

• 综 述 •

Wnt 信号转导与人类肿瘤

郑建明, 朱明华 (第二军医大学长海医院病理科, 上海 200433)

[摘要] Wnt 信号转导途径对控制胚胎发育起十分重要的作用, 其异常可导致胚胎发育异常和细胞的恶性转化。近年来的研究表明, Wnt 信号通路的紊乱与多种人类肿瘤的发生密切相关。Wnt 信号转导途径异常的核心机制是游离的 β -连接蛋白在细胞内积累, 并通过其下游途径引发特异靶基因的表达。本文就 Wnt 信号途径的组成、结构特点、转导途径及其调控, 以及与人

类肿瘤发生的关系作一综述。

[关键词] Wnt 信号转导; β -连接蛋白; 肿瘤

[中图分类号] R 730.231

[文献标识码] A

[文章编号] 0258-879X(2004)12-1377-03

Wnt signal transduction and human tumor

ZHENG Jian-Ming, ZHU Ming-Hua (Department of Pathology, Changhai Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China)

[ABSTRACT] Wnt signal transduction pathway plays a very important role in embryonic development, and its abnormality may lead to developmental defects and cellular malignant transformation. It has been shown that disturbances of the Wnt signal transduction pathway were significantly related to human neoplastic transformation. The core mechanism of the pathway abnormality was the accumulation of free β -catenin protein in the cytoplasm and nucleus resulting in the expressions of specific target genes by downstream pathway. This paper reviews the composition and structural character, transduction and regulation of the Wnt signal pathway and its relation with human tumorigenesis.

[KEY WORDS] Wnt signal transduction; β -catenin; neoplasms

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2004, 25(12): 1377-1379]

Wnt 通路是一条对控制胚胎发育起重要作用的信号途径, 在进化上具有高度的保守性, 从低等生物果蝇直至高等哺乳动物, 其成员都具有高度的同源性^[1,2]。研究显示, 在决定细胞命运和细胞增生的过程中, 都涉及到 Wnt 信号转导。近年来发现, Wnt 信号途径的紊乱与多种人类肿瘤的发生密切相关^[3,4]。

1 Wnt 信号转导途径的组成和结构特点

Wnt 信号转导途径包括信号蛋白(Wnt)、跨膜受体(Frizzled)、胞质蛋白及核内转录因子等。后两者包括 β -连接蛋白(β -catenin)、结肠腺瘤样息肉病蛋白(adenomatous polyposis coli, APC)、糖原合成酶激酶 3 β (glycogen synthase kinase-3 β , GSK-3 β)、轴蛋白(axin)、T 细胞转录因子/淋巴样增强因子(T cell transcription factor/lymphoid enhancer factor, TCF/LEF)及其转录活化因子 CBP(CREB binding protein)等。

1.1 Wnt 信号蛋白 1982 年, Wnt 基因最初是作为小鼠乳腺肿瘤病毒整合位点而被鉴定的, 称为 Int-1 基因。将小鼠乳腺肿瘤病毒插入或整合到基因组中该基因附近时可使它激活, 这种异常激活可引起小鼠肿瘤, 因此 Int-1 基因被认为是一种癌基因。后来发现它与果蝇的无翅基因(Wingless, wg)有高度的序列同源性, 因此更名为 Wnt-1 基因(为 Int-1 和 Wingless 的缩合)^[5]。以后发现从线虫到人类都有 Wnt 基因, 现已克隆出 19 种 Wnt 基因家族的成员, 它们编码的分

泌型糖蛋白由 350~400 个氨基酸组成, 其特征为含有 22~24 个半胱氨酸残基的保守型^[6]。

1.2 Wnt 信号蛋白受体 现已查明 Frizzled 基因家族编码的卷曲蛋白为 Wnt 信号蛋白受体, 共有 7 种类型。它们均为跨膜蛋白, 其 N-端为富含半胱氨酸的结构域, 能与 Wnt 信号蛋白特异结合。这一过程受到多种因素的调节, 包括蛋白聚糖、Frizzled 相关蛋白(FRP)、Wnt 抑制因子(WIF)等^[7]。

1.3 胞质蛋白 包括 β -catenin、APC 蛋白、GSK-3 β 、axin 等。 β -catenin 基因定位于人染色体 3p21-22, 基因全长 23.2 kb, 有 16 个外显子, 编码的多肽链含 781 个氨基酸。人 β -catenin 基本结构包括: 氨基端 130 个氨基酸, 含有 GSK-3 β 和酪氨酸蛋白激酶(protein tyrosine kinase, PTK)的磷酸化位点, 其后为 α -catenin 的结合部位, 控制着分子的稳定性。羧基端约 100 个氨基酸, 有活化相应靶基因转录的功能。中间区域含 550 个氨基酸^[8]。APC 基因为一种抑癌基因, 定位于人染色体 5q21, 全长约为 10.4 kb, 含 15 个外显子和 14 个内含子。该基因突变在许多肿瘤的发病中起重要作用, 尤其是在大肠家族性腺瘤性息肉病的发生和恶变中。突变以第 15 外显子最为常见^[9], 其中 1 020~1 169 密码子及 1 323~2 075 密码子编码区被认为是 β -catenin 与 APC 蛋白结合或降解所需^[10]。

[作者简介] 郑建明(1962-), 男(汉族), 硕士, 副教授、副主任医师。
E-mail: jmzheng1962@163.com

GSK-3 β 即糖原合成酶激酶,是一种丝氨酸-苏氨酸蛋白激酶。在 GSK-3 β 结构中,丝氨酸或酪氨酸磷酸化可导致 GSK-3 β 自身的失活或激活。它可通过 3 种方式被调节: GSK-3 β 基因变异或失活。抑制物竞争抑制使 β -catenin 磷酸化受抑,从而正向调节 Wnt 信号途径,促进肿瘤发生。锂可选择性直接抑制 GSK-3 β 功能,促进细胞存活^[11]。

Axin(支架蛋白)被认为是爪蟾胚胎 Wnt 信号的抑制物,因其能抑制两栖类动物胚胎体轴的形成而命名为 axin (axis 和 inhibitor 的缩合)^[12]。

1.4 核内转录因子及其调节因子 TGF/LEF 家族有多个成员,但所有成员编码的蛋白产物均含有一个保守的高迁移率组分结构域,这类分子虽具有 DNA 结合能力,但不能激活基因转录。 β -catenin 进入核内,取代转录因子,与 TGF/LEF、DNA 结合形成三元复合物改变 DNA 结构,并且通过结合转录活化因子 P300/CPB 家族蛋白募集 RNA 聚合酶,启动靶基因的表达。

2 Wnt 信号通路及其调控

2.1 Wnt 信号通路 正常胚胎发育中,由细胞分泌的 Wnt 信号蛋白与跨膜受体(Frizzled 蛋白)结合,活化细胞内蛋白 Dsh(dishevelled),又称散乱蛋白,后者使 GSK-3 β 失活,保证胞质内 β -catenin 不被 GSK-3 β 降解。 β -catenin 进入核内与转录因子结合,启动转录过程,调控相应靶基因表达^[13]。

正常成熟细胞中没有 Wnt 信号,细胞中的 β -catenin 以 3 种形式存在,仅少量游离的 β -catenin 存在于细胞内,一部分与 APC 蛋白、GSK-3 β 和 axin 结合形成复合体;其余大部分 β -catenin 都连接在由细胞膜向细胞内伸出的 E-cadherin 分子上,调节细胞间黏附。因胞质内游离的 β -catenin 水平极低,不能进入核内启动相应基因表达。如在正常细胞中导入外源性 Wnt 信号或突变的 β -catenin 基因,可导致 β -catenin-Tcf 复合体形成,细胞转录活性大大提高并可能导致正常细胞癌变^[14]。异常 Wnt 信号通路致癌的关键是胞质内游离的变异 β -catenin 蛋白积累并进入细胞核。

肿瘤细胞中存在异常的 Wnt 信号通路,其激活既可由通路中各成分包括 β -catenin、APC 蛋白、GSK-3 β 及 axin 突变所致,也可能是 Wnt 基因本身突变。其核心是 β -catenin 降解受抑,造成游离的 β -catenin 增多并移位到细胞核内与转录因子 TCF/LEF 及其抑制蛋白等相互作用,从而引起靶基因的表达。 β -catenin 是 Wnt 信号通路的正性调节因素,而 APC 蛋白、GSK-3 β 及 axin 是负性调节因素。

2.2 Wnt 信号通路的调控 目前已查明有许多因子对 Wnt 信号转导发挥调控作用,有的为抑制,有的为促进。FRP 和 WIF 是通过与 Wnt 蛋白结合而起抑制作用的。CBP (CREB 结合蛋白)可乙酰化 TCF 的 β -catenin 结合区域,在没有 Wnt 信号刺激或 β -catenin 细胞内水平较低时,TCF 和 CBP 共同作用,抑制基因的转录。低密度脂蛋白受体相关蛋白 (low-density-lipoprotein-receptor-related protein, LRP) 是 Wnt 信号的辅助受体,可促进 Wnt 信号的转导等。研究表明,Wnt 途径是一个网状结构,又和其他细胞功能、信号转导

过程互相交叉,如 TGF- β 信号转导途径中的 Smads 家族成员都参与 Wnt 信号发放的调节,它们的交流能协同调节基因的表达,在发育和致癌过程中起重要作用^[15]。

3 Wnt 信号通路异常及其在肿瘤发生发展中的作用

Wnt 信号通路的异常会导致许多细胞活动产生灾难性变化,其发生机制主要有 3 种:一是组成 Wnt 信号通路的蛋白、转录因子或基因被破坏或变异,导致该途径关闭或局部途径异常活跃;二是过多的 Wnt 信号使整个途径异常活跃,细胞进行不必要的增殖;三是在没有 Wnt 信号时,细胞内其他的活动也会通过 Wnt 途径来刺激或诱发细胞乃至机体不正常的反应。

APC 基因失活包括染色体等位基因片段缺失、点突变和移码突变等,突变热点在第 15 外显子,突变蛋白一方面失去正常的功能,如不能与 β -catenin 结合,同时失去对 β -catenin 水平的调节,并使细胞获得持续生长的信号,进而发生恶性转化。突变的 APC 蛋白多无羧基端结构,失去了对微管系统的调节作用,微管组装减缓而分解加速,导致 DNA 合成旺盛、有丝分裂异常及恶性表型形成;另一方面突变蛋白又可与野生型蛋白结合,形成寡聚复合体,使野生型蛋白失活,进一步促进细胞的恶性转化^[16]。

β -catenin 基因常因突变或基因片段缺失而失活,其中外显子 3 的第 33、37、41、45 位密码子编码区构成的 β -catenin 蛋白的氨基末端是 GSK-3 β 结合位点,它的缺失或突变会导致 β -catenin 不与 GSK-3 β 结合而免于降解,并在胞质内积累。同时突变使 β -catenin 和 E-cadherin 结合位点结构异常,不能形成 β -catenin/E-cadherin 复合体,导致细胞黏附功能降低或丧失,促使肿瘤细胞发生浸润和转移^[13]。

Axin 基因也和 APC 基因一样起抑癌基因的作用,它的突变可降低 axin 和 GSK-3 β 之间的相互作用,使 Wnt 途径不恰当地活化而致癌^[17]。

已有许多研究报道在人类肿瘤,如乳腺癌、食管癌、结直肠癌、恶性黑素瘤、白血病、前列腺癌、子宫内膜癌、原发性肝癌、甲状腺癌、胰腺癌等中存在 Wnt 通路异常^[18-19]。乳腺癌的 Wnt 通路异常通常与 Wnt 本身基因突变有关,而其他肿瘤发生则多与 Wnt 通路中各种成分的变化有关。以 APC 和 β -catenin 基因突变最为常见。Morin 等^[20]检测了 APC 基因正常的 4 例结肠癌细胞株和 5 例结肠癌标本中 β -catenin 基因突变,发现有 2 株细胞存在突变,其中 1 例为 45 密码子缺失,另 1 例为 33 密码子点突变,5 例肿瘤标本中有 3 例有突变,所有突变都发生在外显子 3 所编码的 GSK-3 β 结合位点。Samowitz 等^[21]研究发现在结肠小腺瘤(<1 cm)、大腺瘤(≥ 1 cm)、侵袭性结肠癌中 β -catenin 基因外显子 3 的突变率分别为 12.5%、2.4%、1.4%,相互间差异显著,提示 β -catenin 基因突变可能是结直肠癌发生过程中的早期事件。据报道在人肝癌细胞中检测到 axin 基因的等位失活,故 axin 异常构成了人类癌症中 Wnt 途径的又一基因缺陷^[22]。在甲状腺癌中也检测到 APC 和 β -catenin 基因的突变^[23]。

Lowy 等^[24]检测胰腺癌细胞系和胰腺癌组织中 β -

catenin 的表达,发现 40% 的细胞系 β -catenin 表达减少,56% 的胰腺癌 β -catenin 膜表达减少,且与肿瘤去分化有关,提示胰腺癌中通常存在 β -catenin 的异常表达。Miao 等^[25]在研究胰腺实性和囊性肿瘤中 β -catenin 基因突变和蛋白积累,发现有 β -catenin 基因第 3 外显子突变和 β -catenin 异常表达。李玉军等^[26]不但发现胰腺癌中存在 β -catenin 表达的异常,而且在胰腺上皮内肿瘤中也存在 β -catenin 表达异常,且与 cyclin D1 和 c-myc 的高表达有显著的相关性,提示在胰腺癌发生过程中, β -catenin 的异常表达激活 cyclin D1 和 c-myc,引起细胞增殖和分化失控。

4 结 语

由于 Wnt 信号通路在生物体发育及肿瘤发生中的重要作用,目前,无论是在发育生物学还是肿瘤分子生物学领域,Wnt 信号通路都是研究的热点之一。近年来,虽然在 Wnt 通路研究中取得了很大进展,对其在肿瘤发生发展中的作用机制也进行了一些有益的探索,但还有许多具体问题尚有待于进行深入研究,如 Wnt 信号诱导的促进细胞增生和(或)抑制凋亡的基因有哪些? Wnt 途径如何与其他信号转导途径相互作用的? Wnt 通路中各成员的改变与肿瘤发生及浸润、转移的关系如何?另外,肿瘤的发生发展是一个复杂的网络工程,涉及多途径、多基因、多步骤的异常,探讨其变化规律对于阐明肿瘤的发生机制,寻找新的靶向治疗途径具有非常重要的理论和实践意义。

[参 考 文 献]

- [1] Wodarz A, Nusse R. Mechanisms of Wnt signaling in development[J]. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 1998, 14: 59-88.
- [2] Cadigan KM, Nusse R. Wnt signaling: a common theme in animal development[J]. *Genes Dev*, 1997, 11(24): 3286-3305.
- [3] Miler JR. Wnt signal transduction[A]. Alison M. *The cancer handbook* [M]. London: Nature Publishing Group, 2002. 195-208.
- [4] Karim R, Tse G, Putti T, et al. The significance of the Wnt pathway in the pathology of human cancers[J]. *Pathology*, 2004, 36(2): 120-128.
- [5] Pennisi E. How a growth control path takes a wrong turn to cancer[J]? *Science*, 1998, 281(5382): 1438-1439, 1441.
- [6] Dierick H, Bejsovec A. Cellular mechanisms of wingless/Wnt signal transduction[J]. *Curr Top Dev Biol*, 1999, 43: 153-190.
- [7] Miller JR, Hocking AM, Brown JD, et al. Mechanism and function of signal transduction by the Wnt/ β -catenin and Wnt/ Ca^{2+} pathways[J]. *Oncogene*, 1999, 18(55): 7860-7872.
- [8] Willert K, Nusse R. β -catenin: a key mediator of Wnt signaling[J]. *Curr Opin Genet Dev*, 1998, 8(1): 95-102.
- [9] Miyoshi Y, Ando H, Nagase H, et al. Germ-line mutations of the APC gene in 53 familial adenomatous polyposis patients[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1992, 89(10): 4452-4456.
- [10] Sansom OJ, Reed KR, Hayes AJ, et al. Loss of Apc *in vivo* immediately perturbs Wnt signaling, differentiation, and migration[J]. *Genes Dev*, 2004, 18(12): 1385-1390.
- [11] Yamamoto H, Kishida S, Kishida M, et al. Phosphorylation of axin, a Wnt signal negative regulator, by glycogen synthase kinase-3 β regulates its stability[J]. *J Biol Chem*, 1999, 274(16): 10681-10684.
- [12] Luo W, Lin SC. Axin: a master scaffold for multiple signaling pathways[J]. *Neurosignals*, 2004, 13(3): 99-113.
- [13] Lu Z, Hunter T. Wnt-Independent β -catenin transactivation in tumor development[J]. *Cell Cycle*, 2004, 3(5): 571-573.
- [14] Aoki M, Hecht A, Kruse U, et al. Nuclear endpoint of Wnt signaling: neoplastic transformation induced by transactivating lymphoid-enhancing factor 1[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1999, 96(1): 139-144.
- [15] Nelson WJ, Nusse R. Convergence of Wnt, β -catenin, and cadherin pathways[J]. *Science*, 2004, 303(5663): 1483-1487.
- [16] Kikuchi A. Tumor formation by genetic mutations in the components of the Wnt signaling pathway[J]. *Cancer Sci*, 2003, 94(3): 225-229.
- [17] Stoothoff WH, Bailey CD, Mi K, et al. Axin negatively affects tau phosphorylation by glycogen synthase kinase 3 β [J]. *J Neurochem*, 2002, 83(4): 804-913.
- [18] Seidler HB, Utsuyama M, Nagaoka S, et al. Expression level of Wnt signaling components possibly influences the biological behavior of colorectal cancer in different age groups[J]. *Exp Mol Pathol*, 2004, 76(3): 224-33.
- [19] Lustig B, Behrens J. The Wnt signaling pathway and its role in tumor development[J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2003, 129(4): 199-221.
- [20] 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.
- [21] Samowitz WS, Powers MD, Spirio LN, et al. β -catenin mutations are more frequent in small colorectal adenomas than in larger adenomas and invasive carcinomas[J]. *Cancer Res*, 1999, 59(7): 1442-1444.
- [22] Ishizaki Y, Ikeda S, Fujimori M, et al. Immunohistochemical analysis and mutational analyses of β -catenin, Axin family and APC genes in hepatocellular carcinomas[J]. *Int J Oncol*, 2004, 24(5): 1077-1083.
- [23] Garcia-Rostan G, Camp RL, Herrero A, et al. β -catenin dysregulation in thyroid neoplasms: down-regulation, aberrant nuclear expression, and CTNNB1 exon 3 mutations are markers for aggressive tumor phenotypes and poor prognosis[J]. *Am J Pathol*, 2001, 158(3): 987-996.
- [24] Lowy AM, Fenoglio-Preiser C, Kim OJ, et al. Dysregulation of β -catenin expression correlates with tumor differentiation in pancreatic duct adenocarcinoma[J]. *Ann Surg Oncol*, 2003, 10(3): 284-290.
- [25] Miao J, Kusafuka T, Kuroda S, et al. Mutation of β -catenin and its protein accumulation in solid and cystic tumor of the pancreas associated with metastasis[J]. *Int J Mol Med*, 2003, 11(4): 461-464.
- [26] 李玉军, 纪祥瑞. β -连环蛋白、细胞周期蛋白 D1 和 c-myc 表达与胰腺癌发生及生物学行为的关系[J]. *中华病理学杂志*, 2003, 32(3): 238-241.
- Li YJ, Ji XR. Relationship between the expression of β -cat, cyclin D1 and c-myc and the occurrence and biological behavior of pancreatic cancer[J]. *Zhonghua Binglixue Zazhi (Chin J Pathol)*, 2003, 32(3): 238-241.

[收稿日期] 2004-06-01

[修回日期] 2004-07-12

[本文编辑] 曹 静