



曾艺,中国科学院上海生命科学研究院研究员,细胞生物学国家重点实验室固定成员。

# 粉红丝带引发的思考 ——Wnt 信号通路在乳腺发育与乳腺癌变中的角色

俞清,曾艺

中国科学院上海生命科学研究院生物化学与细胞生物学研究所,细胞生物学国家重点实验室,上海 200031

**摘要** Wnt 信号转导通路是参与乳腺发育和肿瘤形成的重要机制。本文综述了 Wnt 信号转导通路调控乳腺发育和干细胞稳态研究的进展,讨论了 Wnt 信号转导中成员分子在乳腺癌形成中的角色。

**关键词** Wnt 信号;乳腺发育;干细胞;乳腺癌

随着“粉红丝带”乳腺癌防治活动宣传的大力开展,越来越多的人开始关注女性的乳腺健康,乳腺癌是严重威胁女性生命的恶性肿瘤。然而对乳腺癌的起因、类型、病变机制的认知有限。在相关的科研领域中,Wnt 信号转导通路对于乳腺的重要性正在逐渐被揭开:Wnt 信号转导通路参与调控乳腺各个生理时期的发育以及乳腺上皮细胞命运的决定,并且 Wnt 信号转导通路的错误激活与肿瘤发生、发展有着紧密的联系。

小鼠是研究乳腺干细胞在生理和

病理环境下的行为变化的优良模型。值得一提的是,Wnt 家族与乳腺癌联系的最初发现,也是起始于对一系列极易诱发乳腺癌的小鼠品系研究。起初,这些小鼠的乳腺癌高发被认为是由遗传因素导致的;随后的探索发现,如果隔离刚出生的小鼠转由其他母鼠哺育,则这些小鼠不会发生乳腺癌。这一现象使得母鼠的乳汁成为致癌物质的首要怀疑对象,并且进一步的成分分析找到了一种致病病毒——小鼠乳腺肿瘤病毒(mouse mammary tumor virus, MMTV)<sup>[1-3]</sup>。接着,研究人员通过对比

正常小鼠与乳腺癌高发小鼠的乳腺组织,寻找受到 MMTV 病毒调控的下游靶点,这项研究首次发现了第一个哺乳类的 Wnt 家族的蛋白 int-1,之后称为 Wnt1<sup>[4]</sup>。Wnt1 的发现奠定和推进了原癌基因(proto-oncogenes)的探索,同时也开启了 Wnt 信号通路领域的研究<sup>[4]</sup>。

## 1 Wnt 蛋白家族与 Wnt 信号转导通路

人类及多数的哺乳动物拥有 19 条 Wnt 基因,归类于 12 个亚群,并且它们的序列在进化史上高度保守,具有很强

收稿日期:2016-09-11;修回日期:2016-10-05

作者简介:俞清,博士后,研究方向为成体干细胞,电子信箱:cissyuu@sibcb.ac.cn;曾艺(通信作者),研究员,研究方向为干细胞的微环境信号、干细胞的标记、干细胞的自我更新调控机制等,电子信箱:yzeng@sibcb.ac.cn

引用格式:俞清,曾艺. 粉红丝带引发的思考——Wnt 信号通路在乳腺发育与乳腺癌变中的角色[J]. 科技导报, 2016, 34(20): 5-13; doi: 10.3981/j.issn.1000-7857.2016.20.001

的同源性<sup>[5]</sup>。Wnt 配体经过偶联、级联跨膜受体蛋白 Frizzled (Fzd) 以及共受体 (Lrp5/6) 激活下游的信号通路。Wnt-Fzd 之间的相互作用并不遵循固定的配置, 同一个 Wnt 配体通常可以结合多个 Fzd 受体, 反之亦然。Wnt 家族成员功能多样, 在细胞内能启动多条下游通路。Wnt 蛋白激活的下游信号传导被分为两类: 经典 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路 (canonical) 和非经典信号通路 (non-canonical)。

经典 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路的激活体现在  $\beta$ -catenin 蛋白在核内的积聚, 进而激活核内靶基因的表达。当缺乏 Wnt 配体的结合时, 新生成的  $\beta$ -catenin 蛋白会被包括 APC、Axin 和 GSK-3 蛋白的复合体结合, 经蛋白酶体水解作用而降解。当 Wnt 与 Fzd 结合后, 同属受体家族蛋白的 Dishevelled (Dvl) 被激活, 并抑制下游“毁灭复合体”的形成。当  $\beta$ -catenin 降解复合物去活化后, 细胞内的  $\beta$ -catenin 得以稳定存在, 促使部分  $\beta$ -catenin 进入细胞核与 TCF/LEF 转录因子家族作用并促进特定基因表达<sup>[6]</sup>。经典 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路的重要性体现在其通过直接或间接的调控激活不同的下游靶基因, 广泛参与众多的生理和病理过程。

已知的非经典 Wnt 通路包括平面细胞极性 PCP (planar cell polarity) 通路和 Wnt-Ca<sup>2+</sup> 通路。PCP 通路由 Fzd 受体介导, 通过信使蛋白 Dvl 和 small Rho GTPases 调控激活下游的细胞骨架因子 RhoA 和 Jnk 相关激酶<sup>[7]</sup>。PCP 途径主要调节果蝇发育过程中的细胞的极性及其迁移, 其在哺乳动物中研究得比较少。在 Wnt-Ca<sup>2+</sup> 通路中, Wnt 和 Fzd 受体结合后, 引起细胞内 Ca<sup>2+</sup> 的内涌进而浓度升高, 从而活化蛋白激酶 C (PKC)、CaMKII 或 Calcineurin<sup>[8]</sup>。Wnt-Ca<sup>2+</sup> 通路在哺乳动物的免疫系统发挥着多种调节作用, 并且可以通过激酶受体 Ror2 抑制经典信号通路同时激活 Jnk 通路<sup>[9]</sup>。

## 2 Wnt 信号转导通路在乳腺发育中的作用

Wnt 信号通路的活性影响着乳腺发育的几乎每一个时期, 同时也调控着乳腺上皮干细胞 (mammary stem cell, MaSC) 的体内稳态。随着不同阶段乳腺形态生成 (mammary morphogenesis), 许多 Wnt 通路家族的成员被检测到高表达于正在发育的乳腺结构, 包括一系列的 Wnt 蛋白、受体蛋白、下游作用因子及相应的 DNA 联接蛋白。

在早期的胚胎发育中, 经典 Wnt 信号通路直接促使祖细胞成为具有乳腺谱系特征的细胞群, 并且引导这群细胞在胚胎期 E12 天形成 mammary lines, 为后续 placodes 及初级乳腺导管树 (rudimentary ductal tree) 的形成奠定基础。早期检测到的 Wnt10b 和 Wnt6 蛋白在 mammary line 组织周围的表达也表明 Wnt 通路激活作用于乳腺胚胎发育<sup>[10]</sup>。在小鼠胚胎体外培养体系中, 加入强效的 Wnt 激活剂: Wnt3a 或者氯化锂 (LiCl) 后, 胚胎展示了高效的 placode 相似结构形成及 Wnt10b 表达的提升。此外, 激活  $\beta$ -catenin 分子信号也有效地促进了 placode 的成形和标记分子 Wnt10b、Tbx3 的表达。这些结果提示经典 Wnt 信号通路的传导直接影响胚胎期乳腺 placode 的构成。在 Wnt 信号通路干预实验中, 抑制 Wnt 信号的正调控分子, 包括 Lrp6、Lrp5、Lef1 和 Pygo2, 都会造成 placode 的成形缺陷, 表现为 placode 尺寸过小或衰退。在 *Dkk1* 基因过表达小鼠和 *Lef1* 以及 *Lrp6* 基因缺失小鼠模型的胚胎期研究中同样发现这些小鼠缺失乳腺 placode 结构, 进一步论证了 Wnt 信号对于早期乳腺诱导发育的必要性<sup>[11-14]</sup>。

乳腺的胚胎期发育停止在初级乳腺导管的形成, 而绝大多数的乳腺发育发生在出生后的几个生理阶段, 包括青春期和孕期。小鼠的青春期从约 3 周龄开始, 随着卵巢激素的产生, 已形成的初级乳腺导管树迅速生长扩增并且朝着脂肪垫延伸, 在大约 7 周龄时乳腺

导管结构占据整个乳房脂肪垫。在青春期的乳腺发育过程中, 导管的顶点形成末端芽结构 (terminal end buds, TEB), 它们具有极强的增殖属性, 在其连续增长期间引导新生的乳腺导管穿透脂肪垫进行扩增。TEBs 结构的外层包裹细胞分化成为基底细胞 (basal cells), 与内层的管腔细胞 (luminal cells) 一起构成双细胞层的成熟乳腺导管结构, 这也是未生育和非妊娠期乳腺的 2 个主要的细胞谱系。乳腺的初级导管结构由 TEB 分叉产生, 从这些主导管上再次进行二级横向分支, 形成导管网络的树状形态。短小的三级导管分支则伴随着每次的周期性卵巢激素刺激而形成, 只有在怀孕和哺乳期才进行广泛的结构重塑产生乳腺泡芽和分泌乳汁。断奶后的乳腺也会进行一系列的萎缩过程直至恢复到孕前的结构状态<sup>[15]</sup>。

经典和非经典 Wnt 信号通路在青春期乳腺导管的生长和成体乳腺细胞生理平衡的维护中发挥重要作用。多个 Wnt 蛋白家族的成员在青春期乳腺中表达, 有一些甚至达到表达高峰。其中 Wnt5a 和 Wnt7b 的高表达富集在高度增殖的 TEB 结构, 而 Wnt2 则高表达在上皮导管周围的基质内<sup>[15-16]</sup>。利用蛋白印迹实验发现, 在成熟小鼠的乳腺内, Wnt2、Wnt5a 和 Wnt11 是乳腺基质内表达量最高的 Wnt 蛋白; 在导管的基底细胞中, 高表达的 Wnt 家族成员包括 Wnt5a、Wnt5b、Wnt10a、Wnt11 以及受体拮抗剂 Dkk3、Sfrp1; 而在管腔细胞中, 表达最高的是 Wnt4、Wnt5a、Wnt5b、Wnt7b 和 Wnt 通路的激动剂 Rspo1<sup>[17]</sup> (图 1)。

## 3 Wnt 对乳腺干细胞的调控和命运决定

乳腺干细胞 (MaSCs) 是乳腺自我更新和细胞分化过程中的关键驱动者, 它们的重要性不仅局限于积极的生长发育阶段, 同时也体现在成年乳腺组织稳态的维护中<sup>[18]</sup>。MaSCs 的发现要追

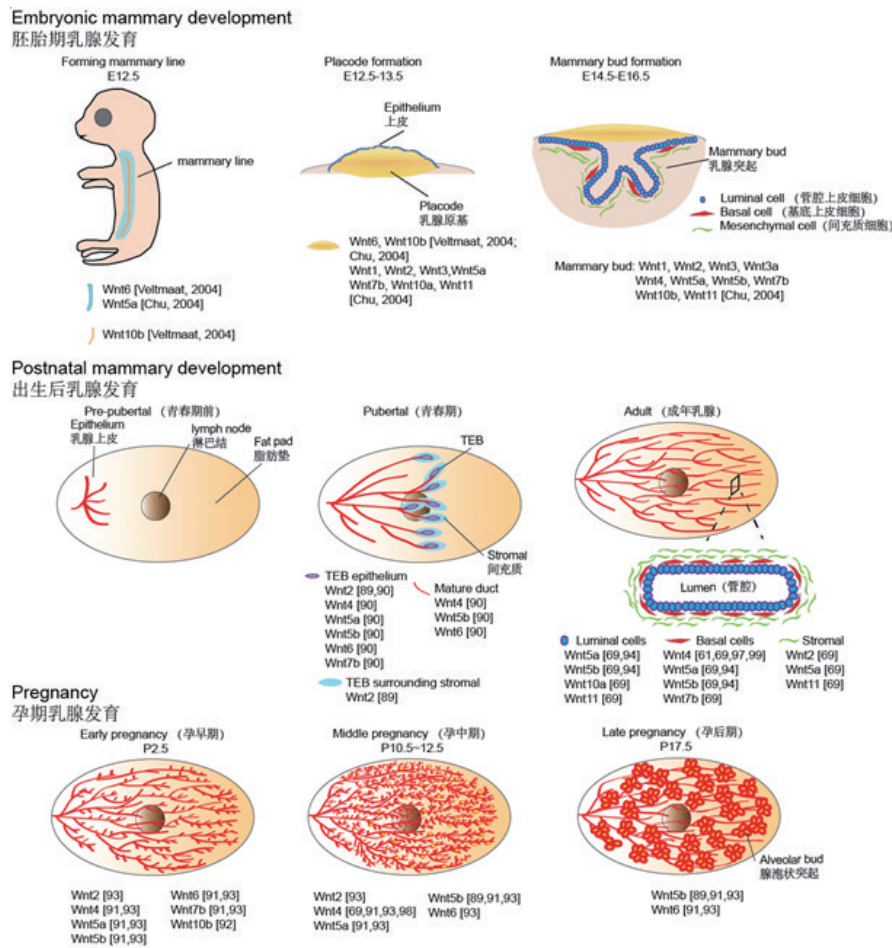


图1 不同发育期中乳腺的Wnt蛋白表达

Fig. 1 Expression of Wnt protein in different development stages of mammary gland

溯到20世纪50年代末,当时的研究人员发现将乳腺上皮组织片段移植到清除后的小鼠脂肪垫内后,移植的组织可以进行乳腺重建<sup>[19]</sup>。这虽然证明了MaSCs的存在,然而对于此类MaSCs的细胞身份却很难考证。随着科研技术的进步发展,近期研究人员已经可以利用流式分选的手段将表达特定细胞表面标记的富集MaSCs的细胞群分离出来,再进行乳腺重建的移植试验验证干细胞特性,以此奠定了建立乳腺上皮组织内不同细胞群之间的谱系结构。在小鼠的乳腺中,富集MaSCs的基底细胞群表达CD24并且高表达CD29/CD49 (CD24<sup>+</sup>, CD29<sup>hi</sup>/CD49<sup>hi</sup>)<sup>[17,20]</sup>;在人的乳腺中,富集MaSCs的基底细胞群可以基于CD49<sup>hi</sup>、EpCAM<sup>+</sup>的标记表达模式获取<sup>[21-22]</sup>。最新研究表明蛋白C受体

(protein C receptor, Procr)可以从基底细胞进一步标记富集MaSCs<sup>[23]</sup>。使用细胞表面分子标记进行MaSCs细胞群富集和分离使得研究人员有机会勘查调控干细胞自我更新和谱系分化的分子信号和机制。越来越多的实验证据表明Wnt是调控乳腺干细胞行为活动的关键因子。

Wnt是直接的维持乳腺内MaSCs的微环境因子<sup>[17,24]</sup>。在体外的3D基质胶培养体系中,在加入Wnt3a蛋白后的培养环境里,原代基底细胞形成次级克隆的效率增加了7倍,并且在连续克隆传代的过程中保持数量的持续增长,而不添加Wnt3a的基底细胞体外培养则没有克隆增殖的能力。此外,添加Wnt3a蛋白培养的基底细胞在多次传代之后的克隆经历了移植实验后仍然

可以建立乳腺重塑,表明含有Wnt3a的体外培养环境维持了MaSCs干细胞的特性<sup>[24]</sup>。在体内,管腔细胞分泌Wnt4和Rspo1,并且以旁分泌的调控方式特异性地影响着周围MaSCs的自我更新。当和过表达Wnt4的管腔细胞共培养时,富集MaSCs的基底细胞展示了极高的克隆扩增能力,与Wnt3a的促进效果相似。除了Wnt4,管腔细胞内Wnt7b的表达量也较突显,然而,用和过表达Wnt7b的管腔细胞同培养并不能提升基底细胞体外克隆形成能力<sup>[17]</sup>。因此,特定的Wnt蛋白可以通过对Wnt信号的激活靶向地增进基底细胞群中MaSCs的增殖和自我更新。

通过对富集MaSCs的细胞群进行RNA表达图谱分析,发现膜受体Procr,一个新的Wnt信号通路靶基因,可以在基底细胞群中更优化地富集MaSCs,使之成为全新的乳腺干细胞的表面标记物<sup>[23]</sup>。利用Procr-tdTomato基因敲入小鼠模型,研究人员进行了Procr蛋白在新生和成年小鼠乳腺组织内表达的实时考察,结果表明新生小鼠乳腺导管的主体和末端以及成年小鼠乳腺的导管的主体都有Procr<sup>+</sup> MaSCs的驻留,但是扩增活跃的TEB结构内没有Procr<sup>+</sup> MaSCs。TEBs包含高表达Axin2的Wnt/ $\beta$ -catenin信号活跃细胞区域<sup>[25-26]</sup>。无论是在青春期发育还是成熟的成年乳腺,Axin2和Procr都标记着不同的两群受Wnt信号通路调控的基底细胞群。所以,除了Wnt通路之外,很可能存在其他的微环境信号机制协同参与调控Procr<sup>+</sup> MaSCs。而在所有Wnt应答的基底细胞里也可以依照不同亚群的乳腺移植重建效率和表型更细致地区分它们的谱系等级。

在多个其他器官的成体干细胞研究中发现,多能干细胞通常处于细胞谱系层次结构中的顶端,在它们的下游存在着细胞周期相对活跃的祖细胞,称为暂增祖细胞(transient amplifying cells, TACs)<sup>[27]</sup>。在乳腺中,TEBs结构中的基底细胞(cap cell,冠细胞)作为周期活跃的干细胞储备,是迅速分化为成熟的

乳腺上皮功能性细胞和带动导管延伸以及主分支形成的主力军<sup>[28-29]</sup>。鉴于冠细胞高效的乳腺移植重建能力,它们高度的增殖特性,以及对 Wnt 信号的响应性,冠细胞被视为乳腺组织中的暂增祖细胞。最新的研究结果也展示, Wnt 信号活性的提升对冠细胞的调控是由 2 个细胞周期蛋白 Cyclin Y (CcnY) 和 Cyclin Y-like 1 (CcnY1) 介导的<sup>[30]</sup>。细胞有丝分裂期间,细胞质膜上的 CcnY 募集细胞周期蛋白依赖性激酶 Cdk14, 致使 Lrp6 上的 PPPSP 基序磷酸化, 增强 Lrp6 对即将到来的 Wnt 信号的敏感度<sup>[31-32]</sup>。CcnY/CcnY1 的表达量和磷酸化的 Lrp6 水平在分裂期间的乳腺细胞内有明显的提升。尤其是 CcnY1 高特异地表达在 TEB 结构的冠细胞内, 和 Axin2 的表达共定位。CcnYs 的缺失显著地削弱了富集 MaSCs 的基底细胞群在体内多谱系分化以及移植后乳腺重建的再生能力。因此, 在有丝分裂中的 Wnt 信号的加强对于干细胞/祖细胞在分裂过程中细胞属性的维护是非常必要的<sup>[30]</sup>。这项研究阐述了 Wnt 信号通路 与细胞周期作用分子的前馈扩张机制, 为细胞周期进程和干细胞特性的维持找到了分子机制上的关联。

Wnt 信号促进 MaSCs 的自我更新和扩张, 同时, 研究也表明 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号的衰减会限制 MaSCs 的自我更新。乳腺的管腔和基底细胞同时分泌 Slit2, Slit2 蛋白仅与基底细胞表达的 Robo1 受体偶联, 而 Robo1 表达量的上调受 TGF 控制<sup>[33-34]</sup>。值得注意的是, TGF 在诱导基底细胞 Robo1 上调的同时, 同样诱导管腔细胞 Wnt5a 的表达。在  $\beta$ -catenin 蛋白在细胞内总量保持不变的情况下, Slit / Robo1 信号传导能够维稳增加细胞质内  $\beta$ -catenin 蛋白的含有量, 减少消耗核内  $\beta$ -catenin 的比例, 以此抑制核内 Wnt/ $\beta$ -catenin 对下游靶基因的激活进而限制基底细胞的扩增<sup>[33]</sup>。有意思的是, 虽然同属一个家族的 Robo1 或者 Robo2 的失活可以相仿地引起乳腺基底细胞核内  $\beta$ -catenin 比例的提高, 但是最终对特定细胞表型

的影响却不一致: Robo1 的失活提升基底细胞的增殖, 而 Robo2 的失活却增进了乳腺干细胞的自我更新, 这点通过连续的体外传代和移植重建实验得到了论证。进一步的研究发现, Slit/Robo2 相互作用抵消了 Wnt 信号介导的对 p16<sup>INK4a</sup> 蛋白的抑制, 进而阻碍 MaSCs 的自我更新同时促进了 MaSC 的衰老<sup>[35]</sup>。这些研究结果表明, Wnt/ $\beta$ -catenin 信号传导是一个可多变的调控机制, 它动态地参与了包括 MaSC 和其分化下游不同亚群的基底细胞的稳态维持。

一个成熟乳腺的导管网络的建立需要多个上皮细胞谱系之间的协调作用和相辅相成。一般而言, Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路推动着乳腺基底细胞的命运抉择<sup>[36-37]</sup>; 只有在胚胎发育期, 响应 Wnt 信号的 Axin2<sup>+</sup> 细胞会最终成为管腔谱系的细胞。另外, Notch 信号通路是影响管腔细胞谱系命运决定的重要机制<sup>[38-39]</sup>。因此, Wnt 和 Notch 信号通路之间传导活性平衡也影响分化过程中细胞命运的决定。Pygo2 是已知 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号介导靶基因转录过程中的共激活剂。研究发现, MaSC/基底细胞中的 Pygo2 与  $\beta$ -catenin 构成的复合体有效地结合在 Notch3 的基因座, 使 Notch3 保持在一个静态(抑制转录状态)的染色质结构, 从而通过侧重 Wnt 信号通路的传导提升 MaSC 分化中基底细胞表型的选择<sup>[37]</sup>。

#### 4 运用 Wnt 靶基因进行乳腺细胞谱系示踪

将细胞或者组织移植到受体脂肪垫是最常用的考察干细胞乳腺重建特性以及细胞命运的实验手段。但是有建议表明, 这种移植实验或许不能反映干细胞在体内的真实行为。组织分离并移植到受体的过程可能给予细胞压力而造成细胞可塑性变化, 并使其发展出无法在正常组织中展现的特征<sup>[39]</sup>。谱系示踪研究避开了前绪的人为操作, 直观地展示生理条件下的细胞命运变化。谱系示踪为探索乳腺发育过程中 Wnt 信号响应细胞的行为提供了很好

的平台。

Axin2<sup>+</sup> 乳腺细胞的重建能力已在移植实验中被证明<sup>[24]</sup>。为了探究 Wnt 响应 (Axin2<sup>+</sup>) 细胞在乳腺发育过程中的作用, van Amerongen 和同事们利用 Axin2<sup>CreERT2</sup> 基因插入小鼠模型在整个乳腺发育过程中进行细胞标记。实验中发现, 在胚胎期标记的 Axin2<sup>+</sup> 细胞的子代出现在成年后的管腔细胞层; 而在青春期中 (2 周龄) 进行诱导示踪的小鼠, Axin2<sup>+</sup> 细胞仅能在基底层被观测到。这些数据表明了 Axin2<sup>+</sup> 的细胞命运调控方式在不同生理时期存在区别。事实上, 在青春期的乳芽, 其基底以及管腔细胞中均有 Axin2 的表达。在这个时期诱导示踪 Axin2<sup>+</sup> 细胞, 将能够在成体的 luminal 和 basal 层内同时观测到被标记的细胞。当示踪小鼠在未成年阶段时, Axin2 的表达将会主要局限在基底细胞层, 因而被标记的细胞主要为基底细胞。有趣的是, 这种罕见的细胞双能性现象在诱导示踪的孕期小鼠身上更容易被观察到, 被标记的 luminal 细胞同被标记的 basal 细胞紧邻, 这意味着这两种被标记的细胞可能起源于同一种双能乳腺干细胞<sup>[26]</sup>。

Lgr5 是已知的存在于小肠细胞内的 Wnt 靶基因及干细胞标志<sup>[40]</sup>, 其在乳腺发育过程中也表现出不同生理期间表达模式的切换。在新生小鼠的乳腺中, Lgr5 仅在管腔细胞层表达。利用 Lgr5<sup>CreERT2</sup> 基因插入小鼠进行新生乳腺的遗传示踪实验展现了被标记的管腔细胞及其子代在成年后的乳腺内依然维持着管腔细胞的谱系命运。然而进入青春期后, Lgr5 的表达会切换至基底细胞层, 实验显示在出生后第 12 天进行谱系标记, Lgr5 表达细胞及其子代只能标记上成年乳腺的基底细胞<sup>[41]</sup>。此外, 基于近年的研究结论, 乳腺中 Lgr5 仍未被确证为 Wnt/ $\beta$ -catenin 的靶点<sup>[39]</sup>。因为现有的实验结果显示, 高表达 Wnt 通路靶基因 Axin2<sup>+</sup> 的细胞并不富集 Lgr5<sup>+</sup> 细胞。其次, 对富集 MaSCs 的基底细胞进行基因表达谱分析后发现, 加入 Wnt3a 蛋白的培养条件下,

Lgr5 并没有像 Axin2 与 Procr 一样被上调<sup>[23]</sup>。但是,在添加了 Wnt3a 的培养体系中,MMTV-Wnt1 乳腺肿瘤细胞和人类乳腺肿瘤细胞中的 Lgr5 表达量均被上调<sup>[42]</sup>。虽然目前乳腺细胞中 Lgr5 上游的调控机制并不清楚,但是青春期前乳腺细胞的 Lgr5 与 Axin2 经历相似的从管腔细胞切换到基底细胞的表达模式转换,提示共同调控机制的存在。

最近,笔者所在实验室鉴别了 Procr 作为乳腺细胞中新的 Wnt 靶点。研究发现 Procr 特异地表达在乳腺上皮的基底细胞中,并且 Procr<sup>+</sup>细胞在基底细胞中所占比例十分稳定,在各个发育阶段基本保持在 3%~8%(因小鼠背景而异)。利用 Procr<sup>CreERT2</sup> 基因插入小鼠进行谱系示踪实验中发现,被标记上的 Procr<sup>+</sup>细胞子代在多个发育阶段都同时包含了基底和管腔细胞。在青春期间用白喉毒素 A (DTA) 条件性杀伤 Procr<sup>+</sup>细胞后导致上皮伸展延迟。这项研究明确了 Procr<sup>+</sup>基底细胞为一种多能性乳腺干细胞,其在乳腺发育过程中起着至关重要的作用。此外,Procr<sup>+</sup>乳腺干细胞表现出上皮细胞至间充质转化 (epithelial-mesenchymal transition, EMT) 的表型。与其他基底细胞群相比,Procr<sup>+</sup>细胞的角蛋白 (Keratin14 和 Keratin5) 表达量约低 2 倍,且平滑肌相关因子 (SMA 和 Myh11) 的表达量约低 3 倍<sup>[23]</sup>。标签基因的表达差异证实先前仅用角蛋白或 SMA 进行谱系示踪,所观察到的细胞层次间的转变是不全面的<sup>[43-45]</sup>。

基于我们对乳腺细胞内多种标记物认知的更新,目前已有工作开展,着重于研究确立不同基底细胞亚群之间的关系。利用 Lgr5<sup>EGFP</sup> 报告小鼠和 Procr 抗体进行的流式分析实验表明,Lgr5<sup>+</sup>和 Procr<sup>+</sup>是两群不同的基底细胞。对分离出的 Procr<sup>+</sup>和 Procr<sup>-</sup>细胞进行转录组和 qPCR 数据分析,证明了 Lgr5 在 Procr 阴性细胞中表达。在小鼠的乳腺移植实验中,Procr<sup>+</sup> MaSCs 表现出最高的乳腺重建能力,而 Lgr5<sup>+</sup>基底细胞相比之下仅有约 1/10 的效能。Procr<sup>-</sup>、Lgr5<sup>-</sup>的

细胞在体内和体外重建实验均以失败告终,这表明这群细胞中不存在乳腺干细胞<sup>[23]</sup>。同样地,也有实验对 Procr<sup>+</sup>和 Axin2<sup>+</sup>细胞群进行对比。转录组和 qPCR 数据分析结果表明,Procr<sup>+</sup>细胞中的 Axin2 表达并不丰富,这表明这两群细胞在很大程度上并不重叠,只有非常小比例的 Procr<sup>+</sup>细胞被发现表达 Axin2,提示在 Axin2<sup>CreER</sup> 小鼠谱系示踪实验中观察到极少的细胞能展示多能性可能是依赖于表达 Procr 的 Axin2<sup>+</sup>细胞<sup>[26]</sup>。

以上谱系示踪及移植实验均表明,在基底细胞层内存在着不同亚群,它们之间依照分化和重建潜能的不同存在着严谨的等级排序。遗传示踪实验结果显示 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号在多能乳腺干细胞和各谱系祖细胞的命运决定有紧密的关联,这也突显了遗传示踪技术在细胞原生环境中观察细胞命运的优越性。

## 5 Wnt 信号转导通路 与 乳腺癌 的联系

研究运用小鼠模型有力地表明,Wnt 信号传导的失调会直接增加肿瘤生成和癌症发生的风险。从 MMTV-Wnt1 小鼠乳腺肿瘤发现的 Wnt1 致癌作用开始,越来越多的研究证据展示了 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路异常与人类乳腺癌发生之间的关联。Wnt10b 蛋白的转基因表达被证明在乳腺里可以产生与 MMTV-Wnt1 肿瘤相似的表型<sup>[46]</sup>。此外,Lrp6 膜受体的过表达、稳定  $\beta$ -catenin 使其抗降解、以及损失 APC,都会导致小鼠乳腺的组织增生或肿瘤生成<sup>[47]</sup>。Rspo 蛋白家族是 Wnt 信号的共激动剂,最近的研究发现了 Rspo 蛋白与乳腺肿瘤形成有牵连:在 MMTV 插入诱变的乳腺肿瘤所涉及的基因表达变化筛选研究中观察到 Rspo2 和 Rspo3 基因在肿瘤组织中有高度激活<sup>[48-49]</sup>。此外,在乳腺上皮细胞中,单独或者同时过表达 Wnt1 和 Rspo2 都可以诱发乳腺肿瘤的形成,并且这些肿瘤细胞呈现出 EMT 的表型,极易引发后续肺部和脾脏的转移<sup>[50]</sup>。值得一提的是,MMTV-

Wnt1 小鼠的乳腺肿瘤细胞在其转录组表达图谱上和人类三阴性 (triple-negative breast cancer, TNBC) / 基底细胞起源乳腺癌拥有很高的相似度<sup>[51]</sup>。除此之外,现有的研究也显示,Lrp6 和核定位  $\beta$ -catenin 的失调与 TNBC 有密切的联系<sup>[52-53]</sup>。

虽然在人类乳腺癌病例中,Wnt 信号通路成员的基因突变并不常见,但是 Wnt 信号的过度激活却经常在三阴性/基底样乳腺癌病例中呈现。三阴性乳腺癌在诊断上表现为激素受体表达阴性 (Estrogen receptor, ER<sup>-</sup>; Progesterone receptor, PR<sup>-</sup>) 和 HER2 低表达。这个亚型占有新增乳腺癌诊断病例的 15%~20%,在临床上表现为高癌症等级,癌变组织具有干细胞特性,细胞活性高,侵入性强,具有特异的转移模式并且此类病人的相对存活率低<sup>[54-55]</sup>。Wnt 信号的激活,伴随着核定位  $\beta$ -catenin 增强和靶基因 *Cyclin D1* 表达量激增,频繁地在有强侵入性的三阴性乳腺癌亚型中被检测到,这类病例也面临较差的预后诊断<sup>[56]</sup>。再者,在三阴性和基底样癌症中,Wnt/ $\beta$ -catenin 通路过度激活导致其直接下游靶基因 *DKK1* 表达量的骤增;而 *DKK1* 的高表达也和病例的预后不良相关联<sup>[57-59]</sup>。

APC 或者  $\beta$ -catenin 的编码基因突变是引起肝癌和肠癌的主要导火索<sup>[6]</sup>,但它们与乳腺癌的关联并不显著。研究至今,大概有 6% 被报道乳腺癌存在 APC 基因突变的现象,目前尚未观察到 *CTNNB1* ( $\beta$ -catenin 的编码基因) 在乳腺癌中的突变<sup>[60-61]</sup>。虽然基因突变并不常见,但是在高达 70% 的乳腺癌病例及乳腺癌细胞系都检测出了 Wnt 通路相关成员,尤其是负调控分子表达的失衡及表观遗传沉默 (Epigenetic silencing)<sup>[62-64]</sup>。例如,*DKK1* 和 *DKK3* 的启动子甲基化已经在乳腺癌病例中被报道<sup>[65]</sup>。另一个频繁观测到的改变是通过 DNA 甲基化使得 sFRP 家族的编码基因被表观遗传沉默,随之造成 Wnt 信号通路的细胞外拮抗剂缺失,接踵引发 Wnt 传导负调控的失衡和信号通路

的过度激活。sFRP家族的表现遗传沉默也被观测到与乳腺癌的预后不良有牵连<sup>[66-67]</sup>。当在TNBC细胞系MDA-MB-231中异位表达sFRP1后,sFRP1高效地与FZD受体竞争和Wnt配体的结合,减弱Wnt配体对FZD受体的偶联及信号通路的激活。在后续的小鼠脂肪垫移植实验中,异位表达的sFRP1减弱了MB231细胞生成原位乳腺癌的效率,并且降低了肺转移的机率<sup>[68]</sup>。另一个Wnt的拮抗剂——WIF1,也被检测到因为其启动子的甲基化在60%的乳腺癌中呈现表达量的下调<sup>[69]</sup>。

受体激活的失调是引起Wnt/ $\beta$ -catenin信号在乳腺癌中亢进传导的重要因素。例如在乳腺癌病变中检测到的LRP5基因的剪接异常,使得LRP5受体的膜外端蛋白结构改变,导致拮抗剂DKK1无法与其偶联并抑制通路激活<sup>[70]</sup>。相应地,研究报道干扰Wnt配体和膜蛋白受体的结合可以产生抑制肿瘤的效果。Wnt受体成员之一FZD7特异性的表达升高是三阴性乳腺癌的典型标记<sup>[71]</sup>。体外研究发现,在MBA-MD-231和BT-20两株三阴性癌细胞系中削弱FZD7的表达,可以减少 $\beta$ -catenin在核内的积聚,抑制TCF7的转

录活性,并降低在受体小鼠体内的致癌能力<sup>[72]</sup>。这些研究中的Wnt配体来源可能是癌细胞本身,多种癌细胞株包括MDA-MB-231细胞系,都可以自分泌Wnt信号<sup>[73-74]</sup>。结合以上的报道,研究人员随之也探索了以抑制配体-受体相互作用为手段的肿瘤抑制方案,并且发现,在MMTV-Wnt1小鼠乳腺注射FZD8胞外端蛋白结构可以竞争性地结合周围Wnt配体并且对肿瘤形成有抑制作用<sup>[75]</sup>。

Dvl是细胞质内Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路的正调控因子,Dvl表达的上调已在原发性乳腺癌中被观测到<sup>[76-77]</sup>。更进一步地,多种Dvl抑制分子的编码基因在肿瘤发生时被表现遗传地沉默了。NKD2(naked cuticle homolog 2)通常通过与Dvl相互作用拮抗Wnt信号的传导。在人原发性乳腺癌中有50%以上的肿瘤样品检测到了NKD2启动子被甲基化沉默,减少的NKD2表达削弱了对Dvl的活性抑制,间接助进了Wnt/ $\beta$ -catenin信号的传导<sup>[78-79]</sup>。同样地,DACT1(Dapper/Frodo)是另一个通过与Dvl相互作用来抑制Wnt/ $\beta$ -catenin信号传导的拮抗剂。在乳腺癌细胞株中DACT1基因表达经常是被沉默

的,并且在乳腺癌的肿瘤样品中DACT1的蛋白质含量也相对减少<sup>[80]</sup>。因此,Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路的拮抗剂可以作为肿瘤抑制分子发挥作用,并且它们的表达在乳腺癌病例中都有不同程度的下调。

## 6 结论

Wnt信号转导通路是维持胚胎和成体乳腺正常发育的关键机制,而其过度激活与乳腺肿瘤形成及癌变,尤其是具有强组织侵入特征的三阴性/基底样亚型乳腺癌有强烈的关联。过去10年中,我们对乳腺细胞异质性的认识有了显著的进步,主要归功于研究探索到的不同上皮亚群和干细胞标志物。随着新标志物的发现,我们能够更好地识别和富集MaSCs,并且考查MaSCs和不同亚群的乳腺细胞在乳腺发育和病变中的作用。目前的研究对于乳腺细胞谱系的各级祖细胞和分化细胞的身份属性和其层次关系尚未完全阐明。Wnt信号如何与其他信号协调作用来决定乳腺细胞的命运仍未清楚。这些问题的解答将有助于阐明乳腺癌各亚型的细胞起源和致病原理,为乳腺癌的治疗提供新靶点和新策略。

## 参考文献(References)

- [1] Bittner J J. Some possible effects of nursing on the mammary gland tumor incidence in mice[J]. Science, 1936, 84: 162-169.
- [2] Korteweg R. Genetically determined differences in hormone production a possible factor influencing the susceptibility to mammary cancer in mice[J]. British Journal of Cancer, 1948(2): 91-94.
- [3] Lyons M J, Moore D H. Purification of the mouse mammary tumour virus[J]. Nature, 1962, 194: 1141-1142.
- [4] Nusse R, Varmus H E. Many tumors induced by the mouse mammary tumor virus contain a provirus integrated in the same region of the host genome[J]. Cell, 1982, 31: 99-109.
- [5] Clevers H, Nusse R. Wnt/ $\beta$ -catenin signaling and disease[J]. Cell, 2012, 149: 1192-1205.
- [6] Eastman Q, Grosschedl R. Regulation of LEF-1/TCF transcription factors by Wnt and other signals[J]. Current Opinion in Cell Biology, 1999, 11: 233-240.
- [7] Schambony A, Kunz M, Gradl D. Cross-regulation of Wnt signaling and cell adhesion[J]. Differentiation, 2004, 72(7): 307-318.
- [8] Kuhl M, Sheldahl L C, Malbon C C, et al. Ca(2+)/calmodulin-dependent protein kinase II is stimulated by Wnt and Frizzled homologs and promotes ventral cell fates in Xenopus[J]. Journal of Biological Chemistry, 2000, 275: 12701-12711.
- [9] Minami Y, Oishi I, Endo M, et al. Ror-family receptor tyrosine kinases in noncanonical Wnt signaling: Their implications in developmental morphogenesis and human diseases[J]. Developmental Dynamics, 2010, 239: 1-15.
- [10] Veltmaat J M, Van Veelen W, Thiery J P, et al. Identification of the mammary line in mouse by Wnt10b expression[J]. Developmental Dynamics, 2004, 229: 349-356.
- [11] Gu B, Sun P, Yuan Y, et al. Pygo2 expands mammary progenitor cells by facilitating histone H3 K4 methylation[J]. Journal of Cell Biology, 2009, 185: 811-826.
- [12] Lindvall C, Evans N C, Zylstra C R, et al. The Wnt signaling receptor Lrp5 is required for mammary ductal stem cell activity and Wnt1-induced tumorigenesis[J]. Journal of Biological Chemistry, 2006, 281: 35081-35087.

- [13] Lindvall C, Zylstra C R, Evans N, et al. The Wnt co-receptor Lrp6 is required for normal mouse mammary gland development[J]. *PLoS One*, 2009, 4: e5813.
- [14] van Genderen C, Okamura R M, Farinas I, et al. Development of several organs that require inductive epithelial-mesenchymal interactions is impaired in LEF-1-deficient mice[J]. *Genes & Development*, 1994, 8: 2691-2703.
- [15] Macias H, Hinck L. Mammary gland development. *Wiley interdisciplinary reviews*[J]. *Developmental Biology*, 2012, 1: 533-557.
- [16] Buhler T A, Dale T C, Kieback C, et al. Localization and quantification of Wnt-2 gene expression in mouse mammary development[J]. *Developmental Biology*, 1993, 155: 87-96.
- [17] Cai C, Yu Q C, Jiang W, et al. R-spondin1 is a novel hormone mediator for mammary stem cell self-renewal[J]. *Genes & Development*, 2014, 28: 2205-2218.
- [18] Visvader J E. Keeping abreast of the mammary epithelial hierarchy and breast tumorigenesis[J]. *Genes & Development*, 2009, 23: 2563-2577.
- [19] Deome K B, Faulkin L J, Jr, Bern H A, et al. Development of mammary tumors from hyperplastic alveolar nodules transplanted into gland-free mammary fat pads of female C3H mice[J]. *Cancer Research*, 1959, 19: 515-520.
- [20] Stingl J, Eirew P, Ricketson I, et al. Purification and unique properties of mammary epithelial stem cells[J]. *Nature*, 2006, 439: 993-997.
- [21] Eirew P, Stingl J, Raouf A, et al. A method for quantifying normal human mammary epithelial stem cells with in vivo regenerative ability[J]. *Nature Medicine*, 2008, 14: 1384-1389.
- [22] Lim E, Vaillant F, Wu D, et al. Aberrant luminal progenitors as the candidate target population for basal tumor development in BRCA1 mutation carriers [J]. *Nature Medicine*, 2009, 15: 907-913.
- [23] Wang D, Cai C, Dong X, et al. Identification of multipotent mammary stem cells by protein C receptor expression[J]. *Nature*, 2015, 517: 81-84.
- [24] Zeng Y A, Nusse R. Wnt proteins are self-renewal factors for mammary stem cells and promote their long-term expansion in culture[J]. *Cell Stem Cell*, 2010, 6: 568-577.
- [25] Roarty K, Shore A N, Creighton C J, et al. Ror2 regulates branching, differentiation, and actin-cytoskeletal dynamics within the mammary epithelium[J]. *Journal of Cell Biology*, 2015, 208: 351-366.
- [26] van Amerongen R, Bowman A N, Nusse R. Developmental stage and time dictate the fate of Wnt/beta-catenin-responsive stem cells in the mammary gland[J]. *Cell Stem Cell*, 2012, 11: 387-400.
- [27] Li L, Clevers H. Coexistence of quiescent and active adult stem cells in mammals[J]. *Science*, 2010, 327: 542-545.
- [28] Srinivasan K, Strickland P, Valdes A, et al. Netrin-1/neogenin interaction stabilizes multipotent progenitor cap cells during mammary gland morphogenesis[J]. *Developmental Cell*, 2003, 4: 371-382.
- [29] Williams J M, Daniel C W. Mammary ductal elongation: Differentiation of myoepithelium and basal lamina during branching morphogenesis[J]. *Developmental Biology*, 1983, 97: 274-290.
- [30] Zeng L, Cai C, Li S, et al. Essential roles of cyclin Y-like 1 and cyclin Y in dividing Wnt-responsive mammary stem/progenitor cells[J]. *PLoS Genetics*, 2016, 12: e1006055.
- [31] Davidson G, Shen J, Huang Y L, et al. Cell cycle control of wnt receptor activation[J]. *Developmental Cell*, 2009, 17: 788-799.
- [32] Jiang M, Gao Y, Yang T, et al. Cyclin Y, a novel membrane-associated cyclin, interacts with PFTK1[J]. *FEBS Letters*, 2009, 583: 2171-2178.
- [33] Macias H, Moran A, Samara Y, et al. SLIT/ROBO1 signaling suppresses mammary branching morphogenesis by limiting basal cell number[J]. *Developmental Cell*, 2011, 20: 827-840.
- [34] Strickland P, Shin G C, Plump A, et al. Slit2 and netrin 1 act synergistically as adhesive cues to generate tubular bi-layers during ductal morphogenesis [J]. *Development*, 2006, 133: 823-832.
- [35] Harburg G, Compton J, Liu W, et al. SLIT/ROBO2 signaling promotes mammary stem cell senescence by inhibiting Wnt signaling[J]. *Stem Cell Reports*, 2014, 3: 385-393.
- [36] Chakrabarti R, Wei Y, Hwang J, et al. DeltaNp63 promotes stem cell activity in mammary gland development and basal-like breast cancer by enhancing Fzd7 expression and Wnt signalling[J]. *Nature Cell Biology*, 2014, 16: 1004-1015.
- [37] Gu B, Watanabe K, Sun P, et al. Chromatin effector Pygo2 mediates Wnt-notch crosstalk to suppress luminal/alveolar potential of mammary stem and basal cells[J]. *Cell Stem Cell*, 2013, 13: 48-61.
- [38] Fu N, Lindeman G J, Visvader J E. The mammary stem cell hierarchy[J]. *Current Topics in Developmental Biology*, 2014, 107: 133-160.
- [39] Visvader J E, Stingl J. Mammary stem cells and the differentiation hierarchy: Current status and perspectives[J]. *Genes & Development*, 2014, 28: 1143-1158.
- [40] Barker N, van Es J H, Kuipers J, et al. Identification of stem cells in small intestine and colon by marker gene Lgr5[J]. *Nature*, 2007, 449: 1003-1007.
- [41] de Visser K E, Ciampicotti M, Michalak E M, et al. Developmental stage-specific contribution of LGR5(+) cells to basal and luminal epithelial lineages in the postnatal mammary gland[J]. *Journal of Pathology*, 2012, 228: 300-309.
- [42] Zhang M Z, Ferrigno O, Wang Z, et al. TGF $\beta$  governs a feed-forward network that empowers Wnt signaling to drive mammary tumorigenesis[J]. *Cancer Cell*, 2015, 27: 547-560.
- [43] Prater M D, Petit V, Alasdair Russell I, et al. Mammary stem cells have myoepithelial cell properties[J]. *Nature Cell Biology*, 2014, 16: 942-950.
- [44] Rios A C, Fu N Y, Lindeman G J, et al. In situ identification of bipotent stem cells in the mammary gland[J]. *Nature*, 2014, 506: 322-327.
- [45] Van Keymeulen A, Rocha A S, Ousset M, et al. Distinct stem cells contribute to mammary gland development and maintenance[J]. *Nature*, 2011, 479: 189-193.
- [46] Lane T F, Leder P. Wnt-10b directs hypermorphic development and transformation in mammary glands of male and female mice[J]. *Oncogene*, 1997, 15:

- 2133–2144.
- [47] Incassati A, Chandramouli A, Eelkema R, et al. Key signaling nodes in mammary gland development and cancer: Beta-catenin[J]. *Breast Cancer Research: BCR*, 2010, 12: 213.
- [48] Lowther W, Wiley K, Smith G H, et al. A new common integration site, Int7, for the mouse mammary tumor virus in mouse mammary tumors identifies a gene whose product has furin-like and thrombospondin-like sequences[J]. *Journal of Virology*, 2005, 79: 10093–10096.
- [49] Theodorou V, Kimm M A, Boer M, et al. MMTV insertional mutagenesis identifies genes, gene families and pathways involved in mammary cancer[J]. *Nature Genetics*, 2007, 39: 759–769.
- [50] Klauzinska M, Baljinnam B, Raafat A, et al. Rspo2/Int7 regulates invasiveness and tumorigenic properties of mammary epithelial cells[J]. *Journal of Cellular Physiology*, 2012, 227: 1960–1971.
- [51] Herschkowitz J I, Simin K, Weigman V J, et al. Identification of conserved gene expression features between murine mammary carcinoma models and human breast tumors[J]. *Genome Biology*, 2007, 8: R76. doi: 10.1186/gb-2007-8-5-r76.
- [52] Khramtsov A I, Khramtsova G F, Tretiakova M, et al. Wnt/beta-catenin pathway activation is enriched in basal-like breast cancers and predicts poor outcome[J]. *The American Journal of Pathology*, 2010, 176: 2911–2920.
- [53] Liu C C, Prior J, Piwnica-Worms D, et al. LRP6 overexpression defines a class of breast cancer subtype and is a target for therapy[J]. *PNAS*, 2010, 107: 5136–5141.
- [54] Foulkes W D, Smith I E, Reis-Filho J S. Triple-negative breast cancer[J]. *New England Journal of Medicine*, 2010, 363: 1938–1948.
- [55] Lehmann B D, Bauer J A, Chen X, et al. Identification of human triple-negative breast cancer subtypes and preclinical models for selection of targeted therapies[J]. *Journal of Clinical Investigation*, 2011, 121: 2750–2767.
- [56] Lopez-Knowles E, Zardawi S J, McNeil C M, et al. Cytoplasmic localization of beta-catenin is a marker of poor outcome in breast cancer patients[J]. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*, 2010, 19: 301–309.
- [57] Forget M A, Turcotte S, Beauseigle D, et al. The Wnt pathway regulator DKK1 is preferentially expressed in hormone-resistant breast tumours and in some common cancer types[J]. *British Journal of Cancer*, 2007, 96: 646–653.
- [58] Niida A, Hiroko T, Kasai M, et al. DKK1, a negative regulator of Wnt signaling, is a target of the beta-catenin/TCF pathway[J]. *Oncogene*, 2004, 23: 8520–8526.
- [59] Xu W H, Liu Z B, Yang C, et al. Expression of dickkopf-1 and beta-catenin related to the prognosis of breast cancer patients with triple negative phenotype[J]. *PLoS One*, 2012, 7: e37624.
- [60] Furuuchi K, Tada M, Yamada H, et al. Somatic mutations of the APC gene in primary breast cancers[J]. *The American Journal of Pathology*, 2000, 156: 1997–2005.
- [61] Sorlie T, Bukholm I, Borresen-Dale A L. Truncating somatic mutation in exon 15 of the APC gene is a rare event in human breast carcinomas. Mutations in brief no. 179. Online[J]. *Human Mutation*, 1998, 12: 215.
- [62] Ozaki S, Ikeda S, Ishizaki Y, et al. Alterations and correlations of the components in the Wnt signaling pathway and its target genes in breast cancer[J]. *Oncology Reports*, 2005, 14: 1437–1443.
- [63] Prasad C P, Mirza S, Sharma G, et al. Epigenetic alterations of CDH1 and APC genes: Relationship with activation of Wnt/beta-catenin pathway in invasive ductal carcinoma of breast[J]. *Life Sciences*, 2008, 83: 318–325.
- [64] Van der Auwera I, Van Laere S J, Van den Bosch S M, et al. Aberrant methylation of the Adenomatous Polyposis Coli (APC) gene promoter is associated with the inflammatory breast cancer phenotype[J]. *British Journal of Cancer*, 2008, 99: 1735–1742.
- [65] Veeck J, Wild P J, Fuchs T, et al. Prognostic relevance of Wnt-inhibitory factor-1 (WIF1) and Dickkopf-3 (DKK3) promoter methylation in human breast cancer[J]. *BMC Cancer*, 2009, 9: 217.
- [66] Klopocki E, Kristiansen G, Wild P J, et al. Loss of SFRP1 is associated with breast cancer progression and poor prognosis in early stage tumors[J]. *International Journal of Oncology*, 2004, 25: 641–649.
- [67] Veeck J, Geisler C, Noetzel E, et al. Epigenetic inactivation of the secreted frizzled-related protein-5 (SFRP5) gene in human breast cancer is associated with unfavorable prognosis[J]. *Carcinogenesis*, 2008, 29: 991–998.
- [68] Matsuda Y, Schlange T, Oakeley E J, et al. WNT signaling enhances breast cancer cell motility and blockade of the WNT pathway by sFRP1 suppresses MDA-MB-231 xenograft growth[J]. *Breast cancer research: BCR*, 2009, 11: R32. doi: 10.1186/bcr2317.
- [69] Ai L, Tao Q, Zhong S, et al. Inactivation of Wnt inhibitory factor-1 (WIF1) expression by epigenetic silencing is a common event in breast cancer[J]. *Carcinogenesis*, 2006, 27: 1341–1348.
- [70] Bjorklund P, Svedlund J, Olsson A K, et al. The internally truncated LRP5 receptor presents a therapeutic target in breast cancer[J]. *PLoS One*, 2009, 4: e4243.
- [71] Sorlie T, Tibshirani R, Parker J, et al. Repeated observation of breast tumor subtypes in independent gene expression data sets[J]. *PNAS*, 2003, 100: 8418–8423.
- [72] Yang L, Wu X, Wang Y, et al. FZD7 has a critical role in cell proliferation in triple negative breast cancer[J]. *Oncogene*, 2011, 30: 4437–4446.
- [73] Bafico A, Liu G, Goldin L, et al. An autocrine mechanism for constitutive Wnt pathway activation in human cancer cells[J]. *Cancer Cell*, 2004, 6: 497–506.
- [74] Schlange T, Matsuda Y, Lienhard S, et al. Autocrine WNT signaling contributes to breast cancer cell proliferation via the canonical WNT pathway and EGFR transactivation[J]. *Breast cancer research: BCR*, 2007, 9: R63. doi: 10.1186/bcr1769.
- [75] DeAlmeida V I, Miao L, Ernst J A, et al. The soluble wnt receptor Frizzled8CRD-hFc inhibits the growth of teratocarcinomas in vivo[J]. *Cancer Re-*

- search, 2007, 67: 5371-5379.
- [76] Nagahata T, Shimada T, Harada A, et al. Amplification, up-regulation and over-expression of DVL-1, the human counterpart of the *Drosophila* dishevelled gene, in primary breast cancers[J]. *Cancer Science*, 2003, 94: 515-518.
- [77] Prasad C P, Gupta S D, Rath G, et al. Wnt signaling pathway in invasive ductal carcinoma of the breast: Relationship between beta-catenin, dishevelled and cyclin D1 expression[J]. *Oncology*, 2007, 73: 112-117.
- [78] Dong Y, Cao B, Zhang M, et al. Epigenetic silencing of NKD2, a major component of Wnt signaling, promotes breast cancer growth[J]. *Oncotarget*, 2015, 6: 22126-22138.
- [79] Li C, Franklin J L, Graves-Deal R, et al. Myristoylated Naked2 escorts transforming growth factor alpha to the basolateral plasma membrane of polarized epithelial cells[J]. *PNAS*, 2004, 101: 5571-5576.
- [80] Yin X, Xiang T, Li L, et al. DACT1, an antagonist to Wnt/beta-catenin signaling, suppresses tumor cell growth and is frequently silenced in breast cancer[J]. *Breast Cancer Research: BCR*, 2013, 15: R23. doi: 10.1186/ber3399.

## Mammary development and breast cancer: A Wnt prospective

YU Qing, ZENG Yi

State Key Laboratory of Cell Biology, Institute of Biochemistry and Cell Biology, Shanghai Institutes for Biological Sciences, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200031, China

**Abstract** The Wnt pathway has emerged as a key signaling cascade participating in mammary organogenesis and breast oncogenesis. This paper reviews the current knowledge of how the pathway regulates the stem cells and the normal development of the mammary gland, and how its various components contribute to the breast carcinoma pathology.

**Keywords** Wnt; mammary organogenesis; stem cells; breast carcinoma

(责任编辑 王媛媛)