

Wnt 信号转导通路与结直肠癌关系的研究进展

景桂英 综述, 欧玉荣 审校

[关键词] 肿瘤; Wnt; 信号转导; 结直肠癌; 综述

[中图分类号] R 73 [文献标志码] A DOI: 10.13898/j.cnki.issn.1000-2200.2015.04.047

细胞信号转导通路是当今生物医学领域最前沿、最活跃的主题之一^[1]。Wnt 信号通路是由一系列癌基因和抑癌基因编码的蛋白质组成, 各种信号蛋白之间彼此制约并且相互联系, 形成一个复杂的网络结构。研究^[2]表明, Wnt 信号转导通路在胚胎发育与肿瘤发生、发展以及侵袭转移等关键过程中起着重要作用, 备受广大研究者的关注。多数结直肠癌患者的转化细胞在 Wnt 信号通路上存在抑癌基因的缺失、突变或失活和/或癌基因的激活, 最终导致 β -catenin 在核内的累积, 从而影响相关基因的转录, 这是导致结直肠癌发生、发展的关键因素之一。因此, 对 Wnt 信号通路的进一步研究可能为探索结直肠癌的发病机制以及寻求有效诊治手段提供有力帮助。本文就 Wnt 信号转导通路与结直肠癌关系的研究进展作一综述。

1 Wnt 信号转导通路的来源

Wnt 基因定位于 12q13。关于 Wnt 信号通路的了解, 最早来自于对致癌病毒和果蝇发育机制的研究。1982 年 Nusse 等^[3]用小鼠乳头瘤病毒 (MMTV) 诱导小鼠产生乳腺癌的实验过程中发现, MMTV 常常固定整合于宿主染色体的特定位置。随后又发现基因 *Int-1* 与果蝇胚胎发育基因 *Wingless* 同源, 遂将二者名称简并, 该基因被重新命名为 Wnt。而 Wnt 蛋白为 Wnt 信号通路的启动蛋白, 因此就把该通路称作 Wnt 信号通路^[4]。

2 Wnt 信号转导途径的分类

Wnt 信号的传导途径主要分为两大类, 即经典途径和非经典途径^[5-6], 而非经典途径又分为 2 个分支 (细胞平面极性通路和 Wnt/ Ca^{2+} 通路)。

2.1 经典途径 即 Wnt/ β -catenin 通路。这条通路激活后将募集细胞质内的 β -catenin 转移入细胞核, 启动核内特定基因的转录。该信号途径异常活化参与人类多种肿瘤的形成, 是肿瘤发生、发展的重要信号通路之一。

2.2 非经典途径 主要有细胞平面极性通路和 Wnt/ Ca^{2+} 通路。非经典的细胞平面极性途径具有调控细胞增殖、分化及运动的重要功能, 在胚胎发育、炎症反应、组织愈合以及肿

瘤发生中也发挥重要作用, 但其在癌症中的具体作用机制目前尚不太清楚^[7]。

3 Wnt 信号转导通路的组成及其发生机制

3.1 Wnt 信号转导通路的组成 是由细胞膜外因子 Wnt 蛋白, 细胞膜上特异性跨膜受体卷曲蛋白和辅助性受体低密度脂蛋白受体相关蛋白 5/6 (LRP5/6)、散乱蛋白、糖原合成酶激酶-3 β 、GSK-3 β)、支架 (Axin) 蛋白、结直肠腺瘤性息肉 (APC) 蛋白、酪蛋白激酶 I (CKI) 和 β -连环蛋白 (β -catenin), 细胞核内转录因子 T 细胞因子 (TCF)/淋巴样增强因子 (LEF) 家族及其下游靶基因 [如基质金属蛋白酶-7 (MMP-7)、survivin、cyclin-D1、c-myc、gastrin、ASEF 和 VEGF 等) 和泛素蛋白^[8-9]等组成。Wnt 信号通路是由细胞膜 (包括膜外和膜上)、细胞质和细胞核三部分信号组成。

3.2 经典 Wnt 信号转导通路的发生机制 正常体细胞的细胞质内存在的 β -catenin 大部分与细胞膜上的黏附蛋白 E-cadherin 及 α -catenin 结合形成复合体, 参与细胞间黏附的调控, 防止细胞进行转移; 少部分游离的在细胞质内被其降解复合体磷酸化, β -catenin 最常见的磷酸化位点是 GSK-3 β 作用的位点, 磷酸化的 β -catenin 后由泛素蛋白酶体识别并使之降解^[10], 以维持细胞内 β -catenin 的低水平状态, 使核内转录因子处于阻抑状态。

当细胞受到 Wnt 信号刺激时, 胞膜外配体 Wnts 蛋白分子同时与 7 次跨膜细胞的特异性受体 Frizzled 和辅助性受体 LRP5/6 结合, 这样就开启了 Wnt/ β -catenin 信号通路的转导, 并活化胞质内 Dsh 蛋白, 活化的 Dsh 蛋白能抑制由 GSK-3 β 、APC 蛋白和 Axin 蛋白等形成的降解复合体中关键成分 GSK-3 β 的活性, 使 β -catenin 不被 GSK-3 β 磷酸化从而避免了泛素蛋白酶体对其识别和降解^[11]。当 β -catenin 在细胞质中积聚到一定浓度时就开始向细胞核内转移, 并与细胞核内的转录因子 TCF/LEFs 结合导致下游靶基因的启动因子暴露出来而被激活表达, 如激活 MMP-7、survivin、cyclin-D1、c-myc、COX-2、FGF-18、c-met、gastrin 等而导致细胞异常增殖^[10], 促进各种肿瘤的发生和发展。 β -catenin 是整条通路的关键枢纽分子, 它由细胞质向细胞核的转移被认为是该信号通路激活后行使其功能的重要特征^[9]。

4 Wnt 信号通路与结直肠癌

4.1 β -catenin 与大肠癌 β -catenin 是细胞重要的信号传递蛋白, 参与细胞黏附、增殖和生长等过程。 β -catenin 作为

[收稿日期] 2013-06-09

[基金项目] 安徽省教育厅自然科学基金资助项目 (2010KJ116B)

[作者单位] 蚌埠医学院第一附属医院 病理科, 安徽 蚌埠 233004

[作者简介] 景桂英 (1972 -), 女, 硕士研究生。

Wnt 通路中的核心蛋白,贯穿该通路的始终,其最终在核内含量累积的增多并激活转录因子家族 TCF/LEF 是导致肿瘤发生的关键环节。因此,各种能促进 β -catenin 的累积和/或减少 β -catenin 降解的因素均可导致细胞的异常增殖,进而促进肿瘤的发生。导致 β -catenin 累积增多的机制主要有如下几种。

4.1.1 β -catenin 本身的突变 β -catenin 基因定位于染色体 3p21,全长 23.2 kb,共有 16 个外显子,其中第 3 外显子区含有编码丝氨酸和苏氨酸位点的相关序列,其上第 33、37、41、45 位密码子是 GSK-3 β 的磷酸化位点,因此, β -catenin 基因突变通常发生于第 3 外显子。 β -catenin 自身的突变导致其无法为降解复合体所识别^[12],从而避免了被降解。在大肠腺瘤和大肠癌中有相当的 β -catenin 突变^[13]。

4.1.2 β -catenin 降解复合体中的成分突变 β -catenin 降解复合体主要由 GSK-3 β 、Aixn、APC 和 CK-1 α 蛋白组成; β -catenin 降解复合体的主要功能在于使 β -catenin 磷酸化,而后被泛素-蛋白酶体系统识别,促使 β -catenin 迅速被破坏的作用^[11],以保持 β -catenin 低水平状态,从而关闭 Wnt 途径。

GSK-3 β 降解细胞质中 β -catenin 的作用可能通过两种方式完成:一是 GSK-3 β 本身通过磷酸化可能起到了降解 β -catenin 作用;二是 GSK-3 β 使 APC 蛋白磷酸化,而磷酸化后的 APC 蛋白具有与 β -catenin 的高亲和性,从而降解 β -catenin。因此,GSK-3 β 磷酸化位点的突变则导致细胞质内 β -catenin 的含量增加,从而显著增加 β -catenin 的稳定性并加强其活性,进而促进大肠癌和其他肿瘤的发生、发展^[14]。

APC 是组成 β -catenin 降解复合体的一个成员,APC 发生突变可以阻碍 β -catenin 降解。其突变后可导致结肠上皮细胞过度增生,形成息肉,逐渐发展为腺瘤,并最终恶变成结肠癌。研究^[15]表明,APC 基因与结肠癌发生的关系极为密切,大约 85% 散发性结肠癌中可检测到 APC 基因缺失或失活,而 APC 基因的缺失或失活被公认是结肠癌发生的早期事件^[15]。

Axin 是另一个参与磷酸化 β -catenin 的支架蛋白,它与 β -catenin 降解复合体其他成员的作用紧密相关,参与肿瘤的形成。在对大肠癌细胞株的研究中发现,Axin 表达缺失可以导致 β -catenin 的大量积聚,从而引起 Wnt 信号通路异常活跃,说明 Axin 基因也和 APC 基因一样起抑癌基因作用;一些没有 APC 和 β -catenin 基因突变的大肠癌中出现了 Axin 的突变,这些突变导致 Dsh 或者 GSK-3 β 结合位点的消失,导致 β -catenin 在核内的累积。经研究^[16]发现,结直肠癌中 Axin 的突变率约为 11%,主要发生在 1 号与 5 号外显子之间,为 APC、GSK-3 β 、 β -catenin 的结合位点。

4.2 hTCF4 与结直肠癌 hTCF4 是 TCF 基因家族的一个成员,属于 Wnt 信号通路中细胞核内的一种转录因子,位于染色体 10q25.3,含有 17 个外显子。TCF 家族包括 TCF-1、TCF-3、TCF-4 等,具有高度保守的 HMGBox,调控着下游靶基因的表达^[17]。其中 TCF-4 在哺乳类上皮中表达,在结直肠癌中高表达,参与上皮细胞的发育和分化,与肿瘤的形成密

切相关^[18]。TCF-4 作为核内转录因子可携带上游信号分子 β -catenin 入核,启动下游靶基因的表达,是核内基因调控的重要分子。在正常组织发育和分化过程中,TCF 基因家族也起至关重要的作用。

TCF 作为 Wnt 通路中的分子开关,由于其在 Wnt 通路调控细胞癌变过程中有重要作用,目前已经成为肿瘤基因治疗的一个分子靶点。

4.3 Wnt 信号通路的下游靶基因与结直肠癌

4.3.1 MMP-7 与结直肠癌 MMP-7 属于 MMPs 家族中的一个成员,MMPs 是 Zn^{2+} 依赖性蛋白水解酶能降解多种基底膜和细胞外基质成分,在肿瘤的浸润和转移中起重要作用。MMP-7 是 MMPs 中唯一由上皮性肿瘤细胞特异性表达的酶,与大肠癌的浸润和转移密切相关。黄文广等^[19]研究表明,MMP-7 作为 Wnt 通路中 hTCF-4 的靶基因,在大肠癌组织中的阳性率显著高于正常大肠组织,且与可反映肿瘤浸润和转移程度的 Dukes 分期相关。因此,MMP-7 因其对肿瘤细胞的浸润、转移及其与 Dukes 分期的重要相关性而得到了越来越多的重视。

4.3.2 Survivin 与结直肠癌 Survivin 是由 Ambrosini 等^[20]用效应细胞蛋白酶受体 cDNA 在人类基因组库的杂交筛选中分离出来的凋亡抑制蛋白家族成员。基因长度为 14.7 kb,定位于人类染色体 17q25。在正常成人组织中,除了胎盘和胸腺微弱表达外,其他组织基本很难检测到 Survivin 的表达。Kawasaki 等^[21]对结直肠从增生到癌变不同时期研究发现,Survivin 阳性率逐渐升高,凋亡指数依次降低,提示是大肠癌发生早期的必然事件,在大肠肿瘤从低度异常增生腺瘤向高度异常增生腺瘤转化的过程中具有重要的作用等,可作为大肠癌早期阶段的分子标志物。Tamm 等^[22]用免疫组织化学法检测包括肺癌、结直肠癌、胰腺癌、前列腺癌和乳腺癌等人类常见的肿瘤细胞株的生存素水平,发现均有不同程度表达。Survivin 是近年来发现的一种凋亡抑制基因,在肿瘤的发生过程中受到广泛关注。

5 Wnt 信号转导通路与其他肿瘤

5.1 Wnt 信号通路与胃癌 近年来,信号通路与胃癌的关系已经成为胃癌发病机制的研究热点,目前已取得不少研究成果。Ebert 等^[23]在肠型胃癌组织中检测到 APC 基因的突变,说明肠型胃癌的形成可能与 APC 基因的突变有关,并研究发现胃癌中存在 β -catenin 突变和核集聚,表明 Wnt 信号通路在胃癌中异常激活。

5.2 Wnt 信号通路与肝癌 Zhao 等^[24]发现在肝癌细胞系 BEL-7402 中 TCF-4 高表达,在 Wnt 信号通路中, β -catenin 的积聚和 TCF-4 转录因子的高表达是肝癌细胞转移和侵袭的关键事件。

5.3 Wnt 信号通路与胰腺癌 Li 等^[25]胰腺癌中 β -catenin 蛋白表达异常,通过 Wnt β -catenin 信号通路调控下游基因 cyclinD1、c-myc 和 MMP-7 转录,导致肿瘤进展及转移,影响胰腺癌患者预后。因此,针对性地阻断 LEF/TCF 与 β -

catenin 的结合位点即可阻断下游靶基因的转录,从而逆转肿瘤细胞的恶性生物学特性。

5.4 Wnt 信号通路与乳腺癌 刘臻等^[26] 研究结果提示,乳腺癌组织中细胞内 β -catenin 异常积聚不完全是由 β -catenin 基因突变所致,可能存在其他途径调节 β -catenin 的表达,如 β -catenin 降解复合物(包括 APC、GSK-3 β 及 Axin)异常,导致 β -catenin 基因扩增。

6 展望

Wnt 途径是一条多环节、多作用位点的开放式途径,在细胞质内 β -catenin 的游离增多是引发细胞增殖和分化异常的必备环节, β -catenin 进入核内,通过与 TCF/LEF 形成转录复合体才能启动下游靶基因的表达。Wnt 信号转导通路的异常表达或激活与多种肿瘤的发生发展可能有关,阻断或增强 Wnt 相关蛋白的表达能抑制某种肿瘤的发展。在结直肠癌中,敲除 β -catenin 基因可抑制 β -catenin 蛋白表达。因此,进一步研究 Wnt 途径的转导过程,对肿瘤的预防、诊断和治疗都具有重要的理论和实用价值。相信在不久的将来,随着对 Wnt 信号通路及其成员研究的不断深入,人们对 Wnt 信号通路在肿瘤发生、发展中的作用机制将会进一步明确,针对 Wnt 信号通路不同靶点的高特异性基因药物的开发以及肿瘤的分子诊断,都将为肿瘤的诊治提供新的研究领域。

[参 考 文 献]

- [1] Heasley LE, Han SY. JNK regulation of oncogenesis [J]. *Mol Cells*, 2006, 21(2): 167 - 173.
- [2] Bryja V, Cajánek L, Grahn A, *et al.* Inhibition of endocytosis blocks Wnt signaling to β -catenin by promoting disheveled degradation [J]. *Acta Physiol (Oxf)*, 2007, 190(1): 55 - 61.
- [3] Nusse R, Varmus HE. Many tumors induced by the mouse mammary tumor virus contain a provirus integrated in the same region of the host genome [J]. *Cell*, 1982, 31(1): 99 - 109.
- [4] Hendriks B, Reichmann E. Wnt signalling: a complex issue [J]. *Biol Res*, 2002, 35(2): 277 - 286.
- [5] Veeman MT, Axelrod JD, Moon RT. A second canon. Functions and mechanisms of β -catenin-independent Wnt signaling [J]. *Dev Cell*, 2003, 5(3): 367 - 377.
- [6] Yang Y. Wnts and wing: Wnt signaling in vertebrate limb development and musculoskeletal morphogenesis [J]. *Birth Defects Res C Embryo Today*, 2003, 69(4): 305 - 317.
- [7] Chien AJ, Moon RT. WNTs and WNT receptors as therapeutic tools and targets in human disease processes [J]. *Front Biosci*, 2007, 12: 448 - 457.
- [8] Gordon MD, Nusse R. Wnt signaling: multiple pathways, multiple receptors, and multiple transcription factors [J]. *J Biol Chem*, 2006, 281(32): 22429 - 22433.
- [9] Kriehhoff E, Behrens J, Mayr B. Nucleo-cytoplasmic distribution of β -catenin is regulated by retention [J]. *J Cell Sci*, 2006, 119(Pt 7): 1453 - 1463.
- [10] Kollings FT, Bommer G, Goke B. Wnt/ β -catenin/tcf signaling: a critical pathway in gastrointestinal tumorigenesis [J]. *Digestion*, 2002, 66(3): 131 - 144.
- [11] Haydon RC, Deyrup A, Ishikawa A, *et al.* Cytoplasmic and/or nuclear accumulation of the β -catenin protein is a frequent event in human osteosarcoma [J]. *Int J Cancer*, 2002, 102(4): 338 - 342.
- [12] Tolwinski NS, Wieschaus E. Rethinking WNT signaling [J]. *Trends Genet*, 2004, 20(4): 177 - 181.
- [13] Kohno H, Suzuki R, Sugie S, *et al.* β -catenin mutations in a mouse model of inflammation-related colon carcinogenesis induced by 1, 2-dimethylhydrazine and dextran sodium sulfate [J]. *Cancer Sci*, 2005, 96(2): 69 - 76.
- [14] Amit S, Hatzubai A, Biman Y, *et al.* Axin-mediated CK I phosphorylation of β -catenin at Ser 45: a molecular switch for the Wnt pathway [J]. *Genes Dev*, 2002, 16(9): 1066 - 1076.
- [15] Behrens J. The role of the Wnt signaling pathway in colorectal tumorigenesis [J]. *Biochem Soc Trans*, 2005, 33(Pt 4): 672 - 675.
- [16] Webster MT, Rozycka M, Sara E, *et al.* Sequence variants of the axin gene in breast, colon, and other cancers: an analysis of mutation that interfere with GSK3 binding [J]. *Genes Chromosomes Cancer*, 2000, 28(4): 443 - 453.
- [17] Van de Wetering M, Sancho E, Verweij C, *et al.* The β -catenin/TCF-4 complex imposes a crypt progenitor phenotype on colorectal cancer cells [J]. *Cell*, 2002, 111(2): 241 - 250.
- [18] D'Orazio D, Muller PY, Heinimann K, *et al.* Overexpression of Wnt target genes in adenomas of familial adenomatous polyposis patients [J]. *Anticancer Res*, 2002, 22(6A): 3409 - 3414.
- [19] 黄文广, 刘琪, 黄汉菊, 等. 结直肠癌 MMP-7 的表达及对微血管生成和肿瘤转移的影响 [J]. *中华医学杂志*, 2004, 28(1): 10 - 12.
- [20] Ambrosini G, Adida C, Altieri DC. A novel anti-apoptosis gene, survivin, expressed in cancer and lymphoma [J]. *Nat Med*, 1997, 3(8): 917 - 921.
- [21] Kawaski H, Toyoda M, Shinohara H, *et al.* Expression of survivin correlates with apoptosis, proliferation, and angiogenesis during human colorectal tumorigenesis [J]. *Cancer*, 2001, 91(11): 2026 - 2032.
- [22] Tamm I, Wang Y, Sansville E, *et al.* IAP-family protein survivin inhibits caspase activity and apoptosis induced by Fas (CD95), Bax, caspases, and anticancer drugs [J]. *Cancer Res*, 1998, 58(23): 5315 - 5320.
- [23] Ebert MP, Fei G, Kahmann S, *et al.* Increased β -catenin mRNA levels and mutational alterations of the APC and β -catenin gene are present in intestinal-type gastric cancer [J]. *Carcinogenesis*, 2002, 23(1): 87 - 91.
- [24] Zhao DH, Hong JJ, Guo SY, *et al.* Aberrant expression and function of TCF4 in the proliferation of hepatocellular carcinoma cell line BEL-7402 [J]. *Cell Res*, 2004, 14(1): 74 - 80.
- [25] Li YJ, Wei ZM, Meng YX, *et al.* β -catenin up-regulates the expression of cyclin D1, c-myc and MMP-7 in human pancreatic cancer: relationships with carcinogenesis and metastasis [J]. *World J Gastroenterol*, 2005, 11(14): 2117 - 2123.
- [26] 刘臻, 王贵友, 崔东旭, 等. 乳腺癌中 β -catenin 基因突变和表达的研究 [J]. *中国普通外科杂志*, 2007, 16(1): 55 - 57.