

Wnt 信号通路中 APC 和 Cyclin D1 基因与卵巢癌关系的研究进展

袁海涛, 程丛丛, 李云秀, 武金玉, 尤琪

哈尔滨医科大学附属第一医院妇产科, 黑龙江 哈尔滨 150001

摘要: 卵巢癌是女性最常见的恶性肿瘤之一,其发病率及死亡率逐年增加,虽然目前的治疗策略相对有效,但存在易复发及化疗耐药。卵巢癌的发生是一个多因素作用、多步骤进展的过程,伴一系列致癌因素所致的基因突变和某些信号通路的异常激活。Wnt 信号通路在哺乳动物胚胎的早期发育、器官形成、组织再生和其他生理过程中,具有至关重要的作用。如果这条信号通路中的关键调控基因发生突变,会导致其信号异常活化,就可能诱导恶变的发生发展。研究已表明,各种因素导致 Wnt 信号通路中的结肠腺瘤样息肉病蛋白(APC)基因的失活和细胞周期蛋白 D1(Cyclin D1)基因的过度表达均与卵巢癌的发生发展有关。因此,探讨 Wnt 信号通路中的 APC、Cyclin D1 基因与卵巢癌的关系,有助于进一步揭示卵巢癌的发病机制,为卵巢癌的防治提供新的敏感检测指标和治疗靶点。本文就 Wnt 信号通路中 APC、Cyclin D1 基因与卵巢癌关系的研究进展作一综述。

关键词: Wnt/ β -连环蛋白信号通路; 卵巢癌; 结肠腺瘤样息肉病蛋白; 细胞周期蛋白 D1

中图分类号: R 737.31 **文献标识码:** A **文章编号:** 1674-8182(2019)03-0418-03

卵巢恶性肿瘤是女性最常见的恶性肿瘤,其中,卵巢上皮癌是最常见的卵巢恶性肿瘤,约占卵巢恶性肿瘤的 90%,由于卵巢上皮癌发病隐匿,早期病变不易发现,并且目前针对卵巢早期癌变缺乏有效的检测指标及手段,其死亡率高居妇科恶性肿瘤的首位^[1],严重威胁女性生命及生活质量。卵巢癌诊断目前应用的主要血清标志物 CA125 对早期卵巢癌变缺乏特异性及敏感性,所以术前鉴别卵巢肿瘤的组织类型及良恶性相当困难,卵巢癌确诊主要依靠术中冰冻病理结果及术后病理,但卵巢上皮癌患者手术中发现肿瘤仅局限于卵巢的只占约 30% 左右,大多数已扩散到子宫、双侧附件、大网膜及盆腔各器官^[2],因此研究一些卵巢癌发生发展相关的敏感指标用于卵巢恶性肿瘤的早期诊断、预后预测及临床治疗的指导,就成为了目前研究的热点。研究结果发现,Wnt 信号通路在卵巢组织的胚胎发育和卵巢细胞增殖、分化及恶性转化过程中起着重要作用^[3],其通路中关键调控因子:结肠腺瘤样息肉病蛋白(APC)与细胞周期蛋白 D1(Cyclin D1)基因表达的异常会致使 Wnt 信号通路异常激活,均可导致卵巢癌的发生发展^[4-5]。本文就 Wnt 信号通路中 APC、Cyclin D1 基因与卵巢癌关系的研究进展综述如下。

1 Wnt 信号通路

1982 年在小鼠乳腺癌发现了 Wnt 基因,由于此基因激活依赖小鼠乳腺癌相关病毒基因的插入,因此,当时被命名为 Int1 基因,之后的研究表明,Int1 基因在小鼠正常胚胎发育中起重要作用,相当于果蝇的无翅(Wingless)基因,可控制胚胎的轴向发育。此后大量研究提示了 Int1 基因在神经系统胚胎

发育中的重要性,因此将 Wingless 与 Int1 结合,称为 Wnt 基因。人 Wnt 基因定位于 12q13,在胚胎发育中,Wnt 基因调控的重要信号传导系统即为 Wnt 通路^[6]。

1.1 Wnt 信号通路与肿瘤 Wnt 信号通路包括信号蛋白 Wnt、跨膜受体(Frizzled)、胞质蛋白及核内转录因子,后者包括: β -连环蛋白(β -catenin)、结肠腺瘤样病蛋白 APC、糖原合成酶 3 β (GSK-3 β)、轴蛋白(Axin)及 T 细胞转录因子/淋巴细胞增强因子 TCF/LEF、转录活化因子 CBP 及其下游靶基因 Cyclin D1、c-myc 等^[7]。Wnt 信号通路是一类在物种进化过程中较保守的信号通路,在动物胚胎的早期发育、器官形成、组织再生和其它生理过程中,具有至关重要的作用。如果这条信号通路中关键调控因子因为一些因素导致其基因活性异常,将会导致细胞异常活化,就可能诱导癌症的发生。国内外多位科学家研究已表明 Wnt 信号通路中的靶基因调节着细胞的增殖和凋亡,从而介导癌症的发生和发展,因此,致使细胞膜、细胞质和细胞核中的 Wnt 信号通路中关键蛋白的变化在卵巢癌的发生发展中起重要作用^[8-11]。

1.2 Wnt 信号通路与卵巢癌 针对卵巢癌的研究发现,各种致癌因素导致经典 Wnt 通路中的相关靶基因过表达,会致使游离的 β -catenin 在细胞内大量聚集,并通过核转位现象入核,与转录因子 T 细胞及淋巴细胞因子家族结合,激活 Wnt/ β -catenin 信号转导通路的下游相关靶基因 Cyclin D1、c-myc 等的异常转录,调控基因表达,影响细胞的正常分化和发育,最终导致细胞癌变。由此证明, β -catenin 入核是经典 Wnt 通路激活的关键,并且激活的经典 Wnt 通路通过诱导癌细胞 EMT 和维持肿瘤起源细胞(tumor-initiating cells, TICs)干性促进卵巢

癌的转移和耐药^[1,12]。因此,靶向抑制 Wnt 通路相关调控基因的表达式是治疗卵巢癌的关键。目前国内外多项研究发现,Wnt 通路抑制剂如 XAV939^[13]、LGK-974^[14]、氯硝柳胺(Niclosamide)^[15]等均可作为潜在治疗卵巢癌的靶向药物,这为未来卵巢癌的治疗提供了新的方向,但其相关机制仍需进一步研究。

2 APC 基因

目前研究已经明确,APC 基因是公认的肿瘤抑制基因,定位于人类染色体 5q21 上,由 15 个外显子组成,编码由 2 843 个氨基酸组成的蛋白质。其编码的 APC 蛋白通过 Wnt 信号转导通路参与调解细胞分化、增殖、迁移等过程,从而具有多功能抑制肿瘤的作用^[16]。

2.1 APC 与肿瘤 APC 在 Wnt 信号传导过程中起着重要的作用,其通过调控细胞周期、影响细胞运动及黏附来发挥。在 Wnt 信号传导通路中,APC 是该通路的关键负性调控因子,APC 的主要功能是作为一个连接由 APC、糖原合成酶激酶-3P 和轴蛋白组成的 β -catenin 降解复合物的骨架,若破坏了 APC 和糖原合成酶激酶-3 β 及轴蛋白之间的相互联系,会影响到 APC 的正常功能,使 β -catenin 降解复合物解体,过多游离的 β -catenin 在细胞内聚集,促进基因转录,调控基因表达,影响细胞的生长发育和分化,导致癌症的发生。APC 基因的突变,产生了截短蛋白,结构和功能发生了变化,致使 APC 蛋白虽然仍能与 β -catenin 结合,但是却不能降解 β -catenin,过量的 β -catenin 在细胞内聚集,并通过核转位现象入核,与转录因子 T 细胞及淋巴细胞因子家族结合,激活 Wnt/ β -catenin 信号转导通路的下游相关靶基因 CyclinD1 等的异常转录,调控基因表达,影响细胞的正常分化和发育,最终导致癌症的发生^[17-20]。

2.2 APC 与卵巢癌 Shen 等^[19]的研究显示,在 806 个卵巢癌组织样本中,429 个正常卵巢组织,109 个卵巢良性肿瘤,75 个低恶性潜能肿瘤,发现卵巢癌组织中 APC 启动子高甲基化明显高于正常和良性对照组,APC 启动子高甲基化和肿瘤分级或肿瘤分期之间没有观察到明显的关联。魏德娥等^[20]的研究显示,应用免疫组织化学染色 SABC 法检测 49 例卵巢恶性上皮性肿瘤、10 例卵巢交界性上皮肿瘤及 16 例卵巢良性上皮肿瘤组织中的 β -catenin 和 APC 蛋白的表达情况,其中在卵巢恶性上皮性肿瘤中 β -catenin 的异常表达率(79.59%)明显高于卵巢交界性上皮肿瘤(30%)和卵巢良性上皮肿瘤(25%);而卵巢恶性上皮性肿瘤中 APC 的阴性表达率明显高于卵巢良性上皮肿瘤,卵巢恶性上皮性肿瘤中 β -catenin 的表达与 APC 的表达无显著相关性。 β -catenin、APC 在卵巢恶性上皮性肿瘤的发生发展中可能发挥重要作用。肖琳^[21]对卵巢癌的研究还发现,在同一患者的原发病灶及转移病灶中均存在 APC 基因表达阴性,提示 APC 的基因缺失是卵巢癌的早期事件。以上研究表明,APC 基因的阴性表达与卵巢肿瘤的恶性转化密切相关。APC 作为抑癌基因,其基因活性下降或失活,会使 Wnt 信号通路异常激活,调控基因表达,其编码的 APC 蛋白在卵巢癌的发生发展过程中可能起抑制作用,其异常低表达会导致卵巢癌的发生发展及侵袭转移,但是其具体

发生机制仍需进一步研究。

3 Cyclin D1

Cyclin D1,即 G1/S-特异性周期蛋白-D1,Cyclin D1 是由 CCND1 基因编码,定位于染色体 11q13,长度为 120 kb,基因跨距约 15 kb,含有 5 个外显子和 4 个内含子,编码 259 个氨基酸构成的蛋白质,分子量为 34 000,半衰期很短,约为 30 min,是细胞周期中含量呈周期性变化的细胞周期调节蛋白^[22]。

3.1 Cyclin D1 与肿瘤 Cyclin D1 的作用在于作为细胞周期蛋白依赖性激酶 CDKs 的调控者。不同的周期蛋白表现出各自独特的表达及降解特性,这有助于每个有丝分裂事件在时间上的协调性。Cyclin D1 的主要功能是促进细胞周期的进展及促进细胞增殖。目前,Cyclin D1 已被公认为一种原癌基因,其过度表达可致细胞增殖失控而恶性化^[23]。研究表明,在多种肿瘤中发现了 Cyclin D1 基因过表达和基因扩增,包括卵巢癌、子宫内膜癌、乳腺癌、喉癌、甲状腺腺瘤、淋巴瘤、黑色素瘤、胃癌等^[24-30]。

3.2 Cyclin D1 与卵巢癌 毕玉婧^[22]对原发性卵巢癌的研究中发现,卵巢癌组织中 Cyclin D1 的表达明显高于正常卵巢组织,并且随临床分期的提高,Cyclin D1 的表达水平也有增加的倾向;在卵巢交界性肿瘤及恶性肿瘤中,Cyclin D1 呈过表达状态,而在卵巢正常及其良性肿瘤组织中均呈阴性表达,因此认为 Cyclin D1 的过表达是卵巢癌的早期事件,并与肿瘤的增殖活性有关。在 Wang 等^[23]的研究中,约 67% 的严重卵巢癌患者通过免疫染色来评估 Cyclin D1 的表达,其中 Cyclin D1 阳性表达在高级浆液性卵巢癌中更常见($P=0.017$),但与国际妇产科协会(FIGO)无关($P=0.829$)。 β -catenin 与 Cyclin D1 表达呈显著正相关($P=0.014$),并且 Cyclin D1 的过度表达与总体生存率较差显著相关($P=0.009$)。以上研究均表明,Cyclin D1 的过度表达,会使细胞周期调控异常,致使细胞增殖失控而恶性化,从而促进肿瘤的发生。

4 结语与展望

近些年来国内外多项研究证实,影响细胞中、细胞外及细胞间 Wnt 信号通路中关键蛋白的表达与卵巢癌的发生发展有着极其重要的作用。Wnt 信号转导通路的特点是多个环节、多个作用靶点,其作为一条开放通路, β -catenin、APC 基因、Cyclin D1 基因等是如何作用于这个完整的信号系统,国内外目前已有研究,但是否通过相互结合及相互抑制等多种不同的作用机制参与卵巢癌的发生、发展及转移,目前研究尚未明确。Wnt 信号通路是由一系列蛋白质构成,它们由各种原癌基因和抑癌基因编码,各类蛋白质之间互相联系、相互制约,在细胞的增殖、分化、运动和黏附以及机体的发育等各个过程中均起着重要的调节作用。APC 是作为一个多种蛋白质复合物相互连接的骨架,在 Wnt 途径中发挥着重要的功能。Wnt/ β -catenin 通路可调节 30 余种基因的转录活性,其中就包括 Wnt 信号转导通路下游的靶基因—Cyclin D1 基因。当 APC 基因失活或其基因表达异常时,其编码的 APC 蛋白的结构和功能发生了变化,致使 APC 蛋白虽然仍能与 β -catenin 结合,但

是却不能降解 β -catenin, 过量的 β -catenin 在细胞内聚集, 并通过核转位现象入核, 与转录因子 T 细胞及淋巴细胞因子家族结合, 激活 Wnt/ β -catenin 信号转导通路下游相关癌基因 CyclinD1 等的异常转录, 调控基因表达, 影响细胞的正常增殖和分化, 最终导致癌症的发生^[17-23]。因此, 卵巢癌的发生和发展与 Wnt 信号转导通路的异常激活有着非常密切的关系, 但 Wnt/ β -catenin 信号转导通路中的重要成分 APC 基因的失活和 Wnt/ β -catenin 信号转导通路的下游靶基因 Cyclin D1 基因的异常表达是否存在相关拮抗及正负反馈调节, 还有待进一步研究。

参考文献

[1] Hou M, Cheng Z, Shen H, et al. High expression of CTHRC1 promotes EMT of epithelial ovarian cancer (EOC) and is associated with poor prognosis[J]. *Oncotarget*, 2015, 6(34): 35813-35829.

[2] Zhou L, Graves M, MacDonald G, et al. Microenvironmental regulation of BRCA1 gene expression by c-Jun and Fra2 in premalignant human ovarian surface epithelial cells[J]. *Mol Cancer Res*, 2013, 11(3): 272-281.

[3] Gatcliffe TA, Monk BJ, Planutis K, et al. Wnt signaling in ovarian tumorigenesis[J]. *Int J Gynecol Cancer*, 2008, 18(5): 954-962.

[4] 闫冰冰, 李力. APC 基因的 DNA 甲基化与卵巢癌关系荟萃分析[J]. *国际妇产科学杂志*, 2016, 43(2): 169-173.

[5] Feng Y, Sakamoto N, Wu R, et al. Tissue-specific effects of reduced β -catenin expression on adenomatous polyposis coli mutation-instigated Tumorigenesis in Mouse Colon and Ovarian Epithelium[J]. *PLoS Genet*, 2015, 11(11): e1005638.

[6] Akalay I, Tan TZ, Kumar P, et al. Targeting WNT1-inducible signaling pathway protein 2 alters human breast cancer cell susceptibility to specific lysis through regulation of KLF-4 and miR-7 expression[J]. *Oncogene*, 2015, 34(17): 2261-2271.

[7] Saito-Diaz K, Chen TW, Wang X, et al. The way Wnt works: components and mechanism[J]. *Growth Factors*, 2013, 31(1): 1-31.

[8] Zhan T, Rindtorff N, Boutros M. Wnt signaling in cancer[J]. *Oncogene*, 2017, 36(11): 1461-1473.

[9] Yang K, Wang X, Zhang H, et al. The evolving roles of canonical WNT signaling in stem cells and tumorigenesis: implications in targeted cancer therapies[J]. *Lab Invest*, 2016, 96(2): 116-136.

[10] Aminuddin A, Ng PY. Promising druggable target in head and neck squamous cell carcinoma: Wnt Signaling[J]. *Front Pharmacol*, 2016, 7: 244.

[11] Mohammed MK, Shao C, Wang J, et al. Wnt/ β -catenin signaling plays an ever-expanding role in stem cell self-renewal, tumorigenesis and cancer chemoresistance[J]. *Genes Dis*, 2016, 3(1): 11-40.

[12] Nagaraj AB, Joseph P, Kovalenko O, et al. Critical role of Wnt/ β -catenin signaling in driving epithelial ovarian cancer platinum resistance[J]. *Oncotarget*, 2015, 6(27): 23720-23734.

[13] 何金水, 黄轶群, 翁剑鸣, 等. β -catenin 特异性抑制剂 XAV939 对套细胞淋巴瘤 Jeko-1 细胞增殖抑制的实验研究[J]. *中国实验血液学杂志*, 2015, 23(2): 411-415.

[14] Tian D, Shi Y, Chen D, et al. The Wnt inhibitor LGK-974 enhances

radiosensitivity of HepG2 cells by modulating Nrf2 signaling[J]. *Int J Oncol*, 2017, 51(2): 545-554.

[15] Arend RC, Londoño-Joshi AI, Gangrade A, et al. Niclosamide and its analogs are potent inhibitors of Wnt/ β -catenin, mTOR and STAT3 signaling in ovarian cancer[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(52): 86803.

[16] Li BQ, Liu PP, Zhang CH. Correlation between the methylation of APC gene promoter and colon cancer[J]. *Oncol Lett*, 2017, 14(2): 2315-2319.

[17] Hankey W, Frankel WL, Groden J. Functions of the APC tumor suppressor protein dependent and independent of canonical WNT signaling: implications for therapeutic targeting[J]. *Cancer Metastasis Rev*, 2018, 37(1): 159-172.

[18] Schuijers J, Mokry M, Hatzis P, et al. Wnt-induced transcriptional activation is exclusively mediated by TCF/LEF[J]. *EMBO J*, 2014, 33(2): 146-156.

[19] Shen C, Sheng Q, Zhang X, et al. Hypermethylated APC in serous carcinoma based on a meta-analysis of ovarian cancer[J]. *J Ovarian Res*, 2016, 9(1): 60.

[20] 魏德娥, 徐永萍. Wnt 信号通路成分 β -catenin 和 APC 在卵巢肿瘤中的表达及意义[J]. *现代妇产科进展*, 2010, 19(10): 732-734.

[21] 肖琳. APC 基因表达在上皮性卵巢癌发生发展中的作用及其分子机制的研究[D]. 重庆: 重庆医科大学, 2013.

[22] 毕玉婧. Anxa3, β -catenin, cyclinD1 在上皮性卵巢癌中的表达及意义[D]. 泰安: 泰山医学院, 2015.

[23] Wang H, Wang H, Makki MS, et al. Overexpression of β -catenin and cyclinD1 predicts a poor prognosis in ovarian serous carcinomas[J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2014, 7(1): 264-271.

[24] Liu W, Hua S, Dai Y, et al. Roles of Cx43 and AKAP95 in ovarian cancer tissues in G1/S phase[J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2015, 8(11): 14315-14324.

[25] Li Z, Cui J, Yu Q, et al. Evaluation of CCND1 amplification and CyclinD1 expression: diffuse and strong staining of CyclinD1 could have same predictive roles as CCND1 amplification in ER positive breast cancers[J]. *Am J Transl Res*, 2016, 8(1): 142-153.

[26] Ru Y, Chen XJ, Zhao ZW, et al. CyclinD1 and p57kip2 as biomarkers in differentiation, metastasis and prognosis of gastric cardia adenocarcinoma[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(43): 73860-73870.

[27] Du B, Wang Z, Zhang X, et al. MicroRNA-545 suppresses cell proliferation by targeting cyclin D1 and CDK4 in lung cancer cells[J]. *PLoS One*, 2014, 9(2): e88022.

[28] Yamamoto K, Lee BJ, Li C, et al. Early B-cell-specific inactivation of ATM synergizes with ectopic CyclinD1 expression to promote pre-germinal center B-cell lymphomas in mice[J]. *Leukemia*, 2015, 29(6): 1414-1424.

[29] Liang S, Mu K, Wang Y, et al. CyclinD1, a prominent prognostic marker for endometrial diseases[J]. *Diagn Pathol*, 2013, 8: 138.

[30] Zhang B, Liu W, Li L, et al. KAI1/CD82 and CyclinD1 as biomarkers of invasion, metastasis and prognosis of laryngeal squamous cell carcinoma[J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2013, 6(6): 1060-1067.