

WNT/ β -catenin信号通路与miRNA 在原发性肺癌中的研究进展

陆周一¹, 陈晓峰²

1. 同济大学附属上海市肺科医院胸外科, 上海 200092;
2. 复旦大学附属华山医院胸心外科, 上海 200040

[摘要] WNT/ β -catenin信号通路在细胞增殖、分化和器官发育中起着重要作用。WNT/ β -catenin信号通路的异常活化及与该信号通路相关的miRNA异常调节与原发性肺癌的发生、发展有着密切联系。因此深入研究肺癌中WNT/ β -catenin信号通路的调控机制, 阐明miRNA与该通路成分间的相互作用可能为发现新的肺癌药物治疗靶点提供思路。本文就原发性肺癌中的WNT/ β -catenin信号通路和miRNA及以两者为靶点的肺癌治疗研究进行综述。

[关键词] 肺癌; WNT/ β -catenin信号通路; miRNA

DOI: 10.19401/j.cnki.1007-3639.2017.02.012

中图分类号: R734.2 文献标志码: A 文章编号: 1007-3639(2017)02-0151-05

Research progress on WNT/ β -catenin signaling pathway and miRNA in primary lung cancer LU Zhouyi¹, CHEN Xiaofeng² (1. Department of Thoracic Surgery, Shanghai Pulmonary Hospital, Tongji University, Shanghai 200092, China; 2. Department of Cardio-thoracic Surgery, Huashan Hospital, Fudan University, Shanghai 200040, China)

Correspondence to: CHEN Xiaofeng E-mail: cxf3166@126.com

[Abstract] The WNT/ β -catenin signaling pathway plays a critical role in cellular proliferation, differentiation and organogenesis. Aberration activation of WNT/ β -catenin pathway and dysregulation of miRNA related with this pathway are involved in oncogenesis and tumor progression in primary lung cancer. Understanding the mechanism of the WNT/ β -catenin signaling pathway and illuminating the interaction between miRNA and the members of this pathway may improve the perspectives of using these molecules as potential therapeutic targets for primary lung cancer. This review focused on the participation of the WNT/ β -catenin signaling pathway and miRNA in lung cancer and discussion of potential targets for this malignancy therapy in the future.

[Key words] Lung cancer; WNT/ β -catenin signaling pathway; miRNA

癌症是目前危害人类健康的主要问题之一, 而肺癌就是其中最具威胁性的一类。虽然对肺癌的诊疗方法在不断发展, 但肺癌患者的生存状况并未得到显著的改善。已有研究发现, WNT信号通路在原发性肺癌的增殖、分化、转移及肿瘤干细胞自我更新等方面起着重要的调控作用^[1-2]。当WNT信号通路功能异常, 失去对肿瘤抑制基因的正常调控是多种肿瘤的始发因素之一^[1]。

miRNA是生物体内广泛存在并行使调控功能的一类非编码RNA, 它的异常表达被认为与肿瘤的发生、发展有着密切的联系。在肺癌中也发现miRNA的表达异常与肿瘤的转移、耐药性产生及临床预后相关^[3]。在目前的研究中, 对于miRNA和WNT/ β -catenin信号通路在肺癌中调控机制均有所涉猎, 但关于miRNA调控WNT/ β -catenin通路的机制研究还较少。因此, 进一步深入阐明两者间的调控关系和机制可能为肺癌的临床治疗提供新思路。

1 WNT/ β -catenin信号通路与肺癌

在人体内, WNT信号通路与细胞分化、器官发育及肿瘤发生有着密切联系。作为WNT通路的起始部分, WNT信号蛋白通过与靶细胞膜上的卷曲受体(frizzled, Fzd)结合, 并在低密度脂蛋白受体相关蛋白(low density lipoprotein receptor-related protein, LRP)5/6的辅助下完成对WNT信号通路的启动。WNT信号在细胞质中的传递涉及两类二级途径: ① 被称为经典WNT通路的WNT/ β -catenin通路; ② 被称为非经典WNT通路的WNT/ Ca^{2+} 通路、蛋白激酶A通路等^[4]。

目前已被研究较多的WNT/ β -catenin通路可以由WNT1、WNT2和WNT3等配体激活。当缺乏WNT信号时, 该通路中的 β -catenin与糖原合成酶3 β (glycogen synthase kinase 3 β , GSK3 β)、轴抑制蛋白(axis inhibitor, AXIN)和腺瘤性结肠息肉易感基因蛋白形成降解复合物并发生磷酸化。之后该复合物在 β -转导重复相容蛋白作用下促使 β -catenin在蛋白酶体中降解^[5]。当WNT信号存在时, WNT与Fzd结合激活蓬乱蛋白(dishevelled, Dvl), 进而促使GSK3 β 磷酸化并抑制其功能。这将进一步导致 β -catenin降解复合物的解体及 β -catenin泛素化降解的减少, 因而细胞质中游离的非磷酸化 β -catenin将增多。这些游离的 β -catenin随后进入细胞核中与T细胞因子(T cell factor, TCF)/淋巴样增强因子(lymphoid enhancer factor, LEF)复合物相结合, 对靶基因发挥转录激活作用^[2,4]。

在肺癌的发生中, WNT/ β -catenin信号通路也起着重要的作用。有动物实验研究发现, WNT信号通路的异常活化能导致实验动物原发性肺癌发病率的上升^[6]。肺癌中WNT/ β -catenin信号通路的异常表现可能与其中多个组分的表达量或功能异常有关。有研究发现, 手术切除的肺癌组织中WNT1的表达量要明显高于癌旁组织^[7], 而且在非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)的细胞系中也观察到WNT1表达量的上调^[8]。此外, WNT1的高表达与异常的 β -catenin表达及*c-Myc*、*p53*等癌

基因表达量的升高有关^[7]。在功能上, 高表达WNT1的肺癌细胞表现出更强的增殖、迁移和侵袭能力, 并能更好地抵抗细胞凋亡^[8]。在肺癌中同样也存在过表达的WNT2^[9]和WNT3^[10]。在肺癌细胞中, WNT2、WNT3与*c-Myc*和存活素的表达量改变相关^[10-11]。下调肺癌细胞中的WNT2表达量后, 细胞的生长与增殖能力^[12]、转移能力^[13]均会受到抑制, 凋亡细胞数量增加^[11]。此外, 在临床上也观察到低表达WNT1、WNT2、WNT3和 β -catenin的肺癌患者的临床预后要优于高表达组^[7,10,12]。此外还发现, Fzd-8和Fzd-9等WNT受体及LRP6在部分肺癌细胞系和肺癌组织中呈表达^[13-14]。

作为链接上游WNT信号与下游 β -catenin的关键环节, 肿瘤中过表达的Dvl1能够异常活化WNT/ β -catenin信号通路。有研究发现, Dvl1在肺癌组织中的表达量要显著高于癌旁组织^[15]。高表达Dvl-1和Dvl-3的肺癌患者的预后也相对较差^[16]。Dvl1在肺癌中的表达还呈现出病理分型的特异性, 腺癌中3类Dvl1的表达量均要高于肺鳞癌^[16]。

β -catenin是WNT/ β -catenin信号通路调控的核心之一, 它的表达量或活性的改变将直接影响WNT/ β -catenin信号通路的功能^[4]。有研究发现, 与多种肿瘤转移相关的细胞外基质金属蛋白酶诱导因子(extracellular matrix metalloproteinase inducer, EMMPRIN)能够对WNT/ β -catenin信号通路活性进行调控, 上调EMMPRIIN的表达量能够增加肺癌细胞核中行使功能的 β -catenin的含量, 并能使细胞呈现更强的生长、侵袭和转移能力^[17]。此外舒林酸被发现能够通过抑制肺癌细胞中 β -catenin的转录活性来阻遏WNT/ β -catenin通路的功能, 并抑制*c-Myc*、*cyclin D1*的表达及肿瘤细胞的增殖能力^[18]。

各类WNT/ β -catenin信号通路抑制因子的表达异常在肺癌中也有重要意义。如以WNT抑制因子-1(WNT inhibitory factor-1, WIF-1)和Cerberus等为代表的分泌型WNT通路抑制因子能够通过WNT结合来抑制WNT的正常功能。

分泌型卷曲蛋白相关蛋白(secreted frizzled-related proteins, sFRP)通过与WNT蛋白竞争Fzd来阻遏WNT与受体的结合。Dickkopf(Dkk)家族通过与LRP5/LRP6结合抑制通路信号的下传。在NSCLC标本中, WNT/ β -catenin信号通路负调控因子AXIN的表达量与TCF-4的表达呈负相关^[19]。有研究发现, 通过端锚聚合酶抑制因子上调肺癌细胞中的AXIN表达量能够有效抑制肿瘤细胞的生长和增殖能力, 并能增强表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)抑制剂对肿瘤的治疗作用^[20-21]。GSK3 β 是经典WNT通路的组成成分之一, 去磷酸化的GSK3 β 起着促进 β -catenin降解及抑制WNT/ β -catenin通路活性的作用, 活化的EGFR通路能够磷酸化GSK3 β 为失活的p-GSK3 β -ser9, 在NSCLC组织中EGFR的表达量与肿瘤淋巴或脉管浸润程度及p-GSK3 β -ser9的量呈现正相关, 高表达p-GSK3 β -ser9的肺癌患者总生存期也要低于低表达组^[22]。肺癌对化疗药物耐药也可能与GSK3 β 有关。在铂类药物耐药的A549/DDP细胞中观察到显著升高的p-GSK3 β -ser9, 而下调肺癌细胞中的GSK3 β 表达量或增加其磷酸化程度能够有效增加肿瘤细胞对铂类化疗药的敏感性^[23]。

肺癌中多种WNT信号通路抑制因子表达量发生改变的具体机制目前尚未完全明确。WNT信号通路抑制因子基因启动子区DNA的甲基化程度异常改变是目前已发现的机制之一。在NSCLC细胞系中曾观察到由启动子区DNA高甲基化导致的WNT抑制因子的低表达能够活化WNT/ β -catenin信号通路, 而且这种DNA甲基化程度与肺癌分期呈现正相关, 提示WNT抑制因子表达量下调是肿瘤恶变程度增高的内因之一^[24]。与癌旁组织相比, 在肺癌组织中sFRP-1、sFRP-2、sFRP-5、WIF-1和Dkk-3基因的启动子区DNA甲基化程度要明显高于癌旁组织。肺腺癌组织中的Dkk-3的DNA甲基化程度还与肺腺癌患者的临床预后呈现明显的负相关^[25]。

在肺癌中, WNT/ β -catenin信号通路在WNT配体、Fzd受体、TCF/LEF依赖的转录及WNT

抑制因子沉默等多个方面发生改变, 并对肺癌的发生和演进产生着影响。提示该通路可能存在多种可用于肺癌治疗的靶点。有研究发现, 重组WIF-1能抑制肺癌的生长和骨肉瘤肺转移的发生^[26]。此外, 在肺癌中, 高甲基化的sFRP-1、sFRP-1、sFRP-2和sFRP-5的基因启动子区DNA的去甲基化治疗也有望成为肺癌治疗的新方式。而通过特异性抗体或RNA干扰的方法下调WNT蛋白的表达也是恢复肺癌中WNT/ β -catenin信号通路功能的另一种方式。通过单克隆抗体或小干扰RNA下调WNT2的表达后, 肺癌细胞的生长、转移能力受到抑制, 细胞凋亡增加^[12]。外源性小分子WNT/ β -catenin信号通路抑制物是另一种治疗思路。在A549细胞中曾观察到姜黄素能通过去甲基化作用恢复WIF-1的正常表达来抑制 β -catenin/TCF依赖的转录过程^[27]。

2 肺癌中miRNA对WNT信号通路的调控

miRNA是一类具有调控功能的内源性非编码RNA。成熟的miRNA能与Argonaute蛋白结合, 组成RNA诱导沉默复合物中的核心部分, 它能够通过碱基互补配对方式识别靶mRNA, 在转录后阶段抑制靶基因的表达。

在对人类肿瘤的研究中观察到多种miRNA可以对WNT/ β -catenin信号通路的功能进行调控。Mongroo等^[28]研究发现, miR-200家族能够通过结合并抑制 β -catenin mRNA的翻译过程来下调WNT/ β -catenin信号通路活性从而阻遏肿瘤细胞上皮-间质转化的进程及抑制肿瘤细胞的运动能力。miR-577能够通过下调LRP6和 β -catenin的表达量来抑制WNT/ β -catenin信号通路以达到负调控肿瘤的生长的目的^[29]。miR-1207对sFRP1和AXIN2的表达抑制^[30]和miR-942对sFRP-4、GSK3 β 的表达抑制可以激活WNT/ β -catenin信号通路, 促进肿瘤的生长和演进^[31]。

在原发性肺癌中miRNA对WNT/ β -catenin信号通路的调控是通过调节该通路中各个成分的表达来实现的。Tan等^[32]研究发现, miR-29家族能够负性调节DNA甲基转移酶3A

和3B表达, 进而抑制*WIF-1*基因的甲基化, 促进*WIF-1*的表达。此外, miR-29的过表达还能下调 β -catenin的表达量^[32]。Navarro等^[33]研究发现, miR-203能通过抑制WNT信号通路受体Fzd-2的表达来抑制WNT信号通路的功能。经miR-203 mimic转染的高表达miR-203的肺癌细胞较对照组呈现出较低的Fzd-2表达量及较弱的转移、侵袭能力。Wu等^[34]对肺癌细胞系A549转染miR-21 mimic后发现, 细胞中miR-21的过表达引起 β -catenin表达量的提升, 提示miR-21能够通过作用于WNT/ β -catenin信号通路来增强A549细胞的增殖和侵袭能力。Qi等^[35]研究发现, 表达 β -catenin互作蛋白1的基因 β -catenin互作蛋白1基因(catenin beta interacting protein 1, *CTNNBIP1*)是miR-214的靶基因之一, miR-214能通过抑制*CTNNBIP1*的翻译来促进 β -catenin的表达, 上调WNT/ β -catenin信号通路活性, 诱导肺癌细胞肿瘤干细胞样特性的产生, miR-214-*CTNNBIP1*的相互作用在调节肿瘤干细胞自我更新方面可能有重要意义。Mo等^[36]研究发现, miR-544a能够抑制GSK3 β 的表达来活化WNT/ β -catenin信号通路, 在过表达miR-544a的肺癌细胞中曾发现存在GSK3 β 的表达量下调和较高的 β -catenin的表达量。这一调控效果被认为用于维持肺癌肿瘤干细胞的自我更新。此外, 如miR-487b下调*Dkk1*、*sFRP1*、*sFRP4*和*WIF-1*的表达量^[37], miR-31下调*Dkk1*和*sFRP1*^[38]对WNT/ β -catenin信号通路功能的调控在多种肺癌细胞中可被观察到。

3 总结与展望

WNT/ β -catenin通路功能异常在多种人类肿瘤中有显著的表现。目前的研究对于WNT信号通路在原发性肺癌发生、发展中的调控机制尚未彻底阐明, 尤其是对非经典WNT信号通路在肺癌中的调控机理及WNT通路与其他细胞信号通路间的交互作用并不十分明确。但也正是由于WNT/ β -catenin信号通路在肺癌中调控机制的复杂性使其为肺癌的治疗提供许多潜在的靶点。虽然针对肺癌WNT/ β -catenin信号通路的治疗刚刚开始发展, 但目前已有的小分子WNT通

路抑制剂和WNT单克隆抗体已展现出了巨大的潜力。随着近年来对WNT/ β -catenin信号通路在肺癌中的作用及该通路所受的转录后调控的认识逐渐加深, 使部分miRNA对WNT/ β -catenin信号通路的调控方式及其中具体的调控机制和生物学意义得到进一步的了解。考虑到原发性肺癌中WNT/ β -catenin信号通路与miRNA间复杂的相互作用可能为肺癌的靶向治疗提供新的思路, 进一步深入研究两者的生物学功能及调控机制对未来肺癌的临床治疗有重要意义。

[参 考 文 献]

- [1] ANASTAS J N, MOON R T. Wnt signalling pathways as therapeutic targets in cancer [J]. *Nat Rev Cancer*, 2013, 13(1): 11-26.
- [2] STEWART D J. Wnt signaling pathway in non-small cell lung cancer [J]. *J Natl Cancer Inst*, 2014, 106(1): 356.
- [3] MACDONAGH L, GRAY S G, FINN S P, et al. The emerging role of micrnas in resistance to lung cancer treatments [J]. *Cancer Treat Rev*, 2015, 41(2): 160-169.
- [4] TAKAHASHI-YANAGA F, KAHN M. Targeting wnt signaling: Can we safely eradicate cancer stem cells? [J]. *Clin Cancer Res*, 2010, 16(12): 3153-3162.
- [5] ANGERS S, MOON R T. Proximal events in wnt signal transduction [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2009, 10(7): 468-477.
- [6] PACHECO-PINEDO E C, DURHAM A C, STEWART K M, et al. Wnt/beta-catenin signaling accelerates mouse lung tumorigenesis by imposing an embryonic distal progenitor phenotype on lung epithelium [J]. *J Clin Invest*, 2011, 121(5): 1935-1945.
- [7] XU X, SUN P L, LI J Z, et al. Aberrant wnt1/beta-catenin expression is an independent poor prognostic marker of non-small cell lung cancer after surgery [J]. *J Thorac Oncol*, 2011, 6(4): 716-724.
- [8] AKIRI G, CHERIAN M M, VIJAYAKUMAR S, et al. Wnt pathway aberrations including autocrine wnt activation occur at high frequency in human non-small-cell lung carcinoma [J]. *Oncogene*, 2009, 28(21): 2163-2172.
- [9] YOU L, HE B, XU Z, et al. Inhibition of Wnt-2-mediated signaling induces programmed cell death in non-small-cell lung cancer cells [J]. *Oncogene*, 2004, 23(36): 6170-6174.
- [10] NAKASHIMA N, LIU D, HUANG CL, et al. *Wnt3* gene expression promotes tumor progression in non-small cell lung cancer [J]. *Lung Cancer*, 2012, 76(2): 228-234.
- [11] LIU D, KADOTA K, UENO M, et al. Adenoviral vector expressing short hairpin RNA targeting Wnt2B has an effective antitumour activity against Wnt2B2-overexpressing tumours [J]. *Eur J Cancer*, 2012, 48(8): 1208-1218.

- [12] HUANG C, MA R, XU Y, et al. Wnt2 promotes non-small cell lung cancer progression by activating Wnt/ β -catenin pathway [J] . *Am J Cancer Res*, 2015, 5(3): 1032-1046.
- [13] BRAVO D T, YANG Y L, KUCHENBECKER K, et al. Frizzled-8 receptor is activated by the Wnt-2 ligand in non-small cell lung cancer [J] . *BMC Cancer*, 2013, 13: 316.
- [14] LI Y, LU W, HE X, et al. LRP6 expression promotes cancer cell proliferation and tumorigenesis by altering beta-catenin subcellular distribution [J] . *Oncogene*, 2004, 23(56): 9129-9135.
- [15] UEMATSU K, HE B, YOU L, et al. Activation of the Wnt pathway in non small cell lung cancer: evidence of dishevelled overexpression [J] . *Oncogene*, 2003, 22(46): 7218-7221.
- [16] WEI Q, ZHAO Y, YANG ZQ, et al. Dishevelled family proteins are expressed in non-small cell lung cancer and function differentially on tumor progression [J] . *Lung Cancer*, 2008, 62(2): 181-192.
- [17] SIDHU S S, NAWROTH R, RETZ M, et al. EMMPRIN regulates the canonical Wnt/ β -catenin signaling pathway, a potential role in accelerating lung tumorigenesis [J] . *Oncogene*, 2010, 29(29): 4145-4156.
- [18] HAN A, SONG Z, TONG C, et al. Sulindac suppresses beta-catenin expression in human cancer cells [J] . *Eur J Pharmacol*, 2008, 583(1): 26-31.
- [19] YANG L H, XU H T, HAN Y, et al. Axin downregulates TCF-4 transcription via beta-catenin, but not p53, and inhibits the proliferation and invasion of lung cancer cells [J] . *Mol Cancer*, 2010, 9: 25.
- [20] BUSCH A M, JOHNSON K C, STAN R V, et al. Evidence for tankyrases as antineoplastic targets in lung cancer [J] . *BMC Cancer*, 2013, 13: 211.
- [21] CASAS-SELVES M, KIM J, ZHANG Z, et al. Tankyrase and the canonical Wnt pathway protect lung cancer cells from EGFR inhibition [J] . *Cancer Res*, 2012, 72(16): 4154-4164.
- [22] ZHENG H, SAITO H, MASUDA S, et al. Phosphorylated GSK3 β -ser9 and EGFR are good prognostic factors for lung carcinomas [J] . *Anticancer Res*, 2007, 27(5B): 3561-3569.
- [23] GAO Y, LIU Z, ZHANG X, et al. Inhibition of cytoplasmic GSK-3 β increases cisplatin resistance through activation of Wnt/ β -catenin signaling in A549/DDP cells [J] . *Cancer Lett*, 2013, 336(1): 231-239.
- [24] LICCHESI J D, WESTRA W H, HOOKER C M, et al. Epigenetic alteration of Wnt pathway antagonists in progressive glandular neoplasia of the lung [J] . *Carcinogenesis*, 2008, 29(5): 895-904.
- [25] SUZUKI M, SHIGEMATSU H, NAKAJIMA T, et al. Synchronous alterations of Wnt and epidermal growth factor receptor signaling pathways through aberrant methylation and mutation in non small cell lung cancer [J] . *Clin Cancer Res*, 2007, 13(20): 6087-6092.
- [26] RUBIN E M, GUO Y, TU K, et al. Wnt inhibitory factor 1 decreases tumorigenesis and metastasis in osteosarcoma [J] . *Mol Cancer Ther*, 2010, 9(3): 731-741.
- [27] LIU Y L, YANG H P, GONG L, et al. Hypomethylation effects of curcumin, demethoxycurcumin and bisdemethoxycurcumin on WIF-1 promoter in non-small cell lung cancer cell lines [J] . *Mol Med Rep*, 2011, 4(4): 675-679.
- [28] MONGROO P S, RUSTGI A K. The role of the miR-200 family in epithelial-mesenchymal transition [J] . *Cancer Biol Ther*, 2010, 10(3): 219-222.
- [29] ZHANG W, SHEN C, LI C, et al. miR-577 inhibits glioblastoma tumor growth via the Wnt signaling pathway [J] . *Mol Carcinog*, 2016, 55(5): 575-585.
- [30] WU G, LIU A, ZHU J, et al. MiR-1207 overexpression promotes cancer stem cell-like traits in ovarian cancer by activating the Wnt/ β -catenin signaling pathway [J] . *Oncotarget*, 2015, 6(30): 28882-28894.
- [31] GE C, WU S, WANG W, et al. miR-942 promotes cancer stem cell-like traits in esophageal squamous cell carcinoma through activation of Wnt/ β -catenin signalling pathway [J] . *Oncotarget*, 2015, 6(13): 10964-10977.
- [32] TAN M, WU J, CAI Y. Suppression of Wnt signaling by the miR-29 family is mediated by demethylation of WIF-1 in non-small-cell lung cancer [J] . *Biochem Biophys Res Commun*, 2013, 438(4): 673-679.
- [33] NAVARRO A, MINE M, YAMAGUCHI K, et al. miR-203 inhibits frizzled-2 expression via CD82/KAI1 expression in human lung carcinoma cells [J] . *Plos One*, 2015, 10(7): e0131350.
- [34] WU D, SHI M, FAN X D. Mechanism of miR-21 via Wnt/ β -catenin signaling pathway in human A549 lung cancer cells and Lewis lung carcinoma in mice [J] . *Asian Pac J Trop Med*, 2015, 8(6): 479-484.
- [35] QI W, CHEN J, CHENG X, et al. Targeting the Wnt-regulatory protein CTNBP1 by microRNA-214 enhances the stemness and self-renewal of cancer stem-like cells in lung adenocarcinomas [J] . *Stem Cells*, 2015, 33(12): 3423-3436.
- [36] MO X M, LI H H, LIU M, et al. Downregulation of GSK3 β by miR-544a to maintain self-renewal ability of lung cancer stem cells [J] . *Oncol Lett*, 2014, 8(4): 1731-1734.
- [37] XI S, XU H, SHAN J, et al. Cigarette smoke mediates epigenetic repression of miR-487b during pulmonary carcinogenesis [J] . *J Clin Invest*, 2013, 123(3): 1241-1261.
- [38] XI S, YANG M, TAO Y, et al. Cigarette smoke induces C/EBP- β -mediated activation of miR-31 in normal human respiratory epithelia and lung cancer cells [J] . *PLoS One*, 2010, 5(10): e13764.