

经典 Wnt/ β -catenin 信号通路在前列腺癌治疗中的新靶点

马 强¹, 刘 谦², 宋娜玲¹

(1. 北京协和医学院中国医学科学院放射医学研究所, 天津市放射医学与分子核医学重点实验室, 天津 300192; 2. 天津市第一中心医院, 天津 300192)

摘要: 前列腺癌的发生与发展经历一系列复杂的过程, 其特点是病程长且症状隐匿, 发现后多处于晚期, 一旦发展为雄激素非依赖性前列腺癌, 往往给治疗带来难度。细胞内信号通路的异常是肿瘤发生发展的重要机制之一, 其中经典 Wnt 信号通路在前列腺癌中具有重要作用。文章主要关注该信号通路中相关分子的新机制, 以期能为抗肿瘤药物研发提供新的靶点。

关键词: 前列腺肿瘤; Wnt 信号通路; 靶点

中图分类号: R73-3; R737.25 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-170X(2014)07-0582-05

doi: 10.11735/j.issn.1671-170X.2014.07.B012

The New Therapeutic Targets of Canonical Wnt/ β -catenin Signaling Pathway in Prostate Cancer

MA Qiang¹, LIU Qian², Song Na-ling¹

(1. Institute of Radiation Medicine, Peking Union Medical College & Chinese Academy of Medical Science, Tianjin Key Laboratory of Radiation Medicine and Molecular Nuclear Medicine, Tianjin 300192, China; 2. Tianjin First Hospital, Tianjin 300192, China)

Abstract: The development and progression of prostate cancer is a complex process, with characteristics of long course and latent symptoms. Patients are usually diagnosed at an advanced stage. Developing into androgen-independent prostate cancer even brings more difficulty to the treatment of patients. Abnormalities in the intracellular signaling pathway are important mechanisms for the development and progression of prostate cancer, and the canonical Wnt pathway plays an important role in the prostate cancer. This paper mainly focuses on the new mechanisms of relevant molecules in this signaling pathway, expecting to provide new targets for the research and development of anti-tumor drugs.

Subject words: prostate neoplasms; Wnt signaling pathway; target

前列腺癌作为常见的男性泌尿生殖系统肿瘤, 其发病率已居于美国所有肿瘤中的第 2 位。虽然我国前列腺癌发病率低于欧美发达国家, 但随着人口老龄化, 生活方式改变, 以及前列腺癌病程长、症状隐匿、缺乏有效的早期诊断和治疗方法, 近年来我国前列腺癌发病率已呈逐年上升趋势^[1-3]。细胞内信号通路可调控细胞增殖、分化、代谢及死亡在内的多种生命活动, 细胞信号通路的异常改变又与肿瘤的发生发展密切相关。经典的 Wnt 信号通路异常激活与前列腺癌关系密切, 决定着肿瘤的转移程度, 以及患

者的生存期和预后。异常激活的 Wnt 信号通路还和细胞内的多种信号通路存在对话现象, 抑制 Wnt 信号通路激活可能会抑制前列腺癌干细胞的自我更新并缓解肿瘤的恶性表型^[4-7]。通过了解与前列腺癌相关的信号通路, 可发现更多的前列腺癌治疗靶点, 为抗前列腺癌药物开发提供基础。本文重点总结了经典 Wnt 信号通路中与前列腺癌相关的新治疗靶点, 包括 Wnt 信号通路下游靶基因谷胱甘肽过氧化物酶 2, Wnt 信号通路抑制剂驱动蛋白家族蛋白 3 和 Dickkopf-1, 转录因子 SPY-box2, miR-320, Mesd 蛋白及小分子抑制剂水分蓊宾。

基金项目: 中国医学科学院放射医学研究所探索基金(ST1432)

通讯作者: 宋娜玲, 研究员, 硕士生导师, 学士; 北京协和医学院中国医学科学院放射医学研究所, 天津市放射医学与分子核医学重点实验室, 天津市南开区白堤路 238 号(300192); E-mail: nalingsong@sina.com

收稿日期: 2014-03-25; **修回日期:** 2014-04-22

1 Wnt 信号通路概述

Wnt 信号通路包括经典的 Wnt/ β -catenin 途径

和非经典途径。Wnt 家族包括 19 个成员,其配体家族有 10 个,共受体有 LRP5 和 6,Ryk 和 Ror2 经典的 Wnt 信号途径以 Wnt 配体与跨膜受体卷曲蛋白(Frizzled)和辅助性受体低密度脂蛋白受体相关蛋白 5/6(LRP-5/6)2 种受体的结合为起始点,最终导致 β -catenin 在细胞质中积聚入核后与核内转录因子 T 细胞因子(TCF)/淋巴样增强因子(LEF)结合形成复合体,调控靶基因的表达。Wnt 信号通路对于细胞命运具有重要的决定作用,可以调节细胞增殖、分化以及干细胞的更新^[8]。

2 前列腺癌治疗的潜在靶标

2.1 谷胱甘肽过氧化物酶 2

谷胱甘肽过氧化物酶 2(GPX2)是广泛存在于体内的一种过氧化物分解酶,在人结肠癌及乳腺癌等肿瘤中高表达,具有促进肿瘤生长的作用^[9,10],最新发现人和鼠去势难治性前列腺癌(CRPC)细胞中 GPX2 同样过表达,并促进前列腺癌细胞的恶性增殖^[11]。Naiki 等^[11]利用敲降实验抑制 GPX2 表达后,可明显抑制前列腺癌细胞增殖使其停滞在 G₂/M 期;同时,抑制 GPX2 表达还可提高活性氧水平。未经治疗的前列腺癌患者活检标本中 GPX2 表达水平明显高于经内分泌治疗的患者;相比于不表达 GPX2 的患者,高表达 GPX2 患者的无复发生存率和总生存率显著降低。前列腺癌发生发展与 Wnt 信号通路异常激活有关,Wnt1 和 β -catenin 在前列腺癌细胞中高表达并参与肿瘤的发展及转移,是前列腺癌进展的重要标志^[12,13]。体内外实验证实,异常激活的 Wnt 信号通路可增强下游分子 GPX2 表达,GPX2 表达后可与下游分子硒蛋白基因 *TrxR2* 和 *TrxR3* 发生相互作用,共同参与肿瘤发生、细胞增殖及凋亡等环节,但其具体机制尚不清楚^[9]。GPX2 在今后有望成为去势难治性前列腺癌治疗的新靶标。

2.2 驱动蛋白家族蛋白 3

驱动蛋白家族蛋白 3(KIF3a)在前列腺癌细胞株和原发性前列腺癌活检标本中显著高表达,其表达水平与肿瘤临床分期及转移程度呈正相关。KIF3a 过表达可以促进前列腺细胞的生长。利用敲降法抑制其表达后,前列腺癌细胞增殖、锚定独立生长及侵袭能力均受到明显抑制。正常细胞中 KIF3a 通过抑

制 CK1 依赖的 DVL2 磷酸化来抑制 Wnt 信号通路异常激活^[14],而在前列腺癌中,高表达的 KIF3a 增强了 CK1 依赖的 DVL2 磷酸化进而激活 β -catenin,引发 Wnt 信号通路中靶基因的转录,即通过 KIF3a-DVL2- β -catenin 级联反应激活 Wnt 信号通路。研究发现,抑制患者体内 KIF3a 活化可延长生存期^[15]。KIF3a 是 Wnt 信号通路中又一个新治疗靶点。

2.3 SPY-box 2

转录因子 SPY-box 2(SOX2)可调控干细胞的自我更新及多能性,在肿瘤细胞中具有维持干细胞样表型的作用。SOX2 已涉及肺癌、乳腺癌、卵巢癌在内的等多种肿瘤的发生发展及转移^[16]。

研究发现,SOX2 同样影响前列腺癌的发生发展并与 Wnt 信号通路异常激活关系密切^[17]。肿瘤转移的重要环节是上皮细胞向间质细胞转化(EMT),早期报道 SOX2 和 Wnt/ β -catenin 信号通路恰好在这一过程中起关键作用。最新研究进一步阐明了 Wnt/ β -catenin 信号通路在 SOX2 调控下参与 EMT 过程的新机制。首先,前列腺癌细胞中 SOX2 可激活 β -catenin,通过上调 β -catenin 表达或激活上游信号分子进而激活 Wnt 信号通路;其次,正常细胞中 SOX2 及 Wnt 通路下游分子 DVL1 和 DVL3 低表达,Wnt 信号通路抑制剂 DKK3 高表达,以保证信号不被异常激活。然而,在前列腺癌细胞中 Wnt 信号通路抑制剂 DKK3 表达量很低,该信号通路下游分子 DVL1 和 DVL3 却异常高表达,进而证实 SOX2 通过改变 DKK3 及 DVL1 和 DVL3 表达来调控 Wnt/ β -catenin 信号通路进而影响 EMT 进程,所以 SOX2 在前列腺癌的转移过程中具有重要作用^[17]。

SOX2 是干细胞的重要调节因子,人前列腺癌 DU145 干细胞中 SOX2 mRNA 和蛋白质表达水平显著升高。SOX2 异常高表达可增强前列腺癌干细胞的自我更新能力和侵袭性;SOX2 低表达会降低其自我更新能力和锚定非依赖性生长能力。SOX2 既影响 Wnt 信号通路又受多种分子调控,如 EGFR 信号激活后,EGF 会促使 SOX2 表达进而增强 DU145 自我更新能力;小分子抑制剂(AG1479)抑制 EGFR 信号通路后 SOX2 表达水平下降,同时前列腺癌干细胞的自我更新能力减弱^[18];又如食管癌中 SOX2 作为 miR-625 的靶基因,miR-625 可调控 SOX2 表达进而影响肿瘤进展^[16]。SOX2 过表达既可通过调

控 Wnt/ β -catenin 信号通路来影响前列腺癌 EMT 进程,又可促进前列腺癌干细胞的自我更新,抑制 SOX2 表达将为前列腺癌治疗提供新的策略。

2.4 miR-320

前列腺癌中多种 miRNA 都表现出明显的失调,其失调后对前列腺癌的影响,以及靶向治疗后能否改善其恶性表型尚不清楚。miR-320 具有抗肿瘤血管生成的作用,在口腔癌患者细胞系和组织中低表达。*NRPI* 是血管生成的一个重要调节器,是 miR-320 的靶基因。*NRPI* mRNA 的 3'-非编码区含有多个 miR-320 结合位点,它的表达受到 miR-320 的调控,给予 miR-320 拮抗剂处理后,会抑制肿瘤细胞的迁移、黏附和血管内皮细胞的生成。miR-320 的表达受到缺氧诱导因子 1- α 调节,miR-320 靶向 *NRPI* 可以调节血管内皮细胞功能,具有抗血管生成和抗癌功能^[19]。最新发现 miR-320 在前列腺癌中表达水平显著降低并与前列腺癌进展密切相关。体内外实验发现 miR-320 过表达后可降低前列腺癌发生率。通过敲降实验抑制 miR-320 表达,可明显增强前列腺癌干细胞特性,增加耐药和致瘤能力;反之,miR-320 过表达可明显抑制前列腺癌干细胞特性。前列腺癌细胞过表达 miR-320 后,Wnt/ β -catenin 通路下游靶基因和癌干细胞表面标志表达量明显下降,原因是 miR-320 通过靶向 β -catenin mRNA 3'-非编码区抑制了 β -catenin 的表达。在临床肿瘤标本和前列腺癌细胞亚群中常发现 miR-320 低表达,而 β -catenin 过表达,miR-320 正是通过激活 Wnt/ β -catenin 信号通路促进了前列腺癌发展,miR-320 同样可作为前列腺癌治疗的潜在靶标^[20]。

2.5 Mesd 蛋白及其 C-端肽

Mesd 是低密度脂蛋白受体相关蛋白 5 (LRP5) 和 6 (LRP6) 的专一分子伴侣,Mesd 连接到细胞表面成熟的 LRP6 上阻止 Wnt 信号通路拮抗剂 Dickkopf-1 (DKK1) 与 LRP6 的连接。Mesd 和 LRP5 也有很高的亲和力,是 LRP5 和 LRP6 配体的拮抗剂。Mesd 不仅能阻碍拮抗剂 DKK1 与 LRP5 和 LRP6 的连接,还能抑制 Wnt3A 和 Rspodin1 诱导的 Wnt/ β -catenin 激活。Mesd 还能够抑制 LRP6 磷酸化和 PC-3 细胞的增殖^[21]。总之,LRP5/6 作为经典 Wnt 信号通路中的受体,可被重组 Mesd 蛋白所拮抗。最新研究发现 Mesd 绑定到细胞表面成熟的 LRP5 和 LRP6

上这一过程需要其 C-端区参与。Mesd 蛋白 C-端区上有两个 LRP5/6 连接位点并带有多个正电荷残基,其 C-端肽和完整 Mesd 蛋白均可抑制 Wnt3A 和 Rspodin1 诱导的 Wnt/ β -catenin 信号通路激活。在表达 LRP5 和 LRP6 的前列腺癌 PC-3 细胞中,C-端肽可以抑制 Wnt/ β -catenin 信号通路激活,同时可抑制前列腺癌细胞的增殖。研究还发现 C-端肽的表达可明显增强化疗药物阿霉素对 PC-3 细胞的毒性。Mesd C-端肽作为与 LRP5/6 连接的主要结构域,在前列腺癌治疗中具有重要价值^[22]。

2.6 水飞蓟宾

水飞蓟宾是从水飞蓟种子提取分离出的一种天然化合物,一直以来被用作保肝药,大量体内外研究已经证实其对肿瘤的预防和治疗具有一定作用^[23,24]。经典 Wnt 信号通路中,配体需要与两个受体结合,即低密度脂蛋白受体相关蛋白 5 和 6 (LRP5/6)。LRP-6 是 Wnt 信号通路中一个基本的共受体,是肿瘤治疗的一个非常有潜力的靶标。在前列腺癌 PC-3 细胞和 DU145 细胞中,水飞蓟宾能够抑制内源性 LRP6 表达和磷酸化并抑制前列腺癌细胞中 Wnt/ β -catenin 信号通路激活。水飞蓟宾通过抑制 LRP6 启动子活性,降低前列腺癌细胞中 *LRP6* mRNA 表达水平。水飞蓟宾是 Wnt/ β -catenin 信号通路中新的小分子抑制剂,其抗癌活性与 Wnt/LRP6 信号抑制程度有关^[25]。

2.7 Dickkopf-1

多数肿瘤到晚期都会发展为骨转移,前列腺癌中 Wnt 和 Wnt 抑制剂的拮抗作用参与了前列腺癌的骨转移。Wnt 及其抑制剂的拮抗作用可促进骨的形成并维持成年人骨骼的健康和平衡,然而在前列腺癌中这种平衡被扰乱,最终促进了前列腺癌的骨转移^[26]。

人前列腺癌细胞株可表达多种 *Wnts* mRNA,包括 *Wnts3A*, *7b* 和 *10b*,它们可介导骨细胞的分化和矿化并具有成骨作用^[26]。Wnt 抑制剂 Dickkopf-1 (DKK-1) 作为一种分泌型糖蛋白,在前列腺癌所有转移灶中以骨转移中表达最丰富,其高表达会缩短患者的总生存期。DKK-1 在前列腺癌早期高表达,表达量随病程进展逐步降低,特别是晚期骨转移患者中 DKK-1 水平最低。DKK-1 表达量的变化结合 Wnt 信号通路的成骨作用,可以推测 DKK-1 具有溶骨作

用^[27]。DKK-1 可以负向调控骨的形成,同时作为前列腺癌骨转移中溶骨到成骨的分子开关^[28]。最新研究发现,DKK-1 通过抑制 Wnt 信号激活继而抑制 β -catenin 靶基因骨保护素的表达,DKK-1 同时刺激破骨细胞生成起到溶骨作用,DKK-1 可以被认为是调节骨和关节重建的调节器。DKK-1 在前列腺癌中过表达后不仅改变了成骨细胞表型,同时还提高了骨转移发生率。在溶骨性前列腺癌细胞系中,敲降 *DKK-1* 基因可延缓软组织和骨病变的发展^[29]。Wnt 和抑制剂 DKK-1 平衡被打破后,会加速溶骨进程为肿瘤的生长创造条件,由于骨是缺乏血管、具有空间限制无弹性的矿化结构,这就给治疗带来难度^[26]。基于 DKK-1 在 Wnt 信号通路中的特性,两种 DKK-1 抗体 BHQ-880 和 DKN01 已经进入临床试验^[29]。了解 DKK-1 在 Wnt 信号通路中的骨转移促进作用,将为前列腺癌治疗提供新的策略。

3 展 望

Wnt 作为前列腺癌发生发展过程中一个重要的信号通路,参与肿瘤增殖、侵袭、转移等多个环节,同时 Wnt 信号通路本身又受到多种因素的调控。基于 Wnt 信号通路的前列腺癌治疗研究,首先要寻找新的信号通路抑制剂并从该信号通路中筛选出具有核心调控作用的靶点;其次,验证是否还有其他基因对该信号通路的激活有重要调控作用。本文综述的几种新靶点均是良好的潜在治疗靶点,部分已经进入临床试验,部分尚属于研究阶段,但其远期效应尚不明确。今后前列腺癌药物研发过程中既要侧重 Wnt 信号通路中的新靶点新机制,更要关注 Wnt 信号通路本身及与其他信号通路的关系,以便发现更新更好的治疗靶点,使前列腺癌患者能够从中受益。

参考文献:

- [1] Tsujimura A. Role of androgen in the elderly. Problems of androgen deprivation therapy [J]. Clin Calcium, 2013, 23 (8): 1185-1190.
- [2] Wang Y, Zhang YX, Kong CZ, et al. Loss of p53 facilitates invasion and metastasis of prostate cancer cells [J]. Mol Cell Biochem, 2013, 384(1-2): 121-127.
- [3] Wen S, Niu Y, Lee SO, et al. Androgen receptor (AR) positive vs negative roles in prostate cancer cell deaths including apoptosis, anoikis, entosis, necrosis and autophagic cell death[J]. Cancer Treat Rev, 2014, 40(1): 31-40.
- [4] Kharashvili G, Simkova D, Makharoblidze E, et al. Wnt signaling in prostate development and carcinogenesis[J]. Biomed Pap, 2011, 155(1): 11-18.
- [5] Sizemore S, Cicek M, Sizemore N, et al. Podocalyxin increases the aggressive phenotype of breast and prostate cancer cells in vitro through its interaction with ezrin[J]. Cancer Res, 2007, 67(13): 6183-6191.
- [6] Yardy GW, Brewster SF. Wnt signalling and prostate cancer[J]. Prostate Cancer Prastatic Dis, 2005, 8(2): 119-126.
- [7] Jiang YG, Luo Y, He DL, et al. Role of Wnt/ β -catenin signaling pathway in epithelial-mesenchymal transition of human prostate cancer induced by hypoxia-inducible factor-1 α [J]. Int J Urol, 2007, 14(11): 1034-1039.
- [8] Wang K, Li JY. Advance of Wnt/ β -catenin pathway in development and disease [J]. Medical Innovation of China, 2012, 9(11): 160-161. [王凯, 李建远. Wnt/ β -catenin 信号通路与发育和疾病研究进展[J]. 中国医学创新, 2012, 9 (11): 160-161.]
- [9] Kipp AP, Muller MF, Goken EM, et al. The selenoproteins GPx2, TrxR2 and TrxR3 are regulated by Wnt signalling in the intestinal epithelium [J]. Biochim Biophys Acta, 2012, 1820(10): 1588-1596.
- [10] Naiki-Ito A, Asamoto M, Hokaiwado N, et al. Gpx2 is an overexpressed gene in rat breast cancers induced by three different chemical carcinogens [J]. Cancer Res, 2007, 67 (23): 11353-11358.
- [11] Naiki T, Naiki-Ito A, Asamoto M, et al. GPX2 overexpression is involved in cell proliferation and prognosis of castration resistant prostate cancer [J]. Carcinogenesis, 2014 Mar 20. [Epub ahead of print]
- [12] Chen G, Shukeir N, Potti A, et al. Up-regulation of Wnt-1 and β -catenin production in patients with advanced metastatic prostate carcinoma [J]. Cancer, 2004, 101 (6): 1345-1356.
- [13] Kypta RM, Waxman J. Wnt/beta-catenin signalling in prostate cancer [J]. Nat Rev Urol, 2012 Jun 19. doi: 10.1038/nrurol.2012.116. [Epub ahead of print]
- [14] Corbit KC, Shyer AE, Dowdle WE, et al. Kif3a constrains beta-catenin-dependent Wnt signalling through dual ciliary and non-ciliary mechanisms [J]. Nat Cell Biol, 2008, 10(1): 70-76.
- [15] Liu Z, Rebowe RE, Wang Z, et al. KIF3a promotes proliferation and invasion via wnt signaling in advanced prostate cancer[J]. Mol Cancer Res, 2014, 12(4): 491-503.

- [16] Wang Z, Qiao Q, Chen M, et al. miR-625 down-regulation promotes proliferation and invasion in esophageal cancer by targeting Sox2[J]. FEBS Lett, 2014, 588(6):915-921.
- [17] Li X, Xu Y, Chen Y, et al. SOX2 promotes tumor metastasis by stimulating epithelial-to-mesenchymal transition via regulation of WNT/beta-catenin signal network [J]. Cancer Lett, 2013, 336(2):379-389.
- [18] Rybak AP, Tang D. SOX2 plays a critical role in EGFR-mediated self-renewal of human prostate cancer stem-like cells[J]. Cell Signal, 2013, 25(12):2734-2742.
- [19] Wu YY, Chen YL, Jao YC, et al. miR-320 regulates tumor angiogenesis driven by vascular endothelial cells in oral cancer by silencing neuropilin 1[J]. Angiogenesis, 2014, 17(1):247-260.
- [20] Hsieh IS, Chang KC, Tsai YT, et al. MicroRNA-320 suppresses the stem cell-like characteristics of prostate cancer cells by downregulating the Wnt/beta-catenin signaling pathway[J]. Carcinogenesis, 2013, 34(3):530-538.
- [21] Lu W, Liu CC, Thottassery JV, et al. Mesd is a universal inhibitor of Wnt coreceptors LRP5 and LRP6 and blocks Wnt/beta-catenin signaling in cancer cells [J]. Biochemistry, 2010, 49(22):4635-4643.
- [22] Lin C, Lu W, Zhang W, et al. The C-terminal region mesd peptide mimics full-length Mesd and acts as an inhibitor of wnt/b-catenin signaling in cancer Cells [J]. PloS One, 2013, 8(2):1-11.
- [23] Gandara L, Sandes E, Di Venosa G, et al. The natural flavonoid silybin improves the response to photodynamic therapy of bladder cancer cells [J]. J Photoch Photobio B, 2014, 133C:55-64.
- [24] Socha L, Karpinska E, Jurczyk K, et al. Rescue therapy with intravenous silibinin in liver transplant recipients with recurrent HCV hepatitis—two case reports [J]. Ann Transplant, 2014, 19:161-164.
- [25] Lu W, Lin C, King TD, et al. Silibinin inhibits Wnt/beta-catenin signaling by suppressing Wnt co-receptor LRP6 expression in human prostate and breast cancer cells[J]. Cell Signal, 2012, 24(12):2291-2296.
- [26] Sottnik JL, Hall CL, Zhang J, et al. Wnt and Wnt inhibitors in bone metastasis[J]. Bonekey Rep, 2012, 1:101.
- [27] Hall CL, Daignault SD, Shah RB, et al. Dickkopf-1 expression increases early in prostate cancer development and decreases during progression from primary tumor to metastasis[J]. Prostate, 2008, 68(13):1396-1404.
- [28] Menezes ME, Devine DJ, Shevde LA, et al. Dickkopf1: a tumor suppressor or metastasis promoter [J]. Int J Cancer, 2012, 130(7):1477-1483.
- [29] Rachner TD, Gobel A, Benad-Mehner P, et al. Dickkopf-1 as a mediator and novel target in malignant bone disease [J]. Cancer Lett, 2014, 346(2):172-177.

