

• 综 述 •

Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路在乳腺癌发生、转移及耐药形成中的作用\*张晓慧<sup>1</sup>, 赵建华<sup>1△</sup>综述, 唐金海<sup>2</sup>审校

(南京医科大学附属江苏省肿瘤医院: 1. 江苏省临床检验中心; 2. 普外科, 江苏南京 210009)

关键词: 信号通路; 乳腺癌; 耐药

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2015.16.054

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2015)16-2417-03

乳腺癌是全球女性中最常见的恶性肿瘤之一, 随着其发病率及病死率的升高, 已成为女性健康的最大威胁<sup>[1]</sup>。近年来, 信号通路在肿瘤的发生、发展、转移及药物耐药中的作用已受到关注, 其中 Wnt 信号通路在肿瘤尤其是乳腺癌的关系一直是肿瘤学领域研究的焦点。Wnt/ $\beta$ -catenin 是目前研究最多的 Wnt 信号通路之一, 是一类在生物体进化过程中高度保守的信号转导途径, 众多生命活动过程均受其调节控制。它主要参与了细胞的增殖、分化、极化、凋亡与抗凋亡等过程, 该信号通路的异常与细胞无限制恶性生长和癌变密切相关。近年来已有不少国内外学者对 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路在乳腺癌中的作用进行了研究, 现综述如下。

1 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路的概述

Wnt 得名于果蝇的无翅基因与小鼠 Int-1 基因, 1982 年至今发现人类 Wnt 基因家族由 19 个成员组成, 编码具有 22 或 24 个半胱氨酸残基的保守糖蛋白, 其所介导的信号转导通路被称为 Wnt 信号通路。Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路(又称 Wnt 经典通路)是 Wnt 配体通过与胞膜上受体的特异性结合, 触发细胞内的信号转导, 使  $\beta$ -连环蛋白聚集的级联反应过程。当 Wnt 信号存在时, 胞膜外配体 Wnt 蛋白与细胞表面的跨膜受体卷曲蛋白(FZD)家族特异受体和低密度脂蛋白受体相关蛋白 5/6(LRP5/6)辅助性共受体结合, Wnt 信号进入胞内后将信号传递给胞质内松散(DVL)蛋白, 活化的 DVL 蛋白能抑制由结直肠腺瘤性息肉蛋白(APC)、轴蛋白(Axin)、糖原合成酶激酶-3 $\beta$ (GSK-3 $\beta$ )、酪蛋白激酶 1(CK1)等形成的降解复合体中关键成分 GSK-3 $\beta$  的活性, 使效应分子  $\beta$ -catenin 不能被 GSK-3 $\beta$  磷酸化, 从而避免了胞质内泛素蛋白酶体对其的识别和降解, 进而在胞质中逐渐积聚, 当积聚到一定浓度时开始向胞核转移, 而  $\beta$ -catenin 在胞质和胞核内的积累是恶性肿瘤发生发展的重要原因之一<sup>[2]</sup>。研究表明核内  $\beta$ -catenin 集聚可激活 T 细胞因子/淋巴瘤增强因子(TCF/LEF)引起下游靶基因转录, 导致细胞周期和生长调控基因(如 cyclinD1 和 c-myc)、细胞凋亡相关基因(如 Survivin)、多药耐药基因(如 MDR1)及转移相关基因(如 MMP-7)等异常表达<sup>[3-4]</sup>。在正常成熟机体中, Wnt/ $\beta$ -catenin 通路呈关闭状态; 当组成 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路的各成员蛋白、转录因子或基因发生异常时可诱发此通路激活, 触发细胞内的信号转导, 使细胞发生异常增生和分化, 导致肿瘤的形成<sup>[2]</sup>。Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路的失调已被证实与多种肿瘤包括乳腺癌的发生密切相关。

2 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路在乳腺癌中的作用

Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路参与了乳腺发育的各个阶段, 对乳腺早期的生长及发育具有重要意义。大量研究表明在正常

成熟细胞中该通路处于关闭状态, 此通路的异常激活与乳腺癌的发生发展、侵袭转移、药物耐药等过程密切相关。目前已知 Wnt 途径异常激活主要见于: (1) 组成 Wnt 途径的蛋白、基因或转录因子被破坏或突变; (2) 过多 Wnt 信号使整个转导途径异常活跃; (3) 细胞内其他因素通过介导 Wnt 途径来刺激或诱发细胞产生异常反应<sup>[5]</sup>。上述中任意一条的发生, 均可导致 Wnt 通路的异常激活, 最终促发乳腺癌的形成。

2.1 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路与乳腺癌的发生发展 乳腺癌的发生机制非常复杂, 可能与癌基因的激活、抑癌基因的失活、乳腺癌干细胞异常分化、细胞周期调节异常及通路相关蛋白表达水平的改变等有关, 是一个涉及多基因和多信号通路的过程。WISP1 作为一种癌基因可促进人乳腺癌细胞增殖, 同时诱导 MCF-7 乳腺癌细胞株发生上皮间质转化(EMT), 导致乳腺癌细胞过度侵袭转移<sup>[6]</sup>; 研究发现, 乳腺癌细胞株和原发性乳腺癌组织中 Wnt 信号通路抑制物(如 APC、CDH1、SFRP 及 DKK 家族)常发生基因变异(如缺失、甲基化或表达的改变), 使该通路异常活化进而促进乳腺癌的发生<sup>[7-8]</sup>; 而上调通路中抑制基因 DKK-1 的表达可抑制 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号, 进而抑制乳腺癌的形成<sup>[9]</sup>; 由此可见, 相关癌基因的活化和/或抑癌基因的失活均可引起 Wnt/ $\beta$ -catenin 通路活化从而导致乳腺癌的发生。

乳腺癌干细胞是乳腺肿瘤细胞中少数具有自我更新和分化潜能, 并能维持乳腺肿瘤的生长和异质性的细胞<sup>[10]</sup>。Jang 等<sup>[11]</sup>研究发现乳腺癌干细胞中 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号水平要高于实质肿瘤细胞, 通过抑制该信号通路可阻止乳腺癌干细胞和实质肿瘤细胞的生长, 如视黄酸受体应答蛋白 3 (RARRES3) 可通过靶向调控 Wnt 蛋白和 LRP6 的酰化状态, 抑制乳腺癌干细胞特性, 从而抑制肿瘤增殖<sup>[12]</sup>; Zhao 等<sup>[13]</sup>实验发现靶向干扰巢蛋白的表达可抑制 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路, 使细胞周期停滞于 G2/M 期, 促进细胞凋亡, 抑制乳腺癌干细胞侵袭, 减少非黏附性乳腺球群细胞的形成; 证明 Wnt/ $\beta$ -catenin 通路的活化状态与乳腺癌干细胞的异常分化程度呈正相关。

另研究发现  $\beta$ -catenin 的异位表达、Axin 表达的下调及 cyclinD1 和 c-myc 的过表达均与乳腺癌的发生、发展密切相关, 且相互影响<sup>[2]</sup>; Behrens 等<sup>[14]</sup>也指出 c-myc 的上调可阻遏周期蛋白依赖性激酶(CDK)抑制剂 p21CIP 的表达进而刺激乳腺癌细胞 G1 到 S 期的转变, 而 cyclinD1 可直接激活 G1 期的 CDKs, 使乳腺癌细胞无限增殖; 说明 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路中相关蛋白表达的异常或定位的改变, 导致下游靶基因异常激活, 尤其是细胞周期相关基因的表达异常, 促进了乳腺癌的发

\* 基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81272470)。 作者简介: 张晓慧, 女, 研究生, 主要从事乳腺癌分子生物学的研究。 △ 通讯作者, E-mail: jhzhao2838@sina.com。

生、发展。

**2.2 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路与乳腺癌的侵袭转移** 肿瘤的侵袭转移是一个多阶段、多步骤、多因素的序贯过程,是目前临床上导致乳腺癌患者死亡的主要原因。近年来随着 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路的深入研究,发现通路中的部分靶基因与乳腺癌的侵袭转移密切相关,如基质金属蛋白酶(MMP)、血管内皮生长因子(VEGF)、黏附因子(CD44 和 CD146)、上皮钙黏蛋白(E-cadherin)等。MMP、VEGF、CD44 及 CD146 分子可分别通过降解细胞外基质(ECM),促进肿瘤血管的生成,增加肿瘤细胞与宿主细胞和基质的黏附(即异质性黏附),诱导细胞 EMT 转变等参与乳腺癌的侵袭转移。多项研究发现 MMP-9、MMP-2 和/或 VEGF,或 CD44 和 CD146 在乳腺癌组织中均存在高表达现象,它们单独或者协同作用促进了乳腺癌的侵袭转移<sup>[15-17]</sup>。E-cadherin 是钙黏蛋白超家族中的一员,具有维持细胞形态和介导细胞间同质黏附的作用,其表达的下调可诱导上皮细胞发生 EMT,使肿瘤细胞获得转移及侵袭能力。研究发现 E-cadherin 的低表达与乳腺癌的浸润转移密切相关,其可作为肿瘤浸润转移的预测指标,用于筛选有高转移潜在危险的患者<sup>[18]</sup>。Laezza 等<sup>[19]</sup>研究也证实花生四烯酸乙醇胺通过 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路可上调人乳腺癌细胞中的 E-cadherin,进而抑制细胞 EMT 的转变,阻止乳腺癌细胞的转移。以上提示 Wnt/ $\beta$ -catenin 通路的激活可通过上调相关靶基因(如 MMP、VEGF、CD44、CD146)的表达或下调 E-cadherin 的活性,促进乳腺癌的侵袭转移。

此外,BRMS1L 作为一种乳腺癌转移抑制基因,可通过沉默 FZD10 的表达抑制 Wnt/ $\beta$ -catenin 通路的异常激活,从而阻止乳腺癌细胞的侵袭转移<sup>[20]</sup>;NDRG1 是一个新的 Wnt 通路负调控因子,可分别与 LRP6 和  $\beta$ -catenin 的直接靶基因 ATF3 相互作用并使后者失活,通过抑制 Wnt 信号通路的活性和下调 EMT 相关因子(Slug 和 Twist)的表达,阻止乳腺癌的转移<sup>[21]</sup>。目前研究发现已有多个肿瘤抑制基因可通过抑制 Wnt/ $\beta$ -catenin 通路的活性阻止乳腺癌的侵袭转移,因此为乳腺癌的转移治疗增添了多个新的靶点。

**2.3 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路与乳腺癌的药物耐药** 据报道,约 90% 的转移性乳腺癌患者化疗失败归因于药物耐药,尤其是多药耐药,因此抑制和逆转药物耐药是乳腺癌药物治疗成功的关键。多药耐药形成的机制是多元而复杂的,其中最经典和重要的是由多药耐药基因 1(MDR1 或 ABCB1)编码的 P-糖蛋白(MDR1/P-gp),其通过水解 ATP 获得能量使抗肿瘤药物从肿瘤细胞中泵出,胞内药物浓度下降导致肿瘤细胞对药物的敏感性降低。MDR1(ABCB1)是  $\beta$ -catenin/TCF/LEF 转录复合物的直接靶基因,通过抑制 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路可下调 MDR1 的表达。研究发现,FZD1 在 MDR1/P-gp 高表达的乳腺癌阿霉素耐药细胞(MCF-7/Adr)中的表达水平显著高于其亲本敏感细胞株(MCF-7、MDA-MB-231),将两种敏感细胞给予不同浓度阿霉素诱导 72 h 后,FZD1 及 MDR1 mRNA 水平均明显升高,提示 FZD1 和 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路参与乳腺癌细胞耐药的形<sup>[22]</sup>,Zhang 等<sup>[23]</sup>进一步实验证明靶向干扰 FZD1 后使细胞浆及细胞核中  $\beta$ -catenin 蛋白表达降低,进而可抑制 MDR1 的表达,改善细胞的耐药性;此外,Wnt 5A 也被报道通过调节 ABCB1 和  $\beta$ -catenin 相关基因改变乳腺癌耐药株 MCF-7/Adr 对阿霉素的敏感性。说明 Wnt 途径相关蛋白可通过调节 MDR1 的表达介导乳腺癌细胞药物耐药过程。

另外,Loh 等<sup>[24]</sup>研究发现,乳腺癌他莫西芬耐药细胞株(MCF-7/TAM)中 Wnt 信号通路活性明显高于亲本细胞株,

且 EMT 相关转录因子(Vimentin 和 Twist)的活性增加,提示 Wnt/ $\beta$ -catenin 途径参与乳腺癌细胞药物耐药,癌细胞 EMT 样改变促进了 MCF-7/TAM 对 TAM 的耐药性;HER2 过表达的乳腺癌耐药细胞株 SKBR3/100-8 和 BT474/100-2 中,高表达的 Wnt3 可通过激活 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路上调核内  $\beta$ -catenin 蛋白的表达,进而促进乳腺癌细胞 EMT 样转变和 EGFR 的转录活性,该研究结果可作为 HER2 过表达乳腺癌细胞对曲妥珠单抗产生耐药的重要机制之一<sup>[25]</sup>。另有研究报道,舒林酸的衍生物 OXT-328(PS)作用于 MDA-MB-231 细胞株后能下调乳腺癌干细胞相关基因(Sox-2、nestin、ABCG2 和 c-myc)的表达,提示 OXT-328 能通过靶向作用抑制 Wnt/ $\beta$ -catenin 通路选择性地杀伤乳腺癌干细胞,降低乳腺癌对药物的耐药性<sup>[26]</sup>。转录因子 Sox-2 的异常表达也可通过激活 Wnt/ $\beta$ -catenin 途径使乳腺癌干细胞和祖细胞对 TAM 的耐药性增加<sup>[27]</sup>。以上结果表明,多种因素引起的 Wnt/ $\beta$ -catenin 途径的激活或抑制可通过乳腺癌 EMT 样改变或乳腺癌干细胞的形成介导癌细胞对药物耐药的过程。

### 3 总 结

Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路不仅参与机体的生长发育、细胞增殖、黏附和凋亡等多方面的生理过程,而且在乳腺癌的发生发展、侵袭转移、多药耐药中发挥重要作用。近年对该通路的研究发现,Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路的异常激活是一个多因素、多阶段的过程,涉及通路中各信号分子及其抑制物的相互影响和交互作用,而且其在肿瘤各阶段中的作用也是复杂多变的。因而深入研究 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路可对乳腺癌发生机制和侵袭转移过程的全面解析以及分子靶向治疗中靶点选择和药物开发具有重要意义。

### 参考文献

- [1] Tao Z, Shi A, Lu C, et al. Breast Cancer: Epidemiology and etiology[J]. Cell Biochem Biophys, 2014, 14(6): 459-460.
- [2] He Y, Liu Z, Qiao C, et al. Expression and significance of Wnt signaling components and their target genes in breast carcinoma[J]. Mol Med Rep, 2014, 9(1): 137-143.
- [3] Gedaly R, Galuppo R, Daily MF, et al. Targeting the Wnt/beta-catenin signaling pathway in liver cancer stem cells and hepatocellular carcinoma cell lines with FH535[J]. PLoS One, 2014, 9(6): 99272.
- [4] Wang B, Zou Q, Sun M, et al. Reversion of trichostatin A resistance via inhibition of the Wnt signaling pathway in human pancreatic cancer cells[J]. Oncol Rep, 2014, 32(5): 2015-2022.
- [5] 李春艳, 高宁, 侯颖春. 经典 Wnt 信号通路与人类肿瘤[J]. 中国生物化学与分子生物学报, 2014, 30(5): 447-452.
- [6] Chiang KC, Yeh CN, Chung LC, et al. WNT-1 inducible signaling pathway protein-1 enhances growth and tumorigenesis in human breast cancer[J]. Sci Rep, 2015, 5: 8686.
- [7] Mukherjee N, Bhattacharya N, Alam N, et al. Subtype-specific alterations of the Wnt signaling pathway in breast cancer: clinical and prognostic significance[J]. Cancer Sci, 2012, 103(2): 210-220.
- [8] Suzuki H, Toyota M, Carraway H, et al. Frequent epigenetic inactivation of Wnt antagonist genes in breast cancer[J]. Br J Cancer, 2008, 98(6): 1147-1156.
- [9] Kim HY, Park JH, Won HY, et al. CBX7 inhibits breast tumorigenicity through DKK-1-mediated suppression of the Wnt/beta-catenin pathway[J]. FASEB J, 2015, 29(1): 300-313.
- [10] Czerwinska, PKaminska B. Regulation of breast cancer stem cell features[J]. Contemp Oncol (Pozn), 2015, 19(1): 7-15.

[11] Jang GB, Hong IS, Kim RJ, et al. Wnt/beta-catenin small molecule inhibitor CWP232228 preferentially inhibits the growth of breast cancer stem-like cells[J]. *Cancer Res*, 2015, 75(8): 1691-1702.

[12] Hsu TH, Jiang SY, Chan WL, et al. Involvement of RARRES3 in the regulation of Wnt proteins acylation and signaling activities in human breast cancer cells[J]. *Cell Death Differ*, 2014, 22(5): 801-814.

[13] Zhao Z, Lu P, Zhang H, et al. Nestin positively regulates the Wnt/beta-catenin pathway and the proliferation, survival and invasiveness of breast cancer stem cells[J]. *Breast Cancer Res*, 2014, 16(4): 408.

[14] Behrens J, Lustig B. The Wnt connection to tumorigenesis[J]. *Int J Dev Biol*, 2004, 48(5/6): 477-487.

[15] Wu QW, Yang QM, Huang YF, et al. Expression and clinical significance of matrix metalloproteinase-9 in lymphatic invasiveness and metastasis of breast cancer[J]. *PLoS One*, 2014, 9(5): 97804.

[16] 张君微, 张毅, 穆长征. MMP-2、MMP-9 和 VEGF 与乳腺癌侵袭转移关系的研究[J]. *中国医师杂志*, 2010, 12(11): 1490-1493.

[17] Gupta I, Abdraboh ME, Hollenbach AD, et al. The interplay between the cell adhesion molecules Cd44 and Cd146 in breast cancer metastasis[J]. *Annals of Oncology*, 2014, 25(1): 23-24.

[18] 马晓艳, 张蕾, 高冬玲, et al. E-cadherin 在乳腺组织中的表达及临床意义[J]. *河南职工医学院学报*, 2008, 21(3): 221-223.

[19] Laezza C, D'Alessandro A, Paladino S, et al. Anandamide inhibits the Wnt/beta-catenin signalling pathway in human breast cancer MDA MB 231 cells[J]. *Eur J Cancer*, 2012, 48(16): 3112-3122.

[20] Gong C, Qu S, Lv XB, et al. BRMS1L suppresses breast cancer metastasis by inducing epigenetic silence of FZD10[J]. *Nat Com-*

*mun*, 2014, 5(1): 5406.

[21] Liu W, Xing F, Iizumi-Gairani M, et al. N-myc downstream regulated gene 1 modulates Wnt-beta-catenin signalling and pleiotropically suppresses metastasis[J]. *EMBO Mol Med*, 2012, 4(2): 93-108.

[22] Zhang H, Zhang X, Wu X, et al. Interference of Frizzled 1 (FZD1) reverses multidrug resistance in breast cancer cells through the Wnt/beta-catenin pathway[J]. *Cancer Lett*, 2012, 323(1): 106-113.

[23] Hung TH, Hsu SC, Cheng CY, et al. Wnt5A regulates ABCB1 expression in multidrug-resistant cancer cells through activation of the non-canonical PKA/beta-catenin pathway [J]. *Oncotarget*, 2014, 5(23): 12273-12290.

[24] Loh YN, Hedditch EL, Baker LA, et al. The Wnt signalling pathway is upregulated in an in vitro model of acquired tamoxifen resistant breast cancer[J]. *BMC Cancer*, 2013, 13(2): 174.

[25] Wu Y, Ginther C, Kim J, et al. Expression of Wnt3 activates Wnt/beta-catenin pathway and promotes EMT-like phenotype in trastuzumab-resistant HER2-overexpressing breast cancer cells[J]. *Mol Cancer Res*, 2012, 10(12): 1597-1606.

[26] Gangopadhyay S, Nandy A, Hor P, et al. Breast cancer stem cells: a novel therapeutic target[J]. *Clin Breast Cancer*, 2013, 13(1): 7-15.

[27] Piva M, Domenici G, Iriondo O, et al. Sox2 promotes tamoxifen resistance in breast cancer cells[J]. *EMBO Mol Med*, 2014, 6(1): 66-79.

(收稿日期: 2015-03-06)

• 综 述 •

## 血清游离 DNA、微小 RNA 在胃癌诊断中的研究进展

张 振 综述, 潘 晴<sup>△</sup> 审校

(淮安市淮阴医院检验科, 江苏淮安 223300)

**关键词:** 胃癌; 血清游离 DNA; 微小 RNA; 肿瘤标志物

**DOI:** 10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2015. 16. 055

**文献标识码:** A

**文章编号:** 1673-4130(2015)16-2419-03

胃癌是消化系统常见的恶性肿瘤, 病死率高, 严重危害着人类的健康。胃癌起病隐匿, 难以早期发现, 且胃癌病程的早晚与胃癌患者的治疗及预后密切相关, 胃癌早期患者 5 年生存率大约为 90%, 而胃癌晚期患者疗效较差, 5 年生存率不足 20%<sup>[1]</sup>。肿瘤标志物(TM)是指肿瘤发生、发展过程中释放的可预示肿瘤存在或区分肿瘤和正常组织的一类物质, 存在于体液、组织或细胞中。临床上常将 TM 分为两大类, 分别为肿瘤基因表型标志物和肿瘤基因标志物。其中肿瘤基因表型标志物包括抗原类 TM(如 AFP、CEA)、糖类抗原类 TM(如 CA-199、CA-724)、激素和异位激素类 TM(如 ER、-HCG)、酶和同工酶类 TM(如 GT、NSE)、肿瘤相关病毒类 TM(如 HBV、HPV)、蛋白及多肽类 TM(如 BJP、TPA); 肿瘤基因标志物包括癌基因、抑癌基因及其产物类 TM(如 EGFR、p53)<sup>[2]</sup>。与胃癌相关的传统 TM 为 CEA、CA-724、CA-199 等, 但是传统 TM 在胃癌中的敏感性和特异性较低, 极大制约了其临床应用价值<sup>[3]</sup>。

血清游离 DNA (cf-DNA)、微小 RNA (miRNA) 是外周血循环核酸的主要组成部分, 是目前作为新型肿瘤标志物的研究热点。cf-DNA 是一种自由细胞的胞外 DNA, 可由肝脏和肾脏代谢, 生成与清除相对恒定, 能够相对稳定地存在于外周血循环中。目前研究表明, cf-DNA 在肿瘤、自身免疫性疾病、产前诊断等方面有较好的临床应用价值。miRNA 是一类非编码单链小分子 RNA, 具有高度保守性。miRNA 能够稳定的存在于外周血中, 通常以蛋白复合形式存在, 很难被 RNA 酶降解。miRNA 与肿瘤密切相关, 正常组织和肿瘤组织的 miRNA 表达水平相比有显著性差异, 而且具有一定的组织特异性。在肿瘤发生的早期, 有一定数量的 cf-DNA 和 miRNA 释放入血, 并且水平远高于健康者, 是一种特异性的核酸改变<sup>[4]</sup>。cf-DNA 和 miRNA 均为无创检测技术, 对于肿瘤的早期临床诊断、病程病情的判断和预后有很积极的指导作用, 是很有发展意义的新型肿瘤分子标志物。本文将对 cf-DNA、miRNA 在胃癌诊断中的研究进展作一综述。