在 Wnt 通路中, 该蛋白能特异性识别磷酸化的 β -catenin, 介导其泛素化, 进而降解 β -catenin。

TCF/LEF 是一类具有双向调节功能的转录因子, 与 Groucho 结合可抑制靶基因转录, 而与 β -catenin 结合则促进靶基因转录。所有的 TCF/LEF 都含有一个高度保守的 HMG 盒和一个小的肽基序, 共同构成 HMG DNA 结合域 (HMG DNA-binding domain, HMG DBD), 该结合域能够识别特异的 DNA 序列, 而 β -catenin 可通过与 TCF/LEF 结合从而调控特异靶基因的转录^[15]。

Pygopus 蛋白 (Pygo) 是 Wnt 信号通路中新发现的成员, 位于该信号通路核心蛋白 β -catenin 的下游, 可介导 β -catenin 入核, 激活下游靶基因转录。Pygo 的 N 端称为 NHD (N terminal homology domain)。在人类中分离出两种 Pygo 同源蛋白, 分别为 hPygo1 和 hPygo2, 同样拥有高度保守的 PHD 锌指结构域和 NHD^[16]。

此外, 在细胞平面极性通路 (Wnt/polarity 通路, 又称为 Wnt/PCP 通路和 Wnt/JNK 通路) 中也发现了新的蛋白, 如 Prickle 蛋白和 Strabismus 蛋白等。Prickle 蛋白也被称为 REST/NRSF-相互作用 LIM 结构域蛋白, 是公认的核转运受体, 属于 Wnt/PCP 通路成员。Prickle1 的功能缺失会造成原肠胚形成过程中细胞迁移发生异常^[17], 而 Prickle1 也可以通过调控神经细胞的运动对神经系统产生作用^[18]。在

上皮细胞中, Prickle2 参与及维持细胞顶部及基底部的极性^[19]。Strabismus 蛋白是一种膜蛋白, 最初是在果蝇的 Wnt/PCP 通路上发现的, 可以招募 Prickle1 蛋白到细胞膜表面; 在果蝇翅膀发育过程中, Prickle 和 Strabismus 蛋白都集中在细胞近侧膜表面。脊椎动物有两个 Strabismus 相关蛋白——VANGL1 和 VANGL2, 其中 VANGL2 蛋白在脊椎动物胚胎发育时期发挥调控细胞迁移的作用。在人类中, 突变的 *VANGL1* 基因会导致脊柱裂等神经管缺陷, 也会导致肝细胞癌等癌症的发生^[20]。

2 Wnt信号通路的作用机理

Wnt 信号通路根据是否有 β -catenin 参与而分为经典 Wnt 信号通路 (Wnt/ β -catenin 通路) 和非经典 Wnt 信号通路, 后者又包括钙离子通路 (Wnt/ Ca^{2+} 信号通路) 和细胞平面极性通路 (Wnt/polarity 通路, 又称为 Wnt/PCP 通路和 Wnt/JNK 通路)。其中经典 Wnt 信号通路的配体主要包括 Wnt1、2、3、3a、8、8b 等, 而非经典 Wnt 信号通路的配体包括 Wnt4、5a、5b、6、7a、11 等。

2.1 Wnt/ β -catenin 信号通路

β -catenin 是 Wnt 信号通路中的核心分子, 其在胞质中含量的高低直接影响核内靶基因的表达, 因此, 可以将 β -catenin 视为 Wnt 信号通路的“开关分子”^[21]。在细胞缺乏 Wnt 蛋白时, 胞质中游离的 β -catenin 结合在由 Axin、APC、CK1、GSK3 β 形成的胞质复合物上, CK1 和 GSK3 β 相继磷酸化 β -catenin 的 N 末端区域, 导致 β -catenin 被 β -Trcp 所识别, 之后 β -catenin 进一步受到泛素化和蛋白酶的降解, 使得细胞内的 β -catenin 水平较低^[2], 核内可与之结合的转录因子处于抑制状态, 最终导致靶基因不表达。而当细胞外存在 Wnt 信号时, Wnt 蛋白与受体 Fzd 结合, 使得 LRP 被 GSK3 β 和其他激酶磷酸化; 然后 Axin 与 LRP 结合, 导致由支架蛋白 Axin 介导形成的胞质复合物解离, 从而避免 β -catenin 被磷酸化和降解; 而游离的 β -catenin 富集在胞质中, 随着进一步转位至核内, 与相应的转录因子结合, 从而激活靶基因的转录^[22]。此外, β -catenin 还可以通过与 E-cadherin 共同作用参与细胞黏附, 而 GSK3 β 分子在胰岛素信号通路和糖代谢中也发挥了重要的作用; APC 蛋白作为人类重要的抑癌基因产物, 参与了细胞的伸展和极性迁移等过程。由上可知, Wnt 信号通路中的各个组分不仅仅局限于这一通路, 而是参与到各个通路中, 形

成一个复杂的网络, 对细胞的生长发育起重要的调控作用^[3]。

2.2 Wnt/ Ca^{2+} 通路

Wnt 家族 Wnt5a 类中的 Wnt5a 分子和 Wnt11 分子可特异性激活 Wnt/ Ca^{2+} 通路, 作用机理主要是 Wnt5a 和 Wnt11 激活和结合 Fzd 受体, 从而活化胞质中的 Dvl 蛋白, 而活化的 Dvl 蛋白可以抑制 cGMP 依赖性蛋白激酶 (PKG) 并激活磷脂酶 C (PLC)。PKG 受到抑制时 Ca^{2+} 释放增加, 而 PLC 通过促进 IP3 生成进而促进 Ca^{2+} 的积聚, 从而激活蛋白激酶 CaMK- II 和 PKC (protein kinase C) 以及钙调磷酸酶等^[23]。CaMK- II 可以作用于转录生长因子 β 激活激酶 1 (TAK1), 进而作用于 NEMO 激酶 (NLK), 而 NLK 可以磷酸化 TCF, 磷酸化的 TCF 不能与 β -catenin 结合, 因此, 该通路拮抗经典的 Wnt 信号通路, 钙调磷酸酶通过调控 T 细胞核因子 (NF-AT) 等转录因子对细胞实现调控作用^[24]。由于 Ca^{2+} 在此信号转导途径中可能发挥关键作用, 所以被称为 Wnt/ Ca^{2+} 信号通路。

2.3 Wnt/PCP 通路

Wnt 配体识别细胞膜上的 Frz 受体后, 在 Prickle 蛋白和 Strabismus 蛋/van gogh 样蛋白 (VANGL2) 的共同作用下, Dvl 和 Dvl 相关形态发生因子 1 (DAAM1) 可以激活 Rho GTPases 和 JNK 信号转导通路。该通路被激活后, Dvl 蛋白的 DEP 结构域发生改变, 从而活化 GTPases 酶 (RhoA) 和 Rac 蛋白, 而受到激活的 GTPases 酶和 Rac 蛋白可抑制 JNK 被磷酸化, 使得 JNK 转位至细胞核, 结合并磷酸化 c-Jun 等转录因子, 调控靶基因的表达, 从而调节细胞增殖^[25]。JNK 是该通路的关键分子, 除对细胞增殖有调控作用外, 还参与到细胞生长、分化、迁移以及癌症等一系列生理进程中^[26]。

3 Wnt信号通路对细胞增殖的调控

细胞增殖是细胞的一项重要生理功能, 也是生物体的重要生命特征。所有生物都以细胞分裂的方式产生新的细胞, 以此来补充机体中衰老或者死亡的细胞。可见, 细胞增殖是生物体生长、发育和遗传的基础。多个信号通路都对细胞的增殖产生一定的调控作用, 而将 Wnt 信号通路与癌症联系起来进行研究时发现, 该通路可以导致细胞增殖异常和肿瘤发生。此外, Wnt 信号通路的下游靶基因可以调控细胞周期的进程, 这提示 Wnt 信号通路在细胞增殖过程中发挥重要的作用。

3.1 Wnt/ β -catenin通路对细胞增殖的调控

Wnt 信号通路调控细胞增殖的机理大都是通过直接或间接作用于通路中的关键分子 β -catenin 而实现的。正常情况下,胞浆内形成的复合物 β -catenin/APC/Axin 中的 β -catenin 会因为降解作用而维持在较低水平;而当复合物的形成被抑制时,胞浆中 β -catenin 的水平升高,进而入核并激活靶基因的转录,导致靶基因的异常表达,促进肿瘤细胞的异常增殖,最终引起癌变^[27]。Wu 等^[28]研究发现,神经肽 Y(NPY)可能通过促进 Wnt 通路中 β -catenin、c-myc 等相关蛋白的表达,进而显著提高 S 期以及 G₂/M 期细胞的数量,促进大鼠骨髓间充质干细胞的增殖。陈宗正等^[29]在对猪的骨骼肌卫星细胞研究中发现,没食子儿茶素-3-没食子酸酯(epigallocatechin-3-gallate, EGCG)是通过抑制 Wnt/ β -catenin 通路的活性来抑制猪骨骼肌卫星细胞增殖的。在该过程中,EGCG 主要是对该信号通路的核心元件 β -catenin 及其下游靶基因 cyclin D 起抑制作用,从而在卫星细胞的增殖过程中发挥负调控作用^[29]。

研究表明,Wnt 信号通路对干细胞维持和增殖有重要调控作用。干细胞微环境“niche”控制着干细胞的发生发展、自我更新和再生,来源于微环境中的 Wnt 信号在多种哺乳动物的组织中扮演着自我更新因子的角色。小肠上皮细胞是成年哺乳动物中增殖最快的组织,平均每 4~5 d 更新一次^[30]。Wnt 信号是肠持久性更新的关键枢纽,该通路被破坏会导致肠隐窝增殖停止,引起肠组织衰退和发病率升高^[31]。相反,Wnt 激活剂可以有效刺激体内小肠细胞的增殖。小肠隐窝底部的 CBC (crypt base columnar) 细胞被认为相当于肠干细胞,在 CBC 细胞中增强 Wnt 靶基因 *LGR5* 的表达,可使隐窝细胞产生多种不同的肠细胞类型,这也就说明 Wnt 信号对于小肠的自我更新非常重要^[32]。滤泡上皮细胞(interfollicular epidermis, IFE)处于不断更新状态,已分化的细胞从表皮脱落,随后被基底层干细胞代替。大多数的基底层细胞能够转导 Wnt 信号通路,表达 Wnt 靶基因 *Axin2*。一些证据表明,无论在体外还是体内条件下, β -catenin 作为关键分子,参与 IFE 干细胞表皮的增殖和维持^[33]。由此可知,IFE 细胞的增殖是由 Wnt 信号通路调控的。此外,基底层细胞也能够通过自身分泌产生 Wnt 配体,进而激活 Wnt 信号通路。

此外,Axin、APC 作为经典通路中的关键因子,

对细胞增殖也具有一定的调控作用。Xu 等^[34]研究发现,Axin 能够通过下调转录因子 TCF-4 的表达水平,抑制肺癌细胞的增殖。而在对 APC 进行功能研究时发现,抑制该基因可以促进结肠癌细胞的增殖和转移,反之,恢复其功能可以抑制癌细胞的增殖,提示 APC 可以作为抑制肿瘤的候选基因^[35]。Wnt1^[36]、Wnt3a^[37] 等作为 Wnt 信号通路的配体,都可以激活 Wnt 通路,促进核内与细胞周期相关靶基因的转录,进而促进细胞的增殖。而当 Wnt 通路异常活化时,核内的靶基因会异常表达,从而导致细胞异常增殖。

3.2 非经典Wnt通路对细胞增殖的调控

在 Wnt 通路的非经典途径中,Wnt/JNK 通路的激活可以对细胞的增殖活动产生一定的作用。Hosoya 等^[38]发现乳酸菌 LH2171 (*Lactobacillus helveticus* SBT2171) 抑制应激小鼠淋巴细胞和人类淋巴瘤细胞系的恶性增殖过程是通过 JNK 通路发挥作用。LH2171 除了能够减少磷酸化的 JNK 和 c-Jun 外,还会抑制细胞分裂周期蛋白 2 (cell division cycle 2, CDC2) 的表达。此外,Wu 等^[39]研究发现,沉默 *DUSP9* 基因能够上调 c-Jun、CDK4 和 CDK6 的表达,激活 JNK 通路,促进人类胃癌细胞的增殖。在研究 Wnt 通路在间充质干细胞增殖过程中的作用时发现,Wnt5a 激活非经典 Wnt 信号途径,拮抗经典的 Wnt 通路,下调 cyclin D1 的表达,抑制间充质干细胞增殖^[40]。2017 年,解晓东等^[41]在研究 siRNA 干扰 Wnt11 对鸭成肌细胞增殖的影响时发现,干扰 Wnt11 的表达后,细胞增殖相关基因表达量极显著下降,且处于 S 期的细胞数量显著降低。而 Wnt11 是 Wnt 信号非经典通路的配体,表明该作用是通过 Wnt 非经典通路实现的。此外,在该研究中还发现,PI3K/AKT 抑制剂能够显著降低 Wnt11 的表达,提示 Wnt 信号与 PI3K/AKT 通路之间存在反馈作用^[41]。ROR α 是一种维甲酸相关核受体,其对肿瘤细胞增殖的调控作用是通过多个信号通路共同实现的,其中包括 Wnt 经典和非经典通路、p53-dependent 通路、Hypoxia/Angiogenesis 通路以及 NF- κ B 通路等^[42]。这表明对于细胞增殖的调控,并不仅仅是通过一种通路就可以实现的,而是要求各个通路之间相互作用、相互调节,共同来调控细胞各项生理过程。

3.3 Wnt通路与其他通路共同调控细胞增殖

Hippo 信号通路在哺乳动物中高度保守,通过调节细胞增殖和凋亡维持机体稳态,Yes association protein (YAP) 是 Hippo 信号通路的关键信号分子。

该通路与 Wnt 信号通路的相互作用在于两个通路中的核心分子的相互作用与调节, 进而对下游的靶基因起到调节作用。研究表明, 过表达 YAP 会抑制结肠癌细胞的增殖, 主要原因在于表达在胞浆中的 YAP 可以抑制 β -catenin 入核, 从而抑制 Wnt 通路; 相反, 在核内的 YAP 可以通过与 β -catenin 结合并活化下游的靶基因, 从而促进结肠癌细胞的增殖^[43]。同时, Wnt 信号通路中的 β -catenin/TCF4 复合物能够与 YAP 基因第一个内含子区域的增强子结合, 促进 YAP 的表达。当使用 siRNA 干扰 β -catenin 表达时, YAP 的 mRNA 与蛋白水平也下降^[44]。这表明 Hippo 通路与 Wnt 通路之间存在互相调节。

Notch 信号通路在动物体内广泛表达且在进化上高度保守, 与 Wnt 信号通路作用相同, 都能够调控细胞的增殖、分化、迁移等多种行为。研究证实, Notch 信号通路与 Wnt 信号通路共同调节内皮细胞的增殖。体外的细胞培养、血管形成等一系列实验都证实, Notch 信号通路中, Notch 信号分子 (Notch1 和 Notch4) 下调 cyclin 依赖性激酶抑制剂, 使得细胞周期蛋白 cyclin D 核转运减少, 导致细胞周期停滞^[45], 抑制内皮细胞增殖^[46]; 而在 Wnt 信号通路中, 作为核心的 β -catenin 分子可以与转录因子 TCF/LEF 结合, 诱导 cyclin D 表达, 从而促进内皮细胞增殖。

此外, 在大多数细胞内都存在 MAPK 信号转导通路, 它是一类丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶, 主要功能是将细胞外的信号转导至细胞质及其细胞核中, 通过级联反应来调节基因的表达, 参与细胞的增殖、分化、凋亡等多种生理过程。Wnt 信号通路与 MAPK 通路之间具有协同作用。Jeong 等^[47] 研究表明, 在小鼠以及人类的结肠癌中, Wnt 通路的激活可以促进 MAPK 通路的激活。在 Wnt 失调的结肠癌细胞中, MAPK 信号通路中的关键基因 KRAS 表达上调, 进一步上调 BMP7 的表达, 随后激活 BMPRIA 受体表达; 该反应能够激活 β -catenin 基因, 进而促进结肠癌细胞的增殖, 说明 KRAS 基因也是癌细胞系 Wnt 信号通路的一部分^[48]。

除上述通路外, Wnt 通路与其他通路, 如 NF- κ B、JAK-STAT、PI3K/AKT 等也存在直接或间接的联系。一系列研究表明, Wnt 信号通路并不是一个简单的级联反应, 而是通过通路中各个核心分子的相互作用, 与各个信号通路连接, 形成一个复杂而又严密的网络, 共同对细胞的增殖及生长发育起到调节作用。

4 Wnt信号通路与癌症发生与治疗

Wnt 信号通路作为参与机体生长发育的一条重要的信号通路, 一旦出现异常, 会导致细胞或者生物体的功能出现一定程度的障碍或损伤, 引起各类炎症、心血管疾病、糖尿病以及癌症等。由于 Wnt 信号通路中存在癌基因和抑癌基因, 如编码 APC、Axin、 β -catenin 等的基因^[49], 这些基因的异常激活都与肿瘤的发生发展存在一定的关系^[50], 因此该通路与癌症的关系是近年来研究的热点。

4.1 Wnt信号通路与癌症发生

Wnt 通路的异常激活与癌细胞的增殖密切相关, 研究发现多种分子都会直接或间接地通过该通路对癌细胞的增殖起到调控作用。经典 Wnt 信号通路可能参与良性或恶性乳腺癌的发生, 表现为核内以及细胞质内 β -catenin 水平的升高。在乳腺癌患者中, β -catenin 升高常表现为预后不良, 这种积累可能是由于 β -catenin 突变导致降解它的复合体失效^[51]。细胞周期蛋白 Y (cyclin Y, CCNY) 可以通过 Wnt/ β -catenin 信号通路促进卵巢癌细胞的增殖。过表达的 CCNY 可以促进细胞的增殖, 并增强 Wnt 下游靶基因 *c-myc*、*cyclin D1*、*PFTK1* 和 *OGT* 的表达^[52]。肿瘤坏死因子 α 诱导蛋白 2 (tumor necrosis factor α -induced protein 2, TNFAIP2) 下调可以抑制食管鳞状细胞癌 (ESCC) 的增殖, 其作用是通过下调 β -catenin 下游靶基因 (如 *c-myc*、*cyclin D1* 等) 和上调 E-cadherin 和 p-GSK-3 β 的表达实现的^[53]。沉默 *GOLPH3* (Golgi phosphoprotein 3) 基因, 可抑制 SW620 结肠癌细胞增殖, 同时 β -catenin 水平下调, Wnt 通路活性降低, 反之过表达 *GOLPH3* 基因促进结肠癌细胞增殖^[54]。Reishi (蕈类草药) 可以通过抑制 Wnt 信号通路抑制乳腺癌细胞的增殖和迁移, 主要的作用机理是通过抑制 Wnt 的共受体 LRP6 的磷酸化从而阻滞 Wnt 通路。在人类和小鼠的乳腺癌细胞系中, Reishi 可以显著降低 LRP6 的磷酸化, 并抑制 Wnt3a 介导的 Wnt 靶基因 *Axin2* 的表达^[55]。肝细胞黏附分子 (hepatocyte cell adhesion molecule, HepaCAM) 可以通过 Wnt/ β -catenin 信号通路抑制膀胱癌细胞 T24 的增殖^[56]。过表达 HepaCAM 可下调 β -catenin、*c-myc* 和 *Cyclin D1* 的 mRNA 和蛋白的表达, 从而抑制 T24 细胞的增殖。改变编码 β -catenin 蛋白的基因 *CTNIB1* 的表达时, 可以检测到乳腺癌、黑色素瘤、前列腺癌、肺癌和其他癌症。增强 Wnt 配体如 Wnt1、Wnt2 和 Wnt7a 的表达时, 分别可以

导致胶质母细胞瘤、食管癌和卵巢癌^[57]。

4.2 Wnt信号通路与癌症治疗

Wnt 信号通路的失调已被发现与很多癌症相关,使其成为抗癌疗法中非常有吸引力的靶标。基于 Wnt 通路开发治疗癌症药物主要在于 Wnt 通路抑制剂的发现与应用。Wnt 信号通路抑制剂主要有单克隆抗体、 β -catenin 抑制剂以及一系列的小分子抑制剂^[58]。其中小分子抑制剂的发现一直是研究热点,其主要研究思路是通过对小分子化合物库进行高通量筛选,找到影响 β -catenin 入核和 Wnt 信号通路的小分子化合物;通过细胞水平探索靶点作用机制和通过模式生物验证生物学功能,进而发现小分子药物,实现对各种癌症的治疗。

李林实验室通过研究 Wnt 信号通路的小分子抑制剂 NC043 及其作用靶点,发现了 Wnt 信号通路中的一个新成员 CARF。NC043 通过作用 CARF 抑制经典 Wnt 信号通路,可以有效抑制结肠癌细胞生长及体内肿瘤发生,为抑制肿瘤发生或治疗提供了潜在的新靶点^[59]。另有研究表明,化合物 NCB-0846 能够与 TNIK 结合形成一种不活跃的构象,从而有效抑制 TNIK 的激酶活性,抑制 Wnt 信号通路。通过口服 NCB-0846 给药,可以抑制结直肠癌干细胞活性和分子标记物的表达,抑制人源异种移植结直肠癌小鼠模型的肿瘤生长,为结直肠癌患者提供了新的治疗选择^[60]。

近年来,靶向 Wnt 信号通路,尤其是新型靶点 Porcupine 蛋白小分子抑制剂成为研究热点。在目前已报道的 Porcupine 蛋白小分子抑制剂中, LGK974^[61] 以及 ETC-159^[62] 已成功进入 I 期临床试验。Porcupine 是一种酰基转移酶,对 Wnt 配体的形成与分泌起到重要作用。研究表明,无论是在体内还是体外, LGK974 都能够通过降低 LRP6 磷酸化和 Wnt 靶基因的表达来抑制 Wnt 信号,在小鼠的肿瘤模型以及人类癌细胞系上都取得显著效果且耐药性良好。而随后发现的 ETC-159,作为另一种 Porcupine 抑制剂,是第一个靶向治疗结直肠癌的小分子^[62]。随着对 Wnt 信号通路研究的深入,靶向该通路的小分子化合物的研究有助于开发更多有效的癌症治疗药物。

5 结语

细胞增殖是整个生命活动的基础,影响着多细胞生物的生长发育。Wnt 信号通路中, Wnt 蛋白、 β -catenin、受体等关键分子的改变会影响其下游靶

基因,包括细胞周期相关基因的表达,进而影响细胞增殖。癌症是细胞增殖异常所引发的,多种癌症的发生和 Wnt 信号通路中关键分子的改变有关。随着对细胞增殖和 Wnt 信号通路调控机理的深入了解,开发抑制肿瘤的药物逐渐成为可能。但细胞增殖调控是一个精细复杂的过程,许多通路相互作用,组成一个巨大的调控网络,共同调控细胞的生命活动。而 Wnt 信号通路的调控作用也是巨大网络中的一部分,相关调控机制还需要进一步的研究。

[参 考 文 献]

- [1] Berndt JD, Moon RT. Making a point with Wnt signals. *Science*, 2013, 339: 1388-9
- [2] Nusse R, Brown A, Papkoff J, et al. A new nomenclature for *int-1* and related genes: the Wnt gene family. *Cell*, 1991, 64: 231-2
- [3] Yang-Snyder J, Miller JR, Brown JD, et al. A frizzled homolog functions in a vertebrate Wnt signaling pathway. *Curr Biol*, 1996, 6: 1302-6
- [4] Willert K, Brown JD, Danenberg E, et al. Wnt proteins are lipid-modified and can act as stem cell growth factors. *Nature*, 2003, 423: 448-52
- [5] Hart MJ, de los Santos R, Albert IN, et al. Downregulation of β -catenin by human Axin and its association with the APC tumor suppressor, β -catenin and GSK3 β . *Curr Biol*, 1998, 8: 573-81
- [6] Ikeda S, Kishida S, Yamamoto H, et al. Axin, a negative regulator of the Wnt signaling pathway, forms a complex with GSK-3 β and β -catenin and promotes GSK-3 β -dependent phosphorylation of β -catenin. *EMBO J*, 1998, 17: 1371-84
- [7] Aberle H, Bauer A, Stappert J, et al. β -catenin is a target for the ubiquitin-proteasome pathway. *EMBO J*, 1997, 16: 3797-804
- [8] Cox RT, Peifer M. Wingless signaling: the inconvenient complexities of life. *Curr Biol*, 1998, 8: R140-4
- [9] Tolwinski NS, Wehrli M, Rives A, et al. Wg/Wnt signal can be transmitted through arrow/LRP5, 6 and Axin independently of Zw3/Gsk3 β activity. *Dev Cell*, 2003, 4: 407-18
- [10] Noutsou M, Duarte AMS, Anvarian Z, et al. Critical scaffolding regions of the tumor suppressor Axin1 are natively unfolded. *J Mol Biol*, 2011, 405: 773-86
- [11] Minde DP, Anvarian Z, Rüdiger SGD, et al. Messing up disorder: how do missense mutations in the tumor suppressor protein APC lead to cancer? *Mol Cancer*, 2011, 10: 101
- [12] Aoki M, Yokota T, Sugiura I, et al. Structural insight into nucleotide recognition in tau-protein kinase I/glycogen synthase kinase 3 β . *Acta Crystallogr D Biol Crystallogr*, 2004, 60: 439-46
- [13] Davidson G, Wu W, Shen J, et al. Casein kinase 1 γ couples Wnt receptor activation to cytoplasmic signal transduction. *Nature*, 2005, 438: 867-72

- [14] 杨春华, 刘英, 伍会健. β -Trcp与肿瘤关系的研究. 中国细胞生物学学报, 2011, 33: 796-801
- [15] MacDonald BT, Tamai K, He X. Wnt/ β -catenin signaling: components, mechanisms, and diseases. *Dev Cell*, 2009, 17: 9-26
- [16] 李明聪, 王占祥. Pygopus研究进展. 国际肿瘤学杂志, 2015, 42: 364-6
- [17] Veeman MT, Slusarski DC, Kaykas A, et al. Zebrafish prick1, a modulator of noncanonical Wnt/Fz signaling, regulates gastrulation movements. *Curr Biol*, 2003, 13: 680-5
- [18] Liu C, Lin C, Whitaker DT, et al. Prickle1 is expressed in distinct cell populations of the central nervous system and contributes to neuronal morphogenesis. *Hum Mol Genet*, 2013, 22: 2234-46
- [19] Tao H, Inoue K, Kiyonari H, et al. Nuclear localization of Prickle2 is required to establish cell polarity during early mouse embryogenesis. *Dev Biol*, 2012, 364: 138-48
- [20] Fanto M, McNeill H. Planar polarity from flies to vertebrates. *J Cell Sci*, 2004, 117: 527-33
- [21] Nakashima T, Liu D, Nakano J, et al. Wnt1 overexpression associated with tumor proliferation and a poor prognosis in non-small cell lung cancer patients. *Oncol Rep*, 2008, 19: 203-9
- [22] Clevers H, Nusse R. Wnt/ β -catenin signaling and disease. *Cell*, 2012, 149: 1192-205
- [23] Kim J, Kim DW, Chang W, et al. Wnt5a is secreted by follicular dendritic cells to protect germinal center B cells via Wnt/ Ca^{2+} /NFAT/NF- κ B cell lymphoma 6 signaling. *J Immunol*, 2012, 188: 182-9
- [24] De A. Wnt/ Ca^{2+} signaling pathway: a brief overview. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)*, 2011, 43: 745-56
- [25] Endo M, Nishita M, Minami Y. Analysis of Wnt/planar cell polarity pathway in cultured cells. *Methods Mol Biol*, 2012, 839: 201-14
- [26] Gebruers E, Corderomaldonado ML, Gray AI, et al. A phenotypic screen in zebrafish identifies a novel small-molecule inducer of ectopic tail formation suggestive of alterations in non-canonical Wnt/PCP signaling. *PLoS One*, 2013, 8: e83293
- [27] 李春艳, 高宁, 侯颖春. 经典Wnt信号通路对人类肿瘤. 中国生物化学与分子生物学报, 2014, 30: 447-52
- [28] Wu J, Liu S, Meng H, et al. Neuropeptide Y enhances proliferation and prevents apoptosis in rat bone marrow stromal cells in association with activation of the Wnt/ β -catenin pathway *in vitro*. *Stem Cell Res*, 2017, 21: 74-84
- [29] 陈宗正, 仇杨, 吴国芳, 等. EGCG通过抑制Wnt/ β -catenin信号通路调节猪骨骼肌卫星细胞的增殖和分化. 中国生物化学与分子生物学报, 2012, 28: 645-52
- [30] Clevers H, Loh KM, Nusse R. An integral program for tissue renewal and regeneration: Wnt signaling and stem cell control. *Science*, 2014, 346: 1248012
- [31] van Es JH, Haegerbarth A, Kujala P, et al. A critical role for the Wnt effector Tcf4 in adult intestinal homeostatic self-renewal. *Mol Cell Biol*, 2012, 32: 1918-27
- [32] Barker N, Van Es JH, Kuipers J, et al. Identification of stem cells in small intestine and colon by marker gene Lgr5. *Nature*, 2007, 449: 1003-7
- [33] Lim X, Tan SH, Koh WL, et al. Interfollicular epidermal stem cells self-renew via autocrine Wnt signaling. *Science*, 2013, 342: 1226-30
- [34] Xu HT, Wei Q, Liu Y, et al. Overexpression of axin down regulates TCF-4 and inhibits the development of lung cancer. *Ann Surg Oncol*, 2007, 14: 3251-9
- [35] Kim JC, Koo KH, Roh SA, et al. Genetic and epigenetic changes in the APC gene in sporadic colorectal carcinoma with synchronous adenoma. *Int J Colorectal Dis*, 2003, 18: 203-9
- [36] Braunschweig L, Meyer AK, Wagenführ L, et al. Oxygen regulates proliferation of neural stem cells through Wnt/ β -catenin signalling. *Mol Cell Neurosci*, 2015, 67: 84-92
- [37] Yang XT, Bi YY, Chen ET, et al. Overexpression of Wnt3a facilitates the proliferation and neural differentiation of neural stem cells *in vitro* and after transplantation into an injured rat retina. *J Neurosci Res*, 2014, 92: 148-61
- [38] Hosoya T, Sakai F, Yamashita M, et al. *Lactobacillus helveticus* SBT2171 inhibits lymphocyte proliferation by regulation of the JNK signaling pathway. *PLoS One*, 2014, 9: e108360
- [39] Wu F, Lv T, Chen G, et al. Epigenetic silencing of DUSP9 induces the proliferation of human gastric cancer by activating JNK signaling. *Oncol Rep*, 2015, 34: 121-8
- [40] Baksh D, Boland GR. Cross-talk between Wnt signaling pathways in human mesenchymal stem cells leads to functional antagonism during osteogenic differentiation. *J Cell Biochem*, 2007, 101: 1109-24
- [41] 解晓东, 虞德兵, 于敏莉, 等. siRNA干扰Wnt11对鸭成肌细胞增殖的影响. 畜牧与兽医, 2017, 49: 42-6
- [42] Du J, Xu R. ROR α , a potential tumor suppressor and therapeutic target of breast cancer. *Int J Mol Sci*, 2012, 13: 15755-66
- [43] Heallen T, Zhang M, Wang J, et al. Hippo pathway inhibits Wnt signaling to restrain cardiomyocyte proliferation and heart size. *Science*, 2011, 332: 458-61
- [44] Rosenbluh J, Nijhawan D, Cox A G, et al. β -catenin-driven cancers require a YAP1 transcriptional complex for survival and tumorigenesis. *Cell*, 2012, 151: 1457-73
- [45] Dou GR, Wang YC, Hu XB, et al. RBP-J, the transcription factor downstream of Notch receptors, is essential for the maintenance of vascular homeostasis in adult mice. *FASEB J*, 2008, 22: 1606-17
- [46] Suchting S, Freitas C, le Noble F, et al. The Notch ligand Delta-like 4 negatively regulates endothelial tip cell formation and vessel branching. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104: 3225-30
- [47] Jeong WJ, Yoon J, Park JC, et al. Ras stabilization through aberrant activation of Wnt/ β -catenin signaling promotes intestinal tumorigenesis. *Sci Signal*, 2012, 5: ra30
- [48] Schwitalla S, Fingerle AA, Cammareri P, et al. Intestinal tumorigenesis initiated by dedifferentiation and acquisition of stem-cell-like properties. *Cell*, 2013, 152: 25-38
- [49] 杨升, 卢辉山. Wnt信号通路对消化道肿瘤关系的研究进展. 世界华人消化杂志, 2007, 27: 2880-4

- [50] 缪成贵, 黄成, 黄艳, 等. Wnt调控类风湿性关节炎研究进展. 中国药理学通报, 2013, 2: 149-53
- [51] Minde DP, Radli M, Forneris F, et al. Large extent of disorder in Adenomatous Polyposis Coli offers a strategy to guard Wnt signalling against point mutations. PLoS One, 2013, 8 : e77257
- [52] Liu H, Shi H, Fan Q, et al. Cyclin Y regulates the proliferation, migration, and invasion of ovarian cancer cells via Wnt signaling pathway. Tumor Biol, 2016, 37: 10161-75
- [53] Xie Y, Wang B. Downregulation of TNFAIP2 suppresses proliferation and metastasis in esophageal squamous cell carcinoma through activation of the Wnt/ β -catenin signaling pathway. Oncol Rep, 2017, 37:2920-8
- [54] Wang Q, Wang X, Zhang CB. Lentivirus mediated GOLPH3 shRNA inhibits growth and metastasis of esophageal squamous cancer. Asian Pac J Cancer Prev, 2013, 14: 5391-6
- [55] Zhang Y. Ganoderma lucidum (Reishi) suppresses proliferation and migration of breast cancer cells via inhibiting Wnt/ β -catenin signaling. Biochem Biophys Res Commun, 2017, 488: 679-84
- [56] 万雪莲, 马菲菲, 马红莹, 等. HepaCAM通过Wnt/ β -catenin信号通路抑制膀胱癌细胞T24的增殖. 中国细胞生物学学报, 2015, 37: 683-8
- [57] Anastas JN, Moon RT. WNT signalling pathways as therapeutic targets in cancer. Nat Rev Cancer, 2013,13: 11-26
- [58] 董燕. 以Wnt信号通路Porcupine蛋白为靶点的小分子抑制剂的设计、合成及活性研究[D]. 苏州: 苏州大学, 2016
- [59] Wang W, Liu H, Wang S, et al. A diterpenoid derivative 15-oxospiramilactone inhibits Wnt/ β -catenin signaling and colon cancer cell tumorigenesis. Cell Res, 2011, 21: 730-40
- [60] Masuda M, Uno Y, Ohbayashi N, et al. TNK1 inhibition abrogates colorectal cancer stemness. Nat Commun, 2016, 7: 12586
- [61] Liu J, Pan S, Hsieh MH, et al. Targeting Wnt-driven cancer through the inhibition of Porcupine by LGK974. Proc Natl Acad Sci USA, 2013, 110: 20224-9
- [62] Madan B, Ke Z, Harmston N, et al. Wnt addiction of genetically defined cancers reversed by PORCN inhibition. Oncogene, 2016, 35: 2197-207