

Wnt/ β -catenin 信号通路在食管癌变中的作用

王丽芳(综述)/单保恩(审校)

(河北医科大学第四医院科研中心, 河北 石家庄 050011)

【摘要】 Wnt 家族基因编码一组糖蛋白信号分子, 这些分子激活的信号通路在人类不同肿瘤细胞中的作用相互交织, β -catenin 是 Wnt 信号通路正向调节的重要效应分子, 该分子在细胞质内降解的失调可于细胞核内累积激活一系列靶基因的转录, 导致肿瘤发生。近来, Wnt 信号通路及其关键组分 β -catenin 在食管癌形成过程中的作用越来越受到重视, 阻断 Wnt 途径, 在食管癌治疗中可能是一个新的靶点。

【关键词】 β -catenin; Wnt 信号通路; 食管癌

中图分类号: R735.1

文献标识码: A

文章编号: 1004-616X(2009)02-0156-03

食管癌是世界上最常见的恶性肿瘤之一。目前, 食管癌的病因不明, 造成预防困难, 因缺乏十分有效的诊治方法, 发病率、死亡率居高不下, 总 5 年生存率不超过 10%。早期癌和癌前病变的发现、诊断和治疗是目前降低食管癌发病率和死亡率的主要措施。食管癌从组织学上分为两个主要亚型: 鳞状细胞癌(ESC)和腺癌(EAC)。食管鳞状上皮不典型增生是食管上皮癌变过程中必经的癌前病变阶段, Barrett 食管(BE)被认为是一种重要的食管腺癌的癌前病变。更好地识别癌前病变到癌的进化过程中的分子改变, 明确这些分子介导的顺序事件, 对于了解疾病的进程以及有可能发现未来治疗中新的靶向目标是非常重要的。

Wnt 信号通路是由 Wnt 蛋白及其受体、调节蛋白等组成的复杂信号途径, 可调控细胞的分化, 参与哺乳动物生殖系统正常发育的多个过程。越来越多的证据表明, Wnt 信号途径异常激活参与了多种人类肿瘤的发生^[1]。在胃肠道肿瘤、胰腺癌、脑部肿瘤、卵巢癌、子宫内膜癌、非小细胞肺癌、间皮瘤以及头颈肿瘤等发病过程中都存在该途径的异常活化。本文就食管癌及癌前病变形成过程中 Wnt 信号途径的关键作用, 以及 Wnt/ β -catenin 信号通路为作用靶点治疗食管癌可能性的研究进展进行综述。

1 Wnt 信号通路

Wnt 蛋白是一类分泌型糖蛋白, 通过自分泌或旁分泌发挥作用, 它们组成一个高度保守的信号分子家族, 这些信号分子由不同细胞系产生。已从人类分离鉴定出 19 个 Wnt 蛋白。根据 Wnt 蛋白转导信号的方式, 将 Wnt 信号途径分为经典途径(classical Wnt signal pathway)和非经典的途径(nonclassical Wnt signal pathway)。

1.1 经典 Wnt/ β -catenin 信号途径 经典 Wnt 途径的一个

特征就是 β -catenin 于胞质内稳定表达及核内定位。没有 Wnt 信号时, β -catenin 被 β -catenin 降解复合体的成分靶向破坏。激活的 Wnt 信号可破坏这一复合体, 使 β -catenin 稳定表达并定位于核内。

Wnt 家族至少包含 19 个富含半胱氨酸的糖化蛋白, Wnt 蛋白在胞膜上与一种卷曲蛋白(frizzled, Frz)的 7 次跨膜受体相结合, 同时结合的还有低密度脂蛋白受体相关蛋白(low density lipoprotein receptor related protein 5 and 6, LRP5/6), 这是 Wnt 信号通路活化的重要起始信号^[2]。通过这些受体复合物将信号传至胞质内, 激活一系列蛋白的活性, 包括散乱蛋白(dishevelled, Dsh)、糖原合成酶激酶(GSK-3 β)、APC(adenomatous polyposis coli)、轴蛋白(AXIN)和转录调节剂 β -catenin。Wnt 和 Frz 受体的结合被 WIF1 和分泌性 Frz 相关蛋白(secreted frizzled-related proteins, SFRPs)竞争性抑制^[3], 而 Dickko 家族(DKK-1, DKK-2)通过间接减少可利用的辅助受体 LRP 的数量来间接抑制 Wnt 与膜受体的结合^[4]。

在正常情况下胞质内 β -catenin 的水平被多蛋白降解复合体调控, 这组复合体包括 APC、AXIN、GSK-3 β 和酪蛋白激酶 $1\alpha/\epsilon$ (CKI α/ϵ)。复合体的功能可使 β -catenin 磷酸化, 而后被泛素-蛋白酶体系统降解。所以正常情况下, 胞质内游离 β -catenin 处于极低的水平。一旦 Wnt 蛋白与受体 Frz 结合, 可使胞质 Dsh 激活而被磷酸化, 进一步与 APC 结合, 抑制 GSK-3 β 的活性, 使 β -catenin 不能被磷酸化, 导致 β -catenin 在胞质内积累继而入胞核, 与核内转录因子 TCF/LEF(T cell factor/lymphoid enhancer factor)形成复合体, 激活一系列 Wnt 信号靶基因的转录, 包括 c-myc、cyclinD1、MMP-7 和免疫球蛋白转录因子 2(ITF-2)。核内 β -catenin 的出现是 Wnt 信号通路激活的标志^[5]。 β -catenin 是 Wnt 信号通路的正向调节因子, 而 APC、AXIN、GSK-3 β 等则是负向调节因子。

收稿日期: 2008-04-03; 修订日期: 2008-06-23

基金项目: 国家自然科学基金项目(30772752)

作者简介: 王丽芳(1971-), 女, 河北省行唐人, 副主任检验师, 博士研究生, 研究方向: 肿瘤免疫。

* Correspondence to: SHAN Bao-en, Tel: 0311-86095283, E-mail: baoenshan@yahoo.com.cn

1.2 非经典的 Wnt 信号途径 Wnt 蛋白与受体的结合也可以通过其他两种途径激活信号转导^[6]。其一,与某些 Frz 受体的结合可以使细胞内钙离子释放,激活蛋白激酶 C(PKC)。其二,Dsh 激活 Jun-N 末端激酶 (JNK) 通路,从而调控细胞支架重排以及细胞的极性。非经典的 Wnt 信号途径在肿瘤中的作用尚不明了。

1.3 Wnt 信号通路与肿瘤 有许多研究报道,Wnt 途径中的许多成分可能在肿瘤形成过程中起作用,特别是 APC 和 β -catenin^[7-8]。引起 Wnt 信号途径活化的蛋白的突变可导致癌症发生,结肠癌 (colorectal cancer, CRC) 是一典型的例子。绝大多数 CRC 中,常见 APC 突变及游离 β -catenin 增多^[7]。而且在拥有未受损 APC 的 CRC 中发现有 50% 的病例存在 β -catenin 基因的突变。

其他肿瘤组织如胃癌、黑色素瘤、肝细胞肝癌、前列腺癌、肾癌、卵巢癌等也常发生 β -catenin 的突变^[8]。几乎所有报道的 β -catenin 基因突变均发生在 exon 3,特别是引起 GSK3 β 识别 motif 的丢失,这些突变产生一种具有转录活性,但不能被 APC-AXIN 复合物降解的蛋白。也有报道提出,在 CRC、黑色素瘤、成神经管细胞瘤和硬纤维瘤中,APC 存在功能丢失性突变^[9],几乎所有体细胞 APC 突变都会导致一种截断的蛋白产生,该蛋白已失去了 AXIN 结合位点并且会引起降解复合体的不稳定。AXIN 的突变也存在于一些肿瘤组织中^[10]。但人类肿瘤中很少发生 TCF/LEF 基因的突变。在许多肿瘤如结肠癌、乳腺癌、膀胱癌、间皮瘤和肺癌组织中,SFRPs 和 WIF-1 均出现下调,而一些 Wnt 的配基则表现为过表达,如结肠癌、胃癌、肺癌、卵巢癌以及头颈部鳞状细胞癌等^[9]。

2 Wnt 信号途径与食管癌

Wnt 途径的激活是许多人类肿瘤的特征之一,最具代表性的是肠道肿瘤。近年来许多研究证明,在食管癌的发生过程中涉及 Wnt 途径中许多成分的改变。

2.1 β -catenin β -catenin 是 Wnt 信号途径的关键成员,当其去磷酸化时可转移入核,与 TCF/LEF 转录因子家族成员相互作用,促进基因的激活,可导致肿瘤生长。在正常食管鳞状上皮细胞中, β -catenin 表达于细胞膜,在癌旁粘液中,开始出现细胞膜表达减弱,并有细胞浆和细胞核的表达。在食管癌组织中, β -catenin 细胞核异常表达明显,但 β -catenin 在食管癌中的异常表达率与预后及各种临床病理指标之间关系报道不一。Krishnadath 等^[11]报道,食管癌组织中 β -catenin 的胞膜减弱表达率为 72%, β -catenin 的表达与病理分化程度相关,与患者生存期成反比,他们认为 β -catenin 低表达与不良预后有关。而 Osterheld 等^[12]报道,食管癌组织中 β -catenin 异常表达率为 61% (43/70), β -catenin 的异常表达与病理分化程度、淋巴结转移无关,但食管癌患者具有较好预后。Bian 等^[13]研究发现,在食管上皮不典型增生和食管癌组织中均存在 β -catenin 的异常表达,但 β -catenin 的异常表达在不典型增生和癌之间存在差异,与病变发展显著相关,随着病变的加重, β -catenin 核内聚集显著增加。不典型增生是癌前病变阶段,因此, β -catenin 的异常表达在食管癌发生和发展中可能有重要作用。在正常鳞状上皮中从未观察到核内 β -catenin 的聚集。

2.2 APC 和 AXIN 一些研究证明,食管癌变时不存在 AXIN 的突变,食管腺癌中普遍存在 APC 的等位基因的缺失,但突

变是一低频率事件^[14]。在 68%~95% 的食管腺癌中观察到 APC 启动子高甲基化现象,在 Barrett 食管的肿瘤形成及进展过程中,在化生阶段已经存在 APC 启动子甲基化的高发生率^[15]。但是,核内 β -catenin 的聚集仅从发育不良阶段才被检测到,鉴于此,失活的 APC 在 Wnt 途径中的作用仍然没有得到很好地确定。有学者应用针对 APC 的小干扰 RNA (siRNA) 处理食管腺癌细胞株,发现 APC 的沉默对 β -catenin 的核内移位并不总是必需的^[16]。

2.3 Wnt 蛋白 在食管腺癌及正常食管鳞状组织中均检测到 Wnt1, Wnt5a, Wnt10b 和 Wnt13 以及 Frz7 的相似的转录水平。半定量逆转录多聚酶链反应分析结果显示,在不典型增生到腺癌的发展过程中,Wnt2 从 44% 显著上调到 77%^[17]。

3 Wnt 信号途径——一个潜在的治疗靶点

Wnt 信号途径在人类肿瘤形成中的意义为应用其信号通路分子作为肿瘤治疗的靶点提供了依据。

3.1 抗 Wnt 单克隆抗体 Wnt 基因编码的 Wnt 蛋白在 Wnt 信号通路激活中起重要的作用。抗 Wnt 单克隆抗体通过与 Wnt 蛋白相互作用可拮抗 Wnt 信号通路的激活。Mikami 等^[18]用抗 Wnt1 单克隆抗体处理肉瘤细胞及肉瘤肺转移瘤组织的原代培养物后发现,抗 Wnt1 单克隆抗体能明显阻断其 Wnt1 信号,诱导细胞凋亡和死亡。He 等^[17]报道,抗 Wnt1 单抗可诱导 Wnt1 过度表达的非小细胞肺癌、乳腺癌、肉瘤等细胞的凋亡并引起下游蛋白的改变,在体内可抑制肿瘤生长,但不能诱导内源性 Wnt1 低表达的肿瘤细胞凋亡。You 等^[19]报道,抗 Wnt2 单克隆抗体可下调恶性黑色素瘤细胞 β -catenin 和散乱蛋白并使 Survivin 失活,诱导细胞凋亡,抑制恶性黑色素瘤细胞体外移植瘤的生长。

3.2 抗卷曲蛋白同源物 10(Frz10) 单克隆抗体 Wnt 信号通路是通过 Wnt 与 Frz 和 LRP5/6 结合被激活的。阻断 Wnt 与 Frz 结合,可作为抗癌治疗的靶点。Nagayama 等^[20]研究发现,Frz10 在滑膜肉瘤及其细胞株中过度表达,抗 Frz10 单克隆抗体能有效诱导滑膜肉瘤的抗体依赖性细胞毒作用,将抗 Frz10 单抗注入滑膜肉瘤裸鼠体外移植瘤中,能抑制肿瘤生长并诱导细胞凋亡。

3.3 非甾体类抗炎药 非甾体类抗炎药具有解热、镇痛、抗炎等作用,临床应用比较广泛。近年来发现,其具有预防和治疗肿瘤的作用,一些非甾体类抗炎药已被美国食品与药品管理局 (FDA) 批准为结肠癌的预防化疗药。临床试验及流行病学资料显示,非甾体类抗炎药可减少结肠癌的发生。

Boon 等^[21]研究表明,舒林酸及代谢物舒林酸磺 (sulindac sulfone) 能下调结肠腺癌中 β -catenin 的表达水平,用舒林酸治疗家族性结肠腺瘤息肉患者 6 个月后, β -catenin 水平比治疗前明显减少;同时,舒林酸可阻滞大肠癌细胞中 β -catenin/TCF 介导的基因转录,减少非磷酸化 β -catenin 水平。舒林酸磺可明显减少人结肠癌 SW480 细胞系中的 β -catenin、细胞周期素 D1 (Cyclin D1)、PPAR δ 的表达,呈剂量依赖性的减少 TCF 介导的基因转录^[22]。

塞来考昔是一种选择性环氧合酶 2 (COX-2) 抑制剂。1999 年 12 月, FDA 批准塞来考昔用于减少家族性结肠腺瘤息肉患者的大肠息肉。Maier 等^[23]发现,塞来考昔处理结肠癌细胞系 Caco-2 8 h 后,可见依赖于凋亡蛋白酶 (Caspase) 和蛋白酶体的 β -catenin 降解,在肿瘤细胞系 HCT-116、MCF-7 和 LNCAP 中也观察到,塞来



考昔可诱导细胞 β -catenin 的降解。

4 靶向 Wnt 信号途径在食管癌前病变治疗中的展望

Wnt 信号途径在食管癌前病变形成过程中的意义近年来才引起关注。在食管癌的形成过程中存在 Wnt 信号途径中某些成分的改变,这些成分可能成为新的治疗靶点。

在 Barrett 食管发展至食管腺癌过程中,早期即发生了 Wnt 途径的激活和改变。来源于 Barrett 食管的食管腺癌患者中由于 Wnt 拮抗剂启动子的高甲基化而导致其表达水平下降^[24]。在不典型增生的 Barrett 食管向食管腺癌发展的过程中,存在致癌性 β -catenin 的激活及 Wnt2 的上调^[16]。根据靶向 Wnt 途径治疗其他肿瘤的经验,我们推断,可通过以下途径阻断 Wnt 信号的激活 ①应用重组蛋白恢复 Wnt 拮抗剂的表达 ②干扰 Wnt2 与其受体的结合 ③阻断 β -catenin 或它与 TCF4 的相互作用。这些措施单独或联合应用在治疗 Barrett 食管患者中可能有一定的意义。

5 小结

Wnt/ β -catenin 信号通路在人类肿瘤的发生发展中起重要作用,以该信号通路分子作为治疗靶点的研究日益引起广大肿瘤与药物工作者的兴趣,开发出许多针对 Wnt/ β -catenin 信号通路的抗肿瘤药物。Wnt/ β -catenin 信号通路在食管癌前病变形成过程中的意义,使得我们相信,以 Wnt 信号途径作为靶点治疗食管癌特别是癌前病变是一个具有高度吸引力并且有意义的措施。然而,正确认识和弄清楚这一复杂的途径,在其应用于临床治疗前仍有许多问题需要我们去解决。

参考文献:

- [1] Polakis P. Wnt signaling and cancer[J]. *Genes Dev*, 2000, 14(15): 1837 - 1851.
- [2] Tamai K, Senenov M, Kato Y, et al. LDL-receptor-related proteins in Wnt signal transduction[J]. *Nature*, 2000, 407(6803): 530 - 535.
- [3] Uren A, Reichsman F, Anest V, et al. Secreted frizzled-related protein-1 binds directly to Wntless and is a biphasic modulator of Wnt signaling[J]. *J Biol Chem*, 2000, 275(6): 4374 - 4382.
- [4] Fedi P, Bafico A, Nieto SA, et al. Isolation and biochemical characterization of the human Dkk-1 homologue, a novel inhibitor of mammalian Wnt signaling[J]. *J Biol Chem*, 1999, 274(27): 19465 - 19472.
- [5] Willert K, Jones KA. Wnt signaling: is the party in the nucleus? [J]. *Genes Dev*, 2006, 20(11): 1394 - 1404.
- [6] Widelitz R. Wnt signaling through canonical and non-canonical pathways: recent progress[J]. *Growth Factors*, 2005, 23(2): 111 - 116.
- [7] Morin PJ, Sparks AB, Korinek V, et al. Activation of β -catenin-Tcf signaling in colon cancer by mutations in β -catenin or APC[J]. *Science*, 1997, 275(5307): 1787 - 1790.
- [8] Luu HH, Zhang R, Haydon RC, et al. Wnt/ β -catenin signaling pathway as a novel cancer drug target[J]. *Curr Cancer Drug Targets*,

2004, 4(8): 653 - 671.

- [9] Ilyas M. Wnt signaling and the mechanistic basis of tumour development [J]. *J Pathol*, 2005, 205(2): 130 - 144.
- [10] Jin LH, Shao QJ, Luo W, et al. Detection of point mutations of the AXIN 1 gene in colorectal cancers[J]. *Int J Cancer*, 2003, 107(5): 696 - 699.
- [11] Krishnadath KK, Tilanus HW, Blankenstein MV, et al. Reduced expression of the cadherin-catenin complex in oesophageal adenocarcinoma correlates with poor prognosis[J]. *J Pathol*, 1997, 182(3): 331 - 338.
- [12] Osterheld MC, Bian YS, Bosman FF, et al. Beta-catenin expression and its association with prognostic factors in adenocarcinoma developed in Barrett esophagus[J]. *Am J Clin Pathol*, 2002, 117(3): 451 - 456.
- [13] Bian YS, Osterheld MC, Bosman FT, et al. Nuclear accumulation of beta-catenin is a common and early event during neoplastic progression of Barrett esophagus[J]. *Am J Clin Pathol*, 2000, 114(4): 583 - 590.
- [14] Choi YW, Heath EI, Heitmiller R, et al. Mutations in β -catenin and APC genes are uncommon in esophageal and esophageal junction adenocarcinomas[J]. *Mod Pathol*, 2000, 13(10): 1055 - 1059.
- [15] Clement G, Braunschweig R, Pasquier N, et al. Methylation of APC, TIMP3, and TERT: a new predictive marker to distinguish Barrett's oesophagus patients at risk for malignant transformation[J]. *J Pathol*, 2006, 208(1): 100 - 107.
- [16] Clement G, Braunschweig R, Pasquier N, et al. Alterations of the Wnt signaling pathway during the neoplastic progression of Barrett's esophagus[J]. *Oncogene*, 2006, 25(21): 3084 - 3092.
- [17] He B, You L, Uematsu K, et al. A monoclonal antibody against Wnt1 induces apoptosis in human cancer cells[J]. *Neoplasia*, 2004, 6(1): 7 - 14.
- [18] Mikami I, You L, He B, et al. Efficacy of Wnt1 monoclonal antibody in sarcoma cells[J]. *BMC Cancer*, 2005, 5(1): 53 - 59.
- [19] You L, He B, Xu Z, et al. An anti-Wnt2 monoclonal antibody induces apoptosis in malignant melanoma cells and inhibits tumor growth[J]. *Cancer Res*, 2004, 64(15): 5385 - 5389.
- [20] Nagayama S, Fukukawa C, Katagiri T, et al. Therapeutic potential of antibodies against FZD 10, a cell-surface protein, for synovial sarcomas [J]. *Oncogene*, 2005, 24(41): 6201 - 6212.
- [21] Boon EM, Keller JJ, Wormhoudt TA, et al. Sulindac targets nuclear beta-catenin accumulation and Wnt signalling in adenomas of patients with familial adenomatous polyposis and in human colorectal cancer cell lines[J]. *Br J Cancer*, 2004, 90(1): 224 - 229.
- [22] Chang WC, Everley LC, Pfeiffer GR, et al. Sulindac sulfone is most effective in modulating beta-catenin mediated transcription in cells with mutant APC[J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2005, 1059: 41 - 55.
- [23] Maier TJ, Janssen A, Schmidt R, et al. Targeting the beta-catenin/APC pathway: a novel mechanism to explain the cyclooxygenase-2-independent anticarcinogenic effects of celecoxib in human colon carcinoma cells[J]. *FASEB J*, 2005, 19(10): 1353 - 1355.
- [24] Zou H, Molina JR, Harrington JJ, et al. Aberrant methylation of secreted frizzled-related protein genes in esophageal adenocarcinoma and Barrett's esophagus[J]. *Int J Cancer*, 2005, 116(4): 584 - 591.