

# Wnt/β - catenin 信号通路在肿瘤血管生成中的作用

郑 艳 贺松其 陈旭狮 程 昶

**摘要** Wnt/β - catenin 信号通路在调控胚胎正常发育、参与细胞增殖与分化等过程中起着重要作用。近年来大量研究表明 Wnt/β - catenin 信号通路在肿瘤血管生成方面扮演了重要角色。Wnt/β - catenin 信号通路几乎参与了肿瘤血管生成的各个环节,包括调控血管内皮细胞的增殖,促进细胞外基质的降解,刺激 VEGF 的分泌等,而其中 Wnt/β - catenin 信号通路对 VEGF 的调控又涉及许多其他信号通路,如 HIF、Dll4/Notch、COX - 2/PGE2、TGF - β 等信号通路。本文将从以上 3 个方面对 Wnt/β - catenin 信号通路在肿瘤血管生成中的作用机制加以详细阐述。

**关键词** Wnt/β - catenin 信号通路 肿瘤血管生成 内皮细胞 细胞外基质 VEGF

[中图分类号] R73

[文献标识码] A

血管生成(angiogenesis)是指已有的血管以出芽方式产生新的血管。一方面新生的血管可以为肿瘤细胞提供更多的氧和营养物质,另一方面新生血管内皮细胞(endothelial cells, EC)分泌的生长因子,如胰岛素样生长因子、血小板衍生生长因子等可以刺激邻近的肿瘤细胞生长。肿瘤新生血管还为恶性肿瘤的血道转移提供了通路。因此血管生成在肿瘤的生长、浸润和转移中起着重要作用<sup>[1]</sup>。Wnt/β - catenin 信号通路是一条保守的信号通路,在调控胚胎正常发育、参与细胞增殖与分化等过程中起着重要作用,而其异常激活则可能导致肿瘤的发生。近年来大量研究表明 Wnt/β - catenin 信号通路在肿瘤血管生成方面扮演了重要角色,现综述如下。

Wnt 信号通路共有 3 条主要分支,研究最透彻的是 Wnt/β - catenin 信号通路。该信号通路的活化由细胞质中的 β - catenin 蛋白水平决定。在正常情况下,细胞质中的 β - catenin 由泛素蛋白酶体介导被降解而维持低水平。Wnt 蛋白通过与细胞表面受体复合物跨膜蛋白(frizzled, Fzd)/共受体低密度脂蛋白受体相关蛋白(lipoprotein receptor - related protein, Lrp)结合启动细胞内 β - catenin 的聚集,并促其转移到细胞核内。在细胞核内,β - catenin 与 T 细胞因子(T

cell factor, TCF)/淋巴样增强结合因子(lymphoid enhancer - binding factor, LEF)形成复合物共同启动下游靶基因的转录<sup>[2]</sup>。

## 一、Wnt/β - catenin 信号通路对 EC 的作用

在血管生成中 EC 的增殖十分关键,大量证据表明 Wnt/β - catenin 信号通路可以调控 EC 的增殖。目前共发现 19 种人类 Wnt 蛋白及 10 种 Fzd 受体,其中 EC 表面能表达 Fzd1、Fzd2、Fzd4、Fzd5、Fzd6、Fzd9、Fzd10 以及共受体 Lrp5、Lrp6,这提示 Wnt 信号对 EC 可能存在调节作用。体外实验证明外源性的 Wnt1、Wnt3a 可以促进内皮细胞的增殖,而 Wnt 蛋白的拮抗剂 sFRP1 (secreted frizzled - related protein 1) 则能够抑制内皮细胞的增殖。不仅如此,多项体内实验也表明在参与血管生成的 EC 中 Wnt/β - catenin 信号通路被激活,而如果该通路发生异常改变则会导致血管生成缺陷。以上研究结果表明,Wnt/β - catenin 信号通路可以通过调控 EC 的增殖来调控血管生成<sup>[3]</sup>。多种肿瘤细胞及肿瘤间质细胞如巨噬细胞等均高表达多种 Wnt 蛋白,这些信号蛋白在肿瘤的血管生成中起到了一定的促进作用<sup>[3,4]</sup>。

## 二、Wnt/β - catenin 信号通路对 ECM 的作用

细胞外基质(extracellular matrix, ECM)包括多种成分,与 Wnt/β - catenin 信号通路关系较为密切的是基质金属蛋白酶(metalloproteinase, MMP)。MMP 不但可以降解 ECM 中的成分和血管基膜,还能够激活多种细胞因子、趋化因子、生长因子,并且这些蛋白酶降解 ECM 产生的水解片段也能够调节肿瘤血管生成<sup>[5]</sup>。血管基膜的降解为 EC 迁移提供了路径,当受到促血管生成因子的刺激时,EC 会发生极化并且细

基金项目:国家自然科学基金资助项目(81072934);广东省自然科学基金资助项目(9151051501000003);广东省大学生创新计划资助项目(1212111053)

作者单位:510515 广州,南方医科大学第一临床医学院(郑艳、陈旭狮、程旸);南方医科大学中医药学院(贺松其)

通讯作者:贺松其,医学博士,教授,硕士生导师,电子信箱:hesongqijz@126.com

胞之间的连接也随之减弱,EC 便会穿过血管基膜形成新的毛细血管芽。现已证明 MMP - 7、MMP - 2 和 MMP - 9 是 Wnt/β - catenin 信号通路的靶基因<sup>[6]</sup>。另有研究表明在原发性肝细胞癌 (hepatocellular carcinoma, HCC) 中 MMP - 2 的过度表达及 MMP 活性增强与 HCC 肿瘤血管的形成密切相关,高 MMP - 2 表达的患者预后不良<sup>[7]</sup>。细胞外基质中还含有整合素 (integrin)、血栓黏合素 1 (thrombospondin 1)、尿激酶型组织纤溶酶原激活物 (urokinase - type plasminogen activator, uPA) 等,它们在促进新生血管形成及稳定方面起着重要作用,Wnt/β - catenin 信号通路与这些物质之间的作用值得更深入的研究,这将有助于我们全面了解 Wnt/β - catenin 信号通路在肿瘤血管生成中的作用机制。

### 三、Wnt/β - catenin 信号通路对 VEGF 的调控机制

作为促血管生成过程中最关键的因子,血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) 一直是人们研究的热点。VEGF 的促血管生成作用多种多样,主要包括:①刺激 EC 的分裂、增殖和迁移;②增加微小血管的通透性;③正反馈调节内皮细胞表达纤溶酶原激活剂 (PLA)、纤溶酶原激活剂抑制剂、组织因子、间质胶原酶等<sup>[8]</sup>。VEGF 基因经过转录水平的剪切可产生 6 种变异体,其中研究最多的是 VEGF - A。VEGF 受体目前发现有 3 种:VEGFR1 (Flt - 1)、VEGFR2 (KDR/Flt - 2)、VEGFR3 (Flt - 4),三者均为酪氨酸蛋白激酶受体,有 7 个细胞外 Ig 区和 1 个细胞内酪氨酸激酶区,其中 VEGFR1 和 VEGFR2 主要表达于血管内皮细胞。VEGF 与相应受体结合后,受体发生二聚作用激活酪氨酸激酶,然后受体发生自身磷酸化并激活下游的一系列信号转导,从而发挥生物学效应<sup>[9]</sup>。

虽然肿瘤细胞和 EC 均可表达 VEGF,但研究表明 EC 自分泌的 VEGF 主要作用是维持 EC 的稳定,对血管生成没有影响,而肿瘤组织中产生的 VEGF 在肿瘤的血管生成中起着决定性作用<sup>[10]</sup>。Zhang 等<sup>[11]</sup>在结肠癌细胞中发现 VEGF 启动子上游 805bp 位点有 TCF - 4 结合元件,并且证明 Wnt/β - catenin 信号通路能明显上调 VEGF 的表达。Easwaran 等<sup>[12]</sup>又在 VEGF 启动子区域发现 7 个 TCF/LEF 结合元件,进一步明确了 Wnt/β - catenin 信号通路对 VEGF 的表达存在调控作用。Wnt/β - catenin 信号通路还可以通过与其他信号通路协作而影响 VEGF 的表达。现列

举几个在调控 VEGF 方面与 Wnt/β - catenin 信号通路关系比较密切的信号通路。

1. HIF 信号通路:缺氧 (hypoxia) 是刺激肿瘤细胞及其间质细胞分泌 VEGF 的一个重要因素,这主要是通过 HIF - 1 (hypoxia - inducible factor - 1) 介导的。HIF - 1 是一种由 HIF - 1α 和 HIF - 1β 两个亚基组成的异源二聚体,其中 HIF - 1α 是直接感受缺氧的感受器,其表达严格地受 O<sub>2</sub> 浓度调节。在低氧条件下,HIF - 1α 的泛素化和降解过程受抑制,导致其在细胞内聚集并与 HIF - 1β 聚合形成有活性的 HIF - 1,调控多种基因的表达,其中包括 VEGF,从而引起细胞对缺氧的一系列适应性反应。正常条件下,β - catenin/TCF - 4 复合物能够上调 HIF - 1α 的抑制因子 VHL (von Hippel - Lindau) 的表达,而低氧条件下 VHL 的表达下降导致 HIF - 1α 聚集。HIF - 1α 可以与 TCF - 4 竞争与 β - catenin 结合,而 β - catenin/HIF - 1α 复合物可以促进 HIF - 1α 下游靶基因的表达<sup>[13]</sup>。由此笔者推测在缺氧条件下 Wnt/β - catenin 信号通路通过激活 HIF 信号通路上调 VEGF 的表达。Lee 等<sup>[10]</sup>的研究支持了这一假设,他们发现在小鼠胚胎干细胞中当缺氧激活 Wnt/β - catenin 信号通路后,HIF - 1α 合成增加并且 VEGF 的表达水平也随之明显提高。

2. Dll4/Notch 信号通路:Dll4/Notch 信号通路是近年来新发现的与肿瘤血管生成相关的又一重要的信号通路。Dll4 在参与血管生成的 EC 尤其是生发细胞中显著高表达,并且 Dll4 的表达受 VEGF 的调控。Dll4 与 Notch 发生相互作用导致一系列的蛋白水解反应,Notch 受体细胞外的功能域发生裂解和释放并转移至细胞核,通过与转录因子的作用诱导各种靶基因的表达。Dll4/Notch 信号通路通过阻抑机制抑制过度的血管生成,并促进新生血管正常化。抑制该通路会导致血管生成密度的增加,但这些血管的结构高度异常,并不能充分输送血液,从而加重肿瘤低氧。Corada 等<sup>[14]</sup>证明在 EC 中 β - catenin 能够增强 Dll4 的转录活动并激活 Dll4/Notch 信号通路。Devgan 等<sup>[15]</sup>则发现在胶质细胞中 Dll4 /Notch 信号通路可以通过抑制 Wnt4 合成的方式抑制 Wnt/β - catenin 信号通路,并进一步抑制角质细胞的再生和肿瘤生成。VEGF - A 与 Dll4/Notch 信号通路之间也存在精密的调控机制调控血管出芽过程中“tip”细胞和“stalk”细胞的分化,以保证血管的正常形成<sup>[16]</sup>。Reis 等<sup>[17]</sup>证明在神经胶质瘤中 Wnt/β - catenin 信号

通路可以通过激活 Dll4 /Notch 信号通路减少肿瘤的血管生成并促进平滑肌细胞的募集,从而使肿瘤血管趋于正常化。对 Dll4 /Notch 信号通路更深入的了解将有助于为抗肿瘤血管生成提供新的靶点。

3. COX - 2/PGE<sub>2</sub> 信号通路:环氧化酶(cyclooxygenase - 2, COX - 2)是花生四烯酸(arachidonic acid)代谢途径中的关键酶,在炎症和肿瘤中发挥重要作用。从基因结构变化和蛋白质表达水平对 VEGF、COX - 2 与癌症的发生、发展和预后关系进行探讨是目前国内外研究的热点。大量研究表明 COX - 2 可以调控血管生成,COX - 2 与 VEGF 之间存在明显相关性<sup>[18~20]</sup>。Araki 等<sup>[21]</sup>和 Yun 等<sup>[22]</sup>先后在 COX - 2 的转录起始位点上游发现 TCF/LEF 转录因子,表明 Wnt/β - catenin 信号通路对 COX - 2 存在调控作用。而另一方面,Castellone 等<sup>[23]</sup>应用体外培养的结肠癌细胞证明 COX - 2 的作用产物前列腺素 E<sub>2</sub>(PGE<sub>2</sub>)可以诱导 β - catenin 的去磷酸化,增加 β - catenin 在细胞核中的积累,进而增加 TCF/LEF 转录因子的活性。另有报道称高表达 COX - 2 的质粒和 TCF/LEF 或对照质粒同时转入人类胆管癌细胞株后,TCF/LEF 质粒在该细胞株中的表达明显增加<sup>[24]</sup>。从中我们可以看出 Wnt/β - catenin 信号通路与 COX - 2/PGE<sub>2</sub> 信号通路存在相互作用,两者可以共同调节 VEGF 的表达。

4. TGF - β 信号通路:转化生长因子 - β (transforming growth factor - β)具有促进和抑制血管生成的双重作用。低浓度的 TGF - β 可以上调血管生成因子和蛋白酶以启动血管生成,高浓度的 TGF - β 则抑制 EC 的生长,刺激平滑肌细胞的分化和募集,促进基膜再生以稳定新生血管。当该通路被激活时,TGF - β 与受体结合可以使下游的转录因子 Smd2、Smd3 磷酸化,磷酸化的 Smd2、Smd3 又与 Smd4 结合,然后共同转移至细胞核,进入细胞核后 Smd 复合体可以直接结合到 DNA 上或与其他转录因子 Sp1、AP - 1 等共同结合到 DNA 上,进而调控基因的转录。Clifford 等<sup>[25]</sup>首次证明在肺动脉平滑肌细胞(PASMC)中 TGF - β1 可以促进 VEGF 的表达,其机制是转录因子 TCF - 4、β - catenin、GSK - 3β 及 TGF - β 信号通路中的 Smd2/Smd3 / Smd4 组成复合体结合到 VEGF 启动子的相应区域从而启动 VEGF 的转录。

除了上面列举的几个信号通路之外,Wnt/β - catenin 信号通路还与许多其他信号通路如 Ras、NF - κB、VEGFR 等信号通路存在联系<sup>[11]</sup>。虽然涉及的信

号分子、转录因子等各不相同,但它们之间的作用机制大都可以归纳为以下几种形式:①两条信号通路之间存在上下游关系,一条通路可直接或间接地活化或抑制另一条通路;②两条通路同时受某种蛋白质的共同调控;③两条通路平行的对某一共同的靶基因进行调控。还有可能存在 3 条以上通路的相互作用,其机制将更为复杂。

#### 四、展望

虽然关于 Wnt/β - catenin 信号通路调控肿瘤血管生成的研究已经取得不少成果,但仍然有不少问题亟待解决。例如,许多实验表明 Wnt/β - catenin 信号通路的抑制剂 Dkk(Dickkopf)在多种肿瘤中表达下降。但也有研究得出相反的结论,如 Zitt 等发现在结直肠癌的内皮细胞中 Dkk - 3 的表达增加,Reis 等<sup>[17]</sup>发现在神经胶质瘤细胞中 Dkk - 1 表达增加并且这些高表达的 Dkk 反而能够促进肿瘤血管生成。要解决这种看似矛盾的问题还需要我们更多的努力。另外,尽管抗 VEGF/VEGFR 药物在治疗某些肿瘤方面取得一定效果,但这种效果维持时间短,并且相当一部分病人都会产生耐药性。因此寻找新的抗肿瘤血管生成药物作用靶点刻不容缓。最近,Carmeliet 等提出了一个新的概念——“vessel normalization”。研究者指出肿瘤中的血管大多是畸形的,这种畸形不仅容易造成低氧、低 pH 值的肿瘤微环境,促进肿瘤细胞的逃逸,还会阻碍免疫细胞发挥功能及化疗药物的分布,使肿瘤细胞产生耐药性。而使肿瘤正常化则可以纠正上述现象,并且越来越多的证据表明这种治疗策略可以弥补传统抗血管生成治疗方法的不足。Reis 等<sup>[17]</sup>首次证明在神经胶质瘤中激活 Wnt/β - catenin 信号通路可以促进肿瘤血管趋于正常化。因此如何利用 Wnt/β - catenin 信号通路及其与其他信号通路之间的联系使肿瘤血管恢复正常结构和功能,进而抑制肿瘤的生长,也许可以成为未来研究的一个方向。

#### 参考文献

- Makrilia N, Lappa T, Xyla V, et al. The role of angiogenesis in solid tumours: an overview[J]. Eur J Intern Med, 2009, 20(7): 663 - 671
- Ge X, Wang X. Role of Wnt canonical pathway in hematological malignancies[J]. J Hematol Oncol, 2010, 3: 33
- Newman AC, Hughes CC. Macrophages and angiogenesis: a role for Wnt signaling[J]. Vasc Cell, 2012, 4(1): 13
- Lee HC, Kim M, Wands JR. Wnt/frizzled signaling in hepatocellular carcinoma[J]. Front Biosci, 2006, 11: 1901 - 1915
- Vilen ST, Salo T, Sorsa T, et al. Fluctuating roles of matrix metalloproteinase - 9 in oral squamous cell carcinoma[J]. Scientific World-

- Journal, 2013, 2013:920595
- 6 Wu B, Crampton SP, Hughes CC. Wnt signaling induces matrix metalloproteinase expression and regulates T cell transmigration [J]. Immunity, 2007, 26(2):227–239
- 7 贺松其, 姚飞龙, 吕忠平, 等. Wnt/β-catenin 信号通路在肝癌转移侵袭中的调控机制 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 7:251–254
- 8 Ferrara N. VEGF-A: a critical regulator of blood vessel growth [J]. Eur Cytokine Netw, 2009, 20(4):158–163
- 9 Waldner MJ, Neurath MF. Targeting the VEGF signaling pathway in cancer therapy [J]. Expert Opin Ther Targets, 2012, 16(1):5–13
- 10 Lee SH, Kim MH, Han HJ. Arachidonic acid potentiates hypoxia-induced VEGF expression in mouse embryonic stem cells: involvement of Notch, Wnt, and HIF-1alpha [J]. Am J Physiol Cell Physiol, 2009, 297(1):C207–C216
- 11 Zhang X, Gaspard JP, Chung DC. Regulation of vascular endothelial growth factor by the Wnt and K-ras pathways in colonic neoplasia [J]. Cancer Res, 2001, 61(16):6050–6054
- 12 Easwaran V, Lee SH, Inge L, et al. Beta-catenin regulates vascular endothelial growth factor expression in colon cancer [J]. Cancer Res, 2003, 63(12):3145–3153
- 13 Dejana E. The role of Wnt signaling in physiological and pathological angiogenesis [J]. Circ Res, 2010, 107(8):943–952
- 14 Corada M, Nyqvist D, Orsenigo F, et al. The Wnt/beta-catenin pathway modulates vascular remodeling and specification by upregulating Dll4/Notch signaling [J]. Dev Cell, 2010, 18(6):938–949
- 15 Devgan V, Mammucari C, Millar S E, et al. p21WAF1/Cip1 is a negative transcriptional regulator of Wnt4 expression downstream of Notch1 activation [J]. Genes Dev, 2005, 19(12):1485–1495
- 16 Mettouchi A. The role of extracellular matrix in vascular branching morphogenesis [J]. Cell Adh Migr, 2012, 6(6):528–534
- 17 Reis M, Czupalla CJ, Ziegler N, et al. Endothelial Wnt/beta-cate-
- nin signaling inhibits glioma angiogenesis and normalizes tumor blood vessels by inducing PDGF-B expression [J]. J Exp Med, 2012, 209(9):1611–1627
- 18 Cheng AS, Chan HL, To KF, et al. Cyclooxygenase-2 pathway correlates with vascular endothelial growth factor expression and tumor angiogenesis in hepatitis B virus-associated hepatocellular carcinoma [J]. Int J Oncol, 2004, 24(4):853–860
- 19 Clarkin CE, Garonna E, Pitsillides AA, et al. Heterotypic contact reveals a COX-2-mediated suppression of osteoblast differentiation by endothelial cells: a negative modulatory role for prostanooids in VEGF-mediated cell-cell communication? [J]. Exp Cell Res, 2008, 314(17):3152–3161
- 20 Futagami S, Hiratsuka T, Shindo T, et al. COX-2 and CCR2 induced by CD40 ligand and MCP-1 are linked to VEGF production in endothelial cells [J]. Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids, 2008, 78(2):137–146
- 21 Araki Y, Okamura S, Hussain SP, et al. Regulation of cyclooxygenase-2 expression by the Wnt and ras pathways [J]. Cancer Res, 2003, 63(3):728–734
- 22 Yun K, Im SH. Lef1 regulates COX-2 transcription in chondrocytes [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2007, 364(2):270–275
- 23 Castellone MD, Teramoto H, Williams BO, et al. Prostaglandin E<sub>2</sub> promotes colon cancer cell growth through a Gs-axin-beta-catenin signaling axis [J]. Science, 2005, 310(5753):1504–1510
- 24 张燕, 陈欢, 欧阳钦. 环氧化酶 2 对 Wnt 信号途径的调节作用 [J]. 中华内科杂志, 2010, 49(6):495–499
- 25 Clifford RL, Deacon K, Knox AJ. Novel regulation of vascular endothelial growth factor-A (VEGF-A) by transforming growth factor (beta) I: requirement for Smads, (beta)-CATENIN, and GSK3 (beta) [J]. J Biol Chem, 2008, 283(51):35337–35353

(收稿日期:2014-05-20)

(修回日期:2014-05-23)

## PIK3CA 在宫颈癌中的研究进展

陶雪娇 王 颖 朱雪琼

**摘要** 研究表明,磷脂酰肌醇激酶-3催化亚单位α(PIK3CA)参与细胞存活、运动、黏附和凋亡等多种细胞生理功能的调节,其突变或扩增与多种恶性肿瘤的形成密切相关。宫颈癌是女性常见的恶性肿瘤之一,近年来关于PIK3CA在宫颈癌中的研究逐渐得到国内外学者的重视。本文对PIK3CA在宫颈癌发生发展、筛查、早期诊断、治疗及预后中的研究进展进行综述。

**关键词** PIK3CA 宫颈癌 PI<sub>3</sub>K-AKT 信号转导通路

[中图分类号] R737

[文献标识码] A

基金项目:浙江省高层次创新人才基金资助项目(2010-11)

作者单位:325027 温州医科大学附属第二医院妇产科

通讯作者:朱雪琼,电子信箱:zjwzzxq@163.com

磷脂酰肌醇激酶-3催化亚单位α(phosphatidylinositol 3-kinase, catalytic subunit α, PIK3CA)已被证实是一种癌基因,定位于3号染色体长臂(3q26.3),包含20个外显子,大小为34kb。它编码