

Wnt/ β -catenin 信号通路在肝癌转移侵袭中的调控机制

贺松其^{1*}, 姚飞龙¹, 吕志平¹, 程旻², 李嘉璐^{1,2}

(1. 南方医科大学中医药学院, 广州 510515; 2. 南方医科大学第一临床学院, 广州 510515)

[摘要] Wnt 信号传导途径与肿瘤有着密切的关系, 其通路的异常活化参与人类多种癌症的发病过程。转移和侵袭是肝癌的基本特征, 也是影响肝癌治疗效果的重要因素。肝细胞癌的转移侵袭与 Wnt/ β -catenin 信号通路密切相关。 β -catenin 是 Wnt/ β -catenin 信号传导途径中的关键调控因子, 其表达程度与患者淋巴结转移及肝内转移呈正相关。此外, Wnt/ β -catenin 信号通路下游转录因子 T 细胞因子 4 (Tcf-4) 基因表达与肝癌的转移密切相关。因此, Wnt/ β -catenin 信号通路成员基因突变和 (或) 异常表达奠定了肝癌细胞转移和侵袭的分子学基础。以 Wnt/ β -catenin 信号通路为切入点, 深入探讨肝细胞癌转移的作用机理和分子机制, 对筛选肝细胞癌的预后指标和寻找新的治疗靶点、深化和完善肝细胞癌转移侵袭的基础理论研究具有重要的意义。

[关键词] 肝细胞癌; Wnt/ β -catenin 信号通路; 转移侵袭

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)07-0251-04

Molecular Mechanism of Wnt/ β -catenin Signaling Pathway in Metastasis and Invasion of Hepatocellular Carcinoma

HE Song-qi^{1*}, YAO Fei-long¹, LV Zhi-ping¹, CHENG Yang², LI Jia-lu^{1,2}

(1. College of Traditional Chinese Medicine, South Medical University, Guangzhou 510515, China;

2. First Clinical College of South Medical University, Guangzhou 510515, China)

[Abstract] Wnt signal transduction pathway has a close relationship with cancer, as its abnormal activation plays an important role in many human cancers. Metastasis and invasion in hepatocellular carcinoma, the basic characteristics of hepatocellular carcinoma as well as important factors which influence the therapeutic effect of hepatocellular carcinoma, are closely related with Wnt/ β -catenin signal transduction pathway. β -catenin is an essential regulatory factor in Wnt/ β -catenin signal transduction pathway. The expression of β -catenin is positively correlated with lymph node and liver metastasis of hepatocellular carcinoma. There is also a close relationship between the metastasis of hepatocellular carcinoma and the expression of Tcf-4, which is a downstream transcription factor in Wnt/ β -catenin signal transduction pathway. Therefore, the mutation and (or) aberrant expression of genes in Wnt/ β -catenin signal transduction pathway set up the biomolecular basis for metastasis and invasion in hepatocellular carcinoma.

[Key words] hepatocellular carcinoma; Wnt/ β -catenin signal transduction pathway; metastasis and Invasion

[收稿日期] 20101008(002)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81072934); 广东省自然科学基金项目(9151051501000003); 广东省中医药局基金项目(1050128)

[通讯作者] *贺松其, 博士, 教授, 硕士生导师, 从事肝病证的临床与实验研究, Tel: 020-61648247, E-mail: hesongqijz@126.com

Wnt/ β -catenin 信号传导途径与肿瘤有着密切的关系, 其通路的异常活化参与人类多种癌症的发病过程。转移和侵袭是肝癌的基本特征, 也是影响肝癌治疗效果的重要因素。肝癌的转移侵袭与 Wnt/ β -连环蛋白(β -catenin)信号通路有密切的关系。Wnt/ β -catenin 信号通路是近年来肿瘤分子生物学领域研究的热点, β -catenin 是 Wnt/ β -catenin 信号传导途径中的关键调控因子, HCC 标本中 β -catenin 表达程度与

患者淋巴结转移及肝内转移呈正相关^[1-3]。另外, Wnt/ β -catenin 信号通路下游转录因子 T 细胞因子 4 (Tcf-4) 基因表达与肿瘤包膜是否完整及有无转移密切相关, 且高转移肝癌细胞株中表达水平又高于低转移肝癌细胞株, 说明 Tcf-4 基因高表达与肝癌的转移密切相关^[4-5]。

1 Wnt/ β -catenin 信号通路的组成及调控机制

Wnt/ β -catenin 信号通路通常被称为 Wnt 正规通路。其成员包括^[6] 细胞外因子 Wnt、跨膜受体、 β -连环蛋白 (β -catenin)、“降解复合物 (destruction complex)”以及转录因子 T 细胞因子 (T cell factor, TCF) 等组成。其中跨膜受体由两类蛋白质组成: 一类是 7 次跨膜的卷曲蛋白受体 (frizzled protein receptor, FZD) 家族成员。另一类是辅助受体低密度脂蛋白受体相关蛋白 (low density lipoprotein receptor related protein, LRP) 家族的成员 LRP5/6。正规的 Wnt 信号只有在卷曲蛋白和 LRP 均与 Wnt 结合时才激活。

该通路通过调节 TCF 家族的 DNA 结合蛋白转录性质来调控细胞的行为, 其核心是胞质内 β -catenin 稳定, 当 β -catenin 水平低下时, Wnt 通路关闭; 反之, Wnt 通路开启。

在没有 Wnt 信号刺激的情况下, 胞质内的 GSK-3 β 能与其他蛋白例如 APC, Axin 等以复合物的形式磷酸化 β -catenin 氨基末端 Ser/Thr 位点, 使 β -catenin 降解, 维持细胞内 β -catenin 的低水平状态, 酪蛋白激酶 I (casein kinase I, CK1) 直接磷酸化 β -catenin 并使之稳定。 β -TrCP 通过识别 β -catenin 的磷酸化位点使 β -catenin 泛素化, 进而被蛋白酶体降解。 β -catenin 处于低水平状态, Wnt 通路关闭。另外, Frizzled 相关蛋白 (frizzled related proteins, FRP) 和 Wnt 抑制因子 (wnt inhibitory factor, WIF) 通过与 Wnt 蛋白结合、DKK (dickkopf) 则与 LRP5/6 形成三重复合物, 诱导快速内吞作用, 从而抑制 Wnt/ β -catenin 信号通路^[7]。

在有 Wnt 信号刺激的情况下, 由细胞分泌的 Wnt 蛋白与细胞表面受体 FZD 和 LRP5/6 结合后, 即触发细胞内的信号传导: 细胞内蛋白 Dsh (dishevelled) 被活化, 继而活化的 Dsh 与 Axin 及 Frat1 相结合, 后两者与 GSK-3 β 和 APC 基因形成复合物, Frat1 介导 GSK-3 β 从 Axin 上脱离, 不能磷酸化 β -catenin。没有磷酸化的 β -catenin 则不被降解, 导致在细胞内积累并转移到细胞核内, 与转录因子 TCF 相结合, 在其他因子的辅助下协同激活靶基因如 c-myc, cyclin D1、基质金属蛋白酶 (MMPs)、CD44 的转录^[8]。

2 Wnt/ β -catenin 信号通路调控肝癌侵袭转移的相关机制

2.1 Wnt/ β -catenin 信号通路成员基因突变和(或)异常表达奠定了肝癌细胞转移和侵袭的分子学基础肝癌细胞的侵袭转移是一个多步骤、多环节的复杂的过程。每一个环节都涉及到一系列基因的调控。基因的突变、扩增、移位、重排及病毒基因的插入, 引发转移基因的失调, 奠定了肝癌细胞转移和侵袭分子学基础。在 Wnt/ β -catenin 信号通路中, β -catenin 的积聚和转录因子 Tcf-4 的高表达是肝癌细胞转移和侵袭的关键事件。多项研究表明 12% ~ 41% 的人肝细胞癌存在 β -

catenin 基因外显子 3 突变^[9-12]。 β -catenin 基因外显子 3 负责编码 β -catenin 蛋白 NH2 末端, 此区含有多个与 GSK-3 β 结合的磷酸化位点。其突变导致 β -catenin 蛋白不能与 GSK-3 β 结合而免于降解, 导致 β -catenin 在胞浆的积聚。最近的研究表明^[13], 约 70% 的肝癌呈 β -catenin 积聚, 其中仅有 20% 是由 β -catenin 基因突变所引起, Axin 突变可能是导致 β -catenin 过度表达的原因。Merle P 等^[14] 观察到, Wnt 受体 FZD7 在转基因鼠形成的肝细胞癌模型中高表达, 在人肝细胞癌中 FZD7 受体高表达主要与乙型肝炎病毒感染有关。同样, 在 6 个肝癌细胞株上均发现了高表达的 FZD7 受体, FZD7 基因上调也可导致细胞内 β -catenin 的积聚。

2.2 Wnt/ β -catenin 信号通路与癌细胞的迁移粘附 细胞迁移需要精确的调控, 其失控将使癌细胞获得高度的侵袭转移能力。 β -catenin 在该过程中具有双重作用: 一方面, β -catenin 在 E-钙粘蛋白 (E-cadherin) 介导的粘附连接 (adhering junction, AJ) 或紧密连接复合物中通常处于结合状态, 在钙粘蛋白和细胞骨架连接中起重要的桥梁作用, 使 E-钙粘蛋白保持粘附功能; 另一方面, 作为 Wnt/ β -catenin 通路的关键效应分子, β -catenin 的入核转运可促进肿瘤细胞转移相关基因的表达^[15]。CD44 是 Wnt/ β -catenin 信号通路靶基因之一。研究发现, CD44v6 的高表达可能使癌细胞黏附到血管内皮导致 HCC 肝外转移和门静脉癌栓的形成, CD44v6 的表达与肝癌转移侵袭的发生有密切关系, 其阳性表达对预测肝癌是否发生转移具有临床意义^[16-17]。 β -catenin 基因常因突变或基因片段缺失而失活导致 β -catenin 不与 GSK-3 β 结合而免于降解, 并在胞质内积累, 导致与肿瘤转移相关基因的异常表达, 同时突变事件 β -catenin 和 E-cadherin 结合位点结构异常, 不能形成 β -catenin/E-cadherin 复合体, 导致细胞粘附功能降低或丧失, 促使肿瘤细胞发生转移和侵袭。

2.3 Wnt/ β -catenin 信号通路与基质金属蛋白酶 (matrix metalloproteinase, MMPs) 近来有研究表明 MMPs 作为肿瘤侵袭转移的促进因子与 Wnt/ β -catenin 信号通路密切相关^[18]。MT1-MMP 作为 Wnt 信号通路下游的直接靶点, β -catenin/TCF4 与 MT1-MMP, claudins1 和 CD44 的共同作用可促进细胞的迁移、侵袭和转移。MMP-7 过量表达可促进肺癌转移和犬肾细胞 (MDCK) 的侵袭力, 它同时也是 β -catenin/TCF4 的一个作用靶点。可以推测可能还有其他 MMP 与 β -catenin/TCF4 相关并促进肿瘤侵袭和转移^[19]。已经发现 HCC 中 MMP-2 基因的过度表达及 MMP-2 活性增强与 HCC 肿瘤血管的形成、肿瘤的局部进展和肝脏内转移等密切相关, 高 MMP2 表达的患者预后不良。MMP-2 过度表达及活性增强引起细胞外基质 (ECM) 和基底膜 (basement membrane, BM) 中的 IV 型胶原蛋白过度降解可能是 HCC 细胞浸润和转移的关键环节。Arii 等^[20] 发现, 基质金属蛋白酶-9 (matrix metalloproteinase-9, MMP-9) 基因表达水平可作为原发性肝癌复发、侵袭和转移的指标。环氧合酶 2 (cyclooxygenase-2, COX-2) 在肝癌发生发展过程中具有重要作用, 其表达与肿

瘤细胞的分化程度密切相关。COX-2 可增强 MMP 的表达, APC 的突变可极大提高 COX-2 的活性,暗示了 Wnt- β -catenin 信号还可通过调节 COX-2 提高 MMP-2 及 MMP-9 的表达,促进肿瘤的侵袭转移^[21-23]。

2.4 Wnt/ β -catenin 信号通路与肿瘤血管生成 恶性肿瘤的浸润和转移有赖于新生血管形成。研究发现 Wnt/ β -catenin 信号通路在血管生成及病理学方面扮演了重要的角色。体内外实验都证明了血管细胞中大量表达多种 Wnt 蛋白,如 Wnt 2, Wnt-5a, Wnt-7a, Wnt-10b 和 Wnt 蛋白受体 FZD。在许多发育和病理状态下发现血管内 β -catenin 的稳定表达,进一步证实了 Wnt/ β -catenin 信号通路对血管生成的调节作用^[24]。血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)是一种高度特异的血管内皮分裂素,它能促进内皮细胞的分裂、增殖,并诱导血管的发生,在肿瘤的发生、发展中具有重要作用。因此,VEGF 成为目前研究恶性肿瘤浸润和转移的热点。Kamel 等^[25]发现,血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)高表达有利于原发性肝癌的复发、侵袭和转移。Zhang 等^[26]发现 VEGF 启动子上游 805 bp 位点有 TCF4 结合元件,使 Wnt 信号通路明显上调 VEGF 的表达。而 COX-2 除了调节 MMP 的表达外,还参与肿瘤的血管生成。APC 的突变可极大提高 COX-2 的活性,说明 Wnt- β -catenin 信号还可通过调节 COX-2 的表达,促进肿瘤的血管生成。

3 展望

原发性肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC, 简称肝癌)是我国常见的恶性肿瘤之一。全世界每年新发肝癌中的 42.5% 出现在我国大陆,近 20 年来我国肝癌的死亡率增加了 41.17%。我国每年约 23 万人死于肝癌,城市和农村分别占恶性肿瘤年死亡率的第二位和第一位。由于大量慢性乙型肝炎感染人群的存在,目前原发性肝癌仍是我国高发的重大疾病。然而,由于肝癌高复发、高转移的特性,使得针对肿瘤复发、转移后的治疗成为延长患者生存的关键因素,即延长患者的带瘤生存时间^[27-28]。转移和侵袭是肝癌的基本特征,也是影响肝癌治疗效果的重要因素。目前,对肝癌转移和侵袭的基础研究已经展开,但药物防治方面尚无重大突破。中医药以其独特的辨证论治理论和“治未病”的防治特色,在控制肿瘤转移方面已凸现其优势,并得到医学界的重视及肯定。中医认为,肝癌转移病机复杂,属多系统、多组织、多器官受累,寒热交错,虚实夹杂。针对肝癌转移的病机特点,中医药防治原则涉及扶正培本、解毒散结及活血化痰等三个方面。中医药防治肝癌转移侵袭的作用机制有待进一步研究和探讨。

[参考文献]

[1] Suzuki T, Yano H, Nakashima Y. Beta-catenin expression in hepatocellular carcinoma: a possible participation of beta-catenin in the dedifferentiation

- process[J]. *J Gastroenterol Hepatol*, 2002, 17(9):994.
- [2] Tien L T, Ito M, Nakao M, et al. Expression of beta-catenin in hepatocellular carcinoma [J]. *World J Gastroenterol*, 2005, 11(16):2398.
- [3] Asayama Y, Taguchi Ki K, Aishima Si S. The mode of tumour progression in combined hepatocellular carcinoma and cholangiocarcinoma: an immunohistochemical analysis of E-cadherin, alpha-catenin and beta-catenin [J]. *Liver*, 2002, 22(1):43.
- [4] Jiang Y, Zhou X D, Liu Y K. Association of hTcf-4 gene expression and mutation with clinicopathological characteristics of hepatocellular carcinoma [J]. *World J Gastroenterol*, 2002, 8(5):804.
- [5] Zhao D H, Hong J J, Guo S Y. Aberrant expression and function of TCF4 in the proliferation of hepatocellular carcinoma cell line BEL-7402 [J]. *Cell Res*, 2004, 14(1):74.
- [6] Giles R H, van Es J H, Clevers H. Caught up in a Wnt storm: Wnt signaling in cancer [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2003, 1653(1):1.
- [7] Lee H C, Kim M, Wands J R. Wnt/Frizzled signaling in hepatocellular carcinoma [J]. *Front Biosci*, 2006, 11:1901.
- [8] Tulac S, Nayak N R, Kao L C. Identification, characterization, and regulation of the canonical Wnt signaling pathway in human endometrium [J]. *Jclin Endocrinol Metab*, 2003, 88(8):3860.
- [9] De La Coste A, Romagnolo B, Billuart P. Somatic mutations of the beta-catenin gene are frequent in mouse and human hepatocellular carcinomas [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1998, 95(15):8847.
- [10] Legoux P, Bluteau O, Bayer J. Beta-catenin mutations in hepatocellular carcinoma correlate with a low rate of loss of heterozygosity [J]. *Oncogene*, 1999, 18(27):4044.
- [11] Nhieu J T, Renard C A, Wei Y. Nuclear accumulation of mutated beta-catenin in hepatocellular carcinoma is associated with increased cell proliferation [J]. *Am J Pathol*, 1999, 155(3):703.
- [12] Wong C M, Fan S T, Ng I O. beta-Catenin mutation and overexpression in hepatocellular carcinoma: clinicopathologic and prognostic significance [J]. *Cancer*, 2001, 92(1):136.
- [13] Ishizaki Y, Ikeda S, Fujimori M. Immunohistochemical analysis and mutational analyses of beta-catenin, Axin family and APC genes in hepatocellular carcinomas [J]. *Int J Oncol*, 2004, 24(5):1077.
- [14] Merle P, De la Monte S, Kim M. Functional

- consequences of frizzled-7 receptor overexpression in human hepatocellular carcinoma [J]. *Gastroenterology*, 2004, 127(4):1110.
- [15] Jamora C, Fuchs E. Intercellular adhesion, signalling and the cytoskeleton [J]. *Nat Cell Biol*, 2002, 4(4):E101.
- [16] 邵玉峰, 李旭, 谢琴秀, 等. 骨桥蛋白和 CD44V6 在肝癌中的表达与意义 [J]. *中华肝脏病杂志*, 2005, 13(3):277.
- [17] Gao C, Guo H, Downey L. Osteopontin-dependent CD44v6 expression and cell adhesion in HepG2 cells [J]. *Carcinogenesis*, 2003, 24(12):1871.
- [18] Mei J M, Borchert G L, Donald S P. Matrix metalloproteinase (s) mediate (s) NO-induced dissociation of beta-catenin from membrane bound E-cadherin and formation of nuclear beta-catenin/LEF-1 complex [J]. *Carcinogenesis*, 2002, 23(12):2119.
- [19] Takahashi M, Tsunoda T, Seiki M. Identification of membrane-type matrix metalloproteinase-1 as a target of the beta-catenin/Tcf4 complex in human colorectal cancers [J]. *Oncogene*, 2002, 21(38):5861.
- [20] Arii S, Mise M, Harada T, Furutani M. Overexpression of matrix metalloproteinase 9 gene in hepatocellular carcinoma with invasive potential [J]. *Hepatology*, 1996, 24(2):316.
- [21] Wu T. Cyclooxygenase-2 in hepatocellular carcinoma [J]. *Cancer Treat Rev*, 2006, 32(1):28.
- [22] Dempke W, Rie C, Grothey A. Cyclooxygenase-2: a novel target for cancer chemotherapy [J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2001, 127(7):411.
- [23] Sun M H, Han X C, Jia M K. Expressions of inducible nitric oxide synthase and matrix metalloproteinase-9 and their effects on angiogenesis and progression of hepatocellular carcinoma [J]. *World J Gastroenterol*, 2005, 11(38):5931.
- [24] Goodwin A M, D'Amore P A. Wnt signaling in the vasculature [J]. *Angiogenesis*, 2002, 5(1/2):1.
- [25] Kamel L, Nessim I, Abd-el-Hady A. Assessment of the clinical significance of serum vascular endothelial growth factor and matrix metalloproteinase-9 in patients with hepatocellular carcinoma [J]. *J Egypt Soc Parasitol*, 2005, 35(3):875.
- [26] Zhang X, Gaspard J P, Chung D C. Regulation of vascular endothelial growth factor by the Wnt and K-ras pathways in colonic neoplasia [J]. *Cancer Res*, 2001, 61(16):6050.
- [27] 吴孟超. 原发性肝癌的诊断及治疗进展 [M]. *中国医学科学院学报*, 2008, 30(4):363.
- [28] 汤钊猷. 肝癌转移复发的基础与临床 [M]. 上海: 上海科技教育出版社, 2003:1.

[责任编辑 邹晓翠]

网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20110127.1124.017.html>