

靶向结直肠癌 Wnt 信号通路的药物研究进展

王与菲, 张海婧, 吴练秋*

(中国医学科学院、北京协和医学院药物研究所, 天然药物活性物质与功能国家重点实验室, 北京 100050)

摘要: 结直肠癌是胃肠道中常见的恶性肿瘤, 临床上具有发病率高和死亡率高的特点。在结直肠癌细胞的胞浆、胞核内常伴有 Wnt 信号通路中 β -catenin 等信号分子的异常表达。不同种类的靶向苗头化合物可作用于 Wnt 信号通路或其上下游相关信号分子, 从而抑制或减缓结直肠癌的发生和发展。本文通过对 Wnt 信号通路成分及 Wnt 信号通路与结直肠癌的相关性进行回顾, 总结了靶向结直肠癌 Wnt 信号通路的药物及化合物的研究现状及所面临的挑战与前景。

关键词: 结直肠癌; Wnt 信号通路; 靶向药物; 小分子抑制剂; 天然化合物

中图分类号: R966 文献标识码: A 文章编号: 0513-4870(2021)03-0689-07

Advances in drug research targeting the Wnt signaling pathway in colorectal cancer

WANG Yu-fei, ZHANG Hai-jing, WU Lian-qiu*

(State Key Laboratory of Bioactive Substance and Function of Natural Medicines, Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100050, China)

Abstract: Colorectal cancer is a common malignant tumor in the gastrointestinal tract, with the characteristics of high morbidity and mortality. Studies have shown that the occurrence and development of colorectal cancer is closely related to the abnormal activation of Wnt signaling pathway. Abnormal expression of β -catenin in Wnt pathway is found both in the cytoplasm and nucleus of tumor cells. Different drugs can target the Wnt signaling pathway and its upstream and downstream related factors to inhibit or suppress the development of colorectal cancer. We review the components of Wnt signaling pathway, and the correlation between Wnt signaling pathway and colorectal cancer. Then, we summarize the current status of drug research targeting the Wnt signaling pathway in colorectal cancer. Finally, the challenges and prospects of these methods and drugs were briefly summarized.

Key words: colorectal cancer; Wnt signaling pathway; targeted drug; small molecule inhibitor; natural compound

结直肠癌 (colorectal cancer, CRC) 是世界范围内第四常见的恶性肿瘤, 第二常见的女性癌症, 以及第三常见的男性癌症, 其女性发病率和死亡率比男性低约

25%^[1,2]。全球每年确诊的癌症和癌症相关死亡病例中, 约有 10% 罹患结肠直肠癌, 每年新发病例 120 万例, 死亡病例 90 多万例, 严重影响着患者的生命和生存质量^[2,3]。近年来, 我国及全球多数国家或地区的结直肠癌发病率仍呈上升趋势^[4]。已有的结直肠癌化疗手段不良反应大, 且依从性差, 亟需开发新的特效治疗药物。Wnt 信号通路的突变、过度激活和 β -catenin 的异常表达在结直肠癌的发生及发展中发挥重要作用。针对 Wnt/ β -catenin 信号通路开发靶向治疗结直肠癌的新药是目前研究热点。

收稿日期: 2020-08-28; 修回日期: 2020-09-22.

基金项目: 国家重大新药创制科技重大专项 (2018ZX09711001-002-002, 2018ZX09711001-003-001); 中央高校基本科研业务费 (3332019073); 中国医学科学院医学与健康科技创新工程 (2016-12M-3-011); 天然药物活性物质与功能国家重点实验室开放课题 (GTZK201906).

*通讯作者 Tel: 86-10-63031589, Fax: 86-10-63035779,

E-mail: wlq@imm.ac.cn

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2020-1422

1 结直肠癌的治疗概况

结直肠癌的发生发展步骤繁多、过程复杂,其通常由两种类型的前体细胞息肉(常见腺瘤和锯齿状腺瘤)通过不同途径引发并产生。超过80%结直肠癌发病为散发性的,也与遗传性或炎症性肠病病史相关。结直肠癌的病因涉及饮食习惯、环境因素和慢性炎症性肠病等,其中有腺瘤病史的患者发病风险更高^[2]。同时,结直肠癌受遗传因素的影响也很大,在无家族病史的患者中只偶有发生。但目前尚不清楚遗传的具体因素。虽然有几项针对结直肠癌的全基因组关联研究已经成功识别出与结直肠癌风险相关的癌症易感基因(单核苷酸多态性等),但大多数相关遗传因素仍不明确,有待进一步研究确定^[5]。

结直肠癌患者治疗失败的最重要原因是肿瘤的侵袭和转移。疾病的诊断时间及疾病所处的阶段很大程度上决定了结直肠癌的治疗效果。通过肠镜切除癌前肿瘤总体上可以降低发病率,但发展为晚期疾病的患者有效治疗方案的选择较少,且预后较差。基础的化疗方案不良反应多,如恶心、呕吐、腹泻、贫血、肝毒性、胃肠道毒性、手足综合征、中性粒细胞减少和黏膜炎等,治疗结果并不理想。由于外科手术和靶向治疗的引入,对结直肠癌患者的系统性治疗方式已经远远超出单纯以5-氟尿嘧啶为基础的化疗方式,但手术后复发是其主要缺点,往往会导致死亡,因此亟需开发新的治疗药物^[6]。

近年来,免疫检查点分子如T细胞调节因子CD28超家族成员程序性细胞死亡蛋白-1(programmed cell death protein 1, PD-1)、程序性细胞死亡配体-1(programmed cell death ligand-1, PD-L1)等已被确定为结直肠癌免疫治疗的可能靶点^[4]。PD-1免疫检查点通路负调控T细胞激活,维持外周耐受,在微卫星不稳定(microsatellite instability, MSI)的结直肠癌中治疗效果较好^[7],而PD-1对非微卫星不稳定高(MSI-high, MSI-H)的结直肠癌治疗没有表现出明显的缓解。因此,对于免疫检查点抑制剂以及靶向药物治疗结直肠癌,仍有待于进一步研究。

2 Wnt信号通路

Wnt家族由19种富含半胱氨酸的分泌性脂糖蛋白组成,广泛参与机体的生物学过程调控,包括细胞迁移、增殖、分化、胚胎及器官发育和免疫反应等^[8]。Wnt能够与跨膜卷曲受体(frizzled receptor, FZD)以及多种共受体相结合,包括低密度脂蛋白受体相关蛋白(low-density lipoprotein receptor-related protein, LRP)、受体酪氨酸激酶样孤儿受体(receptor Tyr kinase-like orphan receptor, ROR)、蛋白酪氨酸激酶(protein Tyr

kinase, PTK)以及受体酪氨酸激酶(receptor Tyr kinase, RTK)等,从而激活经典(β -catenin依赖性)和非经典(β -catenin非依赖性)Wnt信号通路^[9]。

Wnt/ β -catenin通路是Wnt信号中最为经典的通路, β -catenin在胞膜处与E-cadherin形成复合体,在维持同型细胞的黏附及信号传导方面发挥作用,在细胞浆内及细胞核内 β -catenin的异常积累可激活Wnt/ β -catenin通路下游c-Myc、survivin、c-jun、细胞周期蛋白D1(cyclin D1)和Wisp1等蛋白,促进肿瘤细胞增殖,使凋亡减少,最终导致肿瘤的发生发展^[10]。

Wnt/ β -catenin通路的关键步骤是Wnt介导 β -catenin蛋白的稳定化及核易位。在Wnt未被激活的情况下,降解复合物会吸收并降解 β -catenin。在Wnt被激活的情况下,Wnt与细胞膜上的FZD受体以及LRP5和LRP6共同受体结合,导致LRP被酪氨酸激酶1(casein kinase 1, CK1)和糖原合成酶激酶-3(glycogen synthase kinase-3, GSK3)磷酸化,同时向细胞膜募集轴蛋白(axis protein, Axin)和散乱蛋白(dishevelled, DVL)等蛋白,从而能够破坏降解复合物的形成。降解复合物的破坏导致 β -catenin的稳定化,未被降解的 β -catenin积累在细胞质中,当胞质中 β -catenin达到一定浓度后,就可向细胞核转移,在胞核中 β -catenin与T细胞因子/淋巴样增强因子(T-cell factor/lymphoid enhancer-binding factor, TCF/LEF)家族转录因子和共激活因子等结合,可激活cyclin D1和c-Myc等原癌基因而导致细胞的增殖、分化和成熟^[11](图1)。

当Wnt与FZD受体和酪氨酸激酶样共受体结合后,非经典Wnt信号被激活,从而导致DVL被募集和激活。非经典Wnt信号通路主要包括Wnt/ Ca^{2+} ^[10]和Wnt/PCP信号通路^[12]。

3 Wnt信号通路与结直肠癌发生的机制

Wnt信号的正常传导有利于正常肠道功能的调节,尤其是位于肠隐窝基底部的上皮干细胞的维持和自我更新^[13,14]。Wnt/ β -catenin信号通过维持干细胞稳态、抑制分化、调控迁徙和肠上皮细胞定位,在肠道上皮细胞的更新和发展中起重要作用^[15,16]。因此,了解该信号通路与结直肠癌的相互作用途径对发现结直肠癌潜在的作用靶点及提供精准治疗方案有重要的临床意义。

研究表明,在结直肠癌中,Wnt/ β -catenin信号级联是癌变的中心,Wnt/ β -catenin通路的异常激活以及 β -catenin蛋白的核内积聚与消化道肿瘤的发生发展密切相关。几乎所有结直肠癌患者均可发现Wnt/ β -catenin通路的突变,该通路的失调是结肠直肠癌发生的主要因素。约10%的患者可检测到 β -catenin的位点突变,80%的结直肠癌患者可检测到结肠腺瘤样息肉蛋白

(adenomatous polyposis coli, APC) 的位点突变。APC 基因是家族性腺瘤性息肉病 (familial adenomatous polyposis, FAP) 综合征的主要病因, 突变后的 APC 会阻止 β -catenin 磷酸化降解, 诱导结直肠癌的发生。异常激活的 Wnt/ β -catenin 通路对抗肿瘤药的耐药性、消化道肿瘤的上皮-间质转化 (epithelial-mesenchymal transition, EMT)、肿瘤干细胞的自我更新等方面具有重要影响, 通过抑制 Wnt 信号通路活性可以抑制结直肠癌的发生发展。已有证据表明, Wnt/ β -catenin 的过度激活在结直肠癌中起致癌作用, 是晚期结直肠癌肿瘤生长所必需的, 因此该通路可能是治疗结直肠癌的有效靶点^[17]。在超过 80% 的结直肠癌患者中发现, Wnt/ β -catenin 信号激活导致核内 β -catenin 累积, 高水平的核 β -catenin 会导致结直肠癌患者预后不良^[18]。

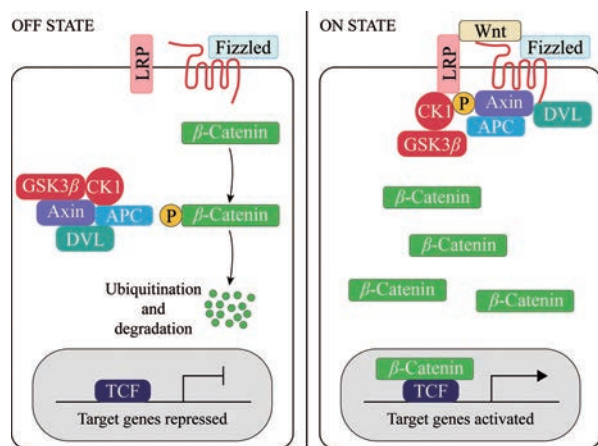


Figure 1 OFF STATE: In cells, the Wnt signaling pathway was closed, and β -catenin was degraded by the proteasome, unable to enter the nucleus. ON STATE: In cells, Wnt binds to receptors inducing axis protein (Axin) to bind toleucine reactive regulatory protein (LRP), destroying complex disintegration, β -catenin aggregates into nucleus after stabilization, and activates transcription by binding to T-cell factor/lymphoid enhancer-binding factor (TCF). GSK3 β : Glycogen synthase kinase-3 beta; CK1: Casein kinase 1; APC: Adenomatous polyposis coli; DVL: Dishevelled

4 靶向 Wnt 信号通路的小分子抑制剂

大多数抗肿瘤药物不能明确区分癌细胞和正常细胞, 从而导致全身毒性和不良反应。为了克服或减少药物治疗潜在的不良反应, 针对信号传导、血管形成和细胞受体的靶向药物应用广泛。靶向 Wnt/ β -catenin 信号通路的药物作用于特定靶点, 抑制癌症促发因子, 从而发挥抗结直肠癌的作用, 延长患者生存期, 提高患者生命质量。目前 Wnt 信号通路抑制剂的研究热点主要集中在以下几方面。

4.1 β -Catenin-TCF 复合物抑制剂 β -Catenin 是 Wnt

信号通路的重要靶点。通过高通量酶联免疫吸附实验检测化合物与 β -catenin-TCF 的交互作用, 从约 7 000 种天然产物以及 45 000 种合成化合物筛选出 8 种化合物能够剂量依赖性地抑制 β -catenin-TCF 复合物的形成 [半抑制浓度 (half maximal inhibitory concentration, IC₅₀) < 10 μ mol·L⁻¹], 同时抑制结肠癌细胞的增殖^[19]。在这 8 种化合物中, PKF115-584 和 CGP049090 被证明是最有效的化合物^[19], 并且, PKF115-584 和 CGP049090 还能干扰 β -catenin-APC 的交互作用^[20-22]。大约一半的结肠癌表达一种组成活性的鼠类肉瘤病毒癌基因 (kirsten rat sarcoma viral oncogene, KRAS) 蛋白。相当一部分患者表现出 β -catenin 和 KRAS 的异常激活, 因此, 同时下调 β -catenin 和 KRAS 对促进结直肠癌细胞的凋亡和抑制肿瘤生长是必要的^[23], 有文献表明, β -catenin 的抑制剂 PKF115-584 与 KRAS 抑制剂 S-trans 的联合使用在诱导细胞生长阻滞、细胞死亡、下调 c-Myc 和 survivin 以及抑制不依赖锚点生长方面优于单独使用任何药物^[24]。

另有研究通过化合物库的筛选发现 β -catenin-TCF 复合物的抑制剂 2,4-diamino-quinazoline 衍生物, 将化合物取代联苯的一部分与 *N*-phenylpiperidine-4-carboxamide 相连, 形成一种很强的 β -catenin-TCF 复合物的抑制剂, 表现出良好的细胞效能、溶解性、代谢稳定性和口服生物利用度^[25,26]。2,4-Diamino-quinazoline 可以抑制 Wnt/ β -catenin 靶基因 *Axin2*、*c-Myc* 和富含亮氨酸重复-包含 G 蛋白偶联受体 5 (leucine-rich repeat-containing G protein-coupled receptor 5, *LGR5*) 的表达, 通过凋亡途径抑制癌细胞的生长^[25]。

棕榈酰化的 Wnt 配体与 FZD 受体以及 LRP5 和 LRP6 共受体结合, 实现了 β -catenin 核易位和 TCF/LEF 依赖的基因激活^[27]。R-spondin (RSPO) 配体与不同的 LGR4-LGR6、无名指蛋白 43 (ring finger protein 43, RNF43) 以及锌和无名指蛋白 3 (zinc and ring finger 3, ZNRF3) 受体结合, 可以显著增强 Wnt/ β -catenin 信号通路, 并在体外诱导肠样器生长和在体内诱导 LGR5⁺ 肠干细胞^[28]。RSPO 融合肿瘤表现为 Wnt 通路激活, 但不包含常见的 Wnt 通路突变, 如 APC。之前报道过在结直肠肿瘤中 *RSPO2* 和 *RSPO3* 复发基因融合的鉴定^[29,30]。在 *ptprk*-*RSPO3* 融合阳性的人肿瘤异种移植中靶向 *RSPO3* 可抑制肿瘤生长并促进分化^[31]。RSPO 可以放大 Wnt 信号, 这表明由易位引起的表达升高可能会驱动 Wnt 依赖的肿瘤生长^[27]。OMP-18R 是一种与几个 FZD 家族成员结合的单克隆抗体, 可以靶向 RSPO, 从而抑制肿瘤生长。而在两个不同的 APC 突变 PDX 模型中, 这种效应只特定于 *RSPO3* 融合的肿

瘤, 抗RSPO3治疗对突变的肿瘤生长或分子效应没有影响^[31]。因此, 肿瘤内干细胞特性的治疗靶向可能是一种治疗结直肠肿瘤的临床相关方法。

4.2 Porcupine 抑制剂 Porcupine 蛋白是一类跨膜酰基转移酶, 为膜结合 *O*-酰基转移酶 (membrane bound *O*-acyltransferase, MBOAT) 家族的成员, 大约有 8~12 个跨膜结构域。其可在 Wnt 蛋白上加入一个棕榈酰基团, 对 Wnt 的信号传导能力至关重要, 是 Wnt 分泌所必需的^[32]。IWP、C59、ETC-159 等小分子化合物可以靶向 porcupine, 从而抑制 Wnt 信号通路的过度激活。IWP 具有选择性靶向 MBOAT 酰基转移酶家族成员的能力^[33]。IWP 通过抑制 porcupine 从而抑制 Wnt3A 的棕榈酰化, 从而抑制 Wnt 信号通路的活性^[34]。IWP 还可以稳定 Axin2 破坏复合物来拮抗 Wnt 信号。

C59 是 porcupine 蛋白的抑制剂, 能够作为 Wnt 信号的调制器, 抑制 Wnt3A 的活性 (IC_{50} 为 $74 \text{ pmol}\cdot\text{L}^{-1}$)^[35]。Wnt 酰化作用需要与载体蛋白重组人 wntless 蛋白 (recombinant human wntless, WLS) 结合^[36], C59 预处理细胞后, 能够阻断 Wnt3A 和 Wnt8A 与 WLS 的共沉淀。C59 能够阻止人和小鼠 Wnt 信号通路, 从而抑制肿瘤生长。

ETC-159 可抑制所有 Wnt 的分泌和活性, 在治疗携带 RSPO 易位的结直肠癌患者源性异种移植瘤模型中具有显著疗效, 是第一个可有效靶向治疗结直肠癌的抑制剂。与 Wnt 信号在基因表达调控中的核心作用一致, 在 RSPO3 易位癌症中抑制 porcupine 会导致转录组的显著重塑, 细胞周期、干细胞和增殖基因丢失, 以及分化标记物的增加^[35]。同时, ETC-159 对 Axin 基因的表达也可达到最大程度的抑制, 提示该化合物以剂量依赖方式可有效抑制内源性 Wnt/ β -catenin 信号通路活性^[37]。目前, ETC-159 已进入临床 I 期试验阶段。

4.3 端锚聚合酶小分子抑制剂 XAV939、IWR、G007-LK、G244-LM 和 shizokaol D 能够作用于端锚聚合酶 (tankyrase) 或 Axin, 从而抑制 Wnt 信号通路的活化^[38-40]。XAV939 能够显著增加 5-氟尿嘧啶/顺铂诱导的结肠癌细胞凋亡^[41]。XAV939 通过抑制聚 ADP 核糖化酶 tankyrase 1 和 tankyrase 2 来稳定 Axin。两种端锚聚合酶亚型均与 Axin 高度保守的结构域相互作用, 并通过泛素-蛋白酶体途径促进 Axin 的降解。在 HEK293 细胞中, XAV939 阻断了 Wnt3A 诱导的 β -catenin 的积累, 同时还抑制了 SW480 细胞中 STF 的活性, SW480 细胞是一种 APC 被截断的结直肠癌细胞系。XAV939 降低了连接蛋白的丰度, 但显著增加了连接蛋白的磷酸化 (S33/S37/T41), 表明 XAV939 通过增加破坏复合物的活性, 促进了磷酸化依赖性的连接

蛋白降解^[42]。

IWR 通过相互作用诱导 Axin 的稳定, 使 Axin1 和 Axin2 的表达升高, 抑制 Wnt 信号通路的转录激活^[43]。IWR1 对肿瘤干细胞具有特异性细胞毒性, 破坏肿瘤的自我更新能力, 影响了连接蛋白转位到细胞核, 以及 TCF/LEF 的激活和 Wnt/连接蛋白下游靶点的表达这一经典 Wnt 信号转导的关键步骤^[44]。

G007-LK 是一种新型端锚聚合酶小分子抑制剂, 能够抑制 APC 突变导致的结直肠肿瘤的生长^[45]。G007-LK 和 G244-LM 通过抑制聚 (ADP-核糖基) 依赖的 Axin 的降解, 促进 β -catenin 的不稳定化, 从而减少 Wnt/ β -catenin 信号转导。化合物 G007-LK 在 APC 突变的结直肠癌异种移植模型中显示出良好的药代动力学特性, 并能够抑制体内肿瘤的生长, 抑制细胞周期进程, 减少集落形成^[39]。

通过实时定量 PCR 检测了 Wnt 信号通路的靶基因, 发现 shizukaol D 能够抑制 c-Myc、cyclin D1、TCF1、LEF1、Wnt3A 以及 FGF18 从而减弱 Wnt 信号的活化, 降低内源性 Wnt 靶基因表达, 诱导 β -catenin 的表达下降^[35]。

4.4 其他 KYA1797K 能够激活 GSK3 β , 同时降解 β -catenin 和 Ras, 也能通过抑制 β -catenin/STAT3 信号通路降低 PD-L1 的稳定性, 进一步抑制免疫逃逸以及诱导结肠癌肿瘤干细胞的凋亡, 从而有助于免疫疗法治疗结肠癌的发展^[46]。BC2059 破坏了连接蛋白与支架蛋白、转导蛋白的结合, 破坏了连接蛋白的蛋白酶体降解和核水平下降, 这与 TCF4 的转录活性降低及其靶基因 cyclin D1、c-Myc 和 survivin 的表达相关^[47]。此外, pyrvinium 能够作用于 CK1^[48], NSC668036 作用于 Dsh^[49], apicularen 和 bafilomycin 作用于 ATP 酶^[50,51], ICG-001 作用于 CREB 结合蛋白^[35,52], 均能发挥 Wnt 信号通路的抑制作用, 从而抑制结直肠癌的发生和发展。

5 靶向 Wnt 信号通路的天然化合物

很多天然化合物, 如姜黄素、大豆衍生异黄酮、植物雌激素染料木素、小檗碱、Z-ajoene 和 DIF-3 等, 可通过作用于不同靶点对 Wnt/ β -catenin 信号通路产生抑制作用。这些天然化合物很可能对结直肠癌具有一定治疗作用, 值得深入研究。

姜黄素能够诱导结肠癌细胞 HCT-116 中的 p53 和 p21 非依赖性的细胞 G2/M 期阻滞和细胞凋亡。此外, 姜黄素能够促进 caspase-3 介导的 β -catenin、E-cadherin 的降解, 减少 β -catenin/TCF/LEF 的转录激活, 降低 β -catenin/TCF/LEF 复合物的启动子结合活性, 同时能下调 c-Myc 蛋白水平。这些结果表明, 姜黄素能够抑制 Wnt 信号转导和细胞黏附途径, 从而导致结肠癌细胞 G2/M 期阻滞和细胞凋亡^[53,54]。

大豆衍生异黄酮和植物雌激素染料木素被认为通过上调 GSK-3 β 和 E-cadherin 的表达来抑制 Wnt 信号。染料木黄酮在结肠癌 DLD-1 细胞系通过增加脱甲基 *sFRP2* 基因 (一种 Wnt 通路拮抗剂) 沉默子的表达从而抑制 β -catenin 介导的 Wnt 信号通路^[55]。染料木素及大豆衍生异黄酮在逆转顺铂和氟嘧啶类化合物的抗性中起作用, 该制剂已在临床试验中与贝伐珠单抗/FOLFOX 联合应用于转移性结肠癌的治疗^[56]。

小檗碱在动物和家族性腺瘤息肉病的患者中通过下调 β -catenin 信号抑制肠息肉的生长表达。其可能通过直接与包括 Gln275、Arg316 和 Arg371 在内的区域结合来抑制 β -catenin, 与此同时小檗碱与其结合后协同激活 9-顺式维甲酸 (9-*cis*-RA), 促进与核 β -catenin RXR α 互动, 导致 C-Cbl 介导 β -catenin 退化, 抑制结肠癌细胞的增殖^[57]。

Z-ajoene 是一种从碾碎的大蒜中分离出来的含硫化合物, 作为结肠癌细胞生长的抑制剂。在结肠癌细胞 SW480 中, Z-ajoene 能够抑制 β -catenin 的转录活性, 降低细胞内 β -catenin 水平以及相关目标蛋白 c-Myc 和 cyclin D1 的含量。在酪蛋白激酶 1 次激酶 (CK1 次激酶) 依赖性情况下, Z-ajoene 促进了 β -catenin 在 Ser45 位点的磷酸化, 这是在细胞质中 β -catenin 降解的一个必要步骤。研究结果表明, Z-ajoene 对 CK1 α 活动及 Wnt/ β -catenin 信号通路的调控, 使其可成为潜在的化学治疗剂^[58]。

DIF-3 是盘基网柄菌 (*Dictyostelium discoideum*) 中鉴定出的一种小分子化合物, 能够激活 GSK3 β , 并降解 cyclin D1, 并诱导细胞 G₀/G₁ 期阻滞。Wnt 信号通路对于胚胎发育、细胞增殖和细胞分化至关重要。在多种恶性肿瘤中均鉴定出 Wnt 途径的成分突变。例如, 大多数人类结肠癌的 APC 基因都有突变, 导致 β -catenin 累积^[59,60]。并且, β -catenin 本身的突变也会促进自身的积累。 β -catenin 累积超过异常水平会产生过量的 cyclin D1 mRNA, 并促进肿瘤生长。因此, 激活 GSK3 β , 促进 β -catenin 的降解, 可能对治疗结直肠癌具有一定的作用。

6 总结与展望

Wnt 是一种已知的干细胞水平的调节因子, 与肿瘤的发生和发展密切相关。在结直肠癌细胞的细胞浆、细胞核中常伴有 Wnt 通路中 β -catenin 等蛋白异常表达。结直肠癌的分子特性表明, 绝大多数肿瘤表现出 Wnt 通路激活, 其主要是通过下游信号元件的突变驱动的。不同药物可作用于 Wnt 信号通路上下游相关因子从而抑制或减缓结肠癌的发生发展。尽管如此, 针对 Wnt 通路的治疗方法的发展一直充满挑战, 结直

肠癌仍然是三大最普遍和最致命的癌症之一。目前大多数以 Wnt/ β -catenin 为靶点的苗头化合物尚处在实验室或临床前研究阶段, 仍没有新药上市, 值得关注及思考。可以根据生物标志物, 把结直肠癌分为不同亚型, 靶向器官或针对靶基因精准用药, 从而达到满意的治疗效果。本文期望在全面了解 Wnt 信号通路及相关活性化合物的研究进展后, 能够为研发高效低毒的抗结直肠癌药物提供新的靶点和思路。

作者贡献: 王与菲参与了内容的撰写和文献整理; 张海婧是文章框架的构思者及负责人; 吴练秋指导论文写作并对论文进行了修改和检查。

利益冲突: 所有作者均声明不存在利益冲突。

References

- [1] Al-Ishaq RK, Overy AJ, Busselberg D. Phytochemicals and gastrointestinal cancer: cellular mechanisms and effects to change cancer progression [J]. *Biomolecules*, 2020, 10: 105.
- [2] Dekker E, Tanis PJ, Vleugels JLA, et al. Colorectal cancer [J]. *Lancet*, 2019, 394: 1467-1480.
- [3] Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries [J]. *CA Cancer J Clin*, 2018, 68: 394-424.
- [4] Siegel RL, Miller KD, Goding Sauer A, et al. Colorectal cancer statistics, 2020 [J]. *CA Cancer J Clin*, 2020, 70: 145-164.
- [5] Brenner H, Kloor M, Pox CP. Colorectal cancer [J]. *Lancet*, 2014, 383: 1490-1502.
- [6] Banerjee A, Pathak S, Subramaniam VD, et al. Strategies for targeted drug delivery in treatment of colon cancer: current trends and future perspectives [J]. *Drug Discov Today*, 2017, 22: 1224-1232.
- [7] Xiao Y, Freeman GJ. The microsatellite instable subset of colorectal cancer is a particularly good candidate for checkpoint blockade immunotherapy [J]. *Cancer Discov*, 2015, 5: 16-18.
- [8] Duchartre Y, Kim YM, Kahn M. The Wnt signaling pathway in cancer [J]. *Crit Rev Oncol Hematol*, 2016, 99: 141-149.
- [9] Taciak B, Pruszyńska I, Kiraga L, et al. Wnt signaling pathway in development and cancer [J]. *J Physiol Pharmacol*, 2018, 69: 185-196.
- [10] Cheng X, Xu X, Chen D, et al. Therapeutic potential of targeting the Wnt/ β -catenin signaling pathway in colorectal cancer [J]. *Biomed Pharmacother*, 2019, 110: 473-481.
- [11] Nusse R, Clevers H. Wnt/ β -catenin signaling, disease, and emerging therapeutic modalities [J]. *Cell*, 2017, 169: 985-999.
- [12] Schatoff EM, Leach BI, Dow LE. Wnt signaling and colorectal cancer [J]. *Curr Colorectal Cancer Rep*, 2017, 13: 101-110.
- [13] Shoshkes-Carmel M, Wang YJ, Wangenstein KJ, et al. Subepithelial telocytes are an important source of Wnts that supports

- intestinal crypts [J]. *Nature*, 2018, 557: 242-246.
- [14] Kahn M. Wnt signaling in stem cells and cancer stem cells: a tale of two coactivators [J]. *Prog Mol Biol Transl Sci*, 2018, 153: 209-244.
- [15] Kim JT, Li C, Weiss HL, et al. Regulation of ketogenic enzyme HMGCS2 by Wnt/ β -catenin/PPAR γ pathway in intestinal cells [J]. *Cells*, 2019, 8: 1106.
- [16] Takebe N, Miele L, Harris PJ, et al. Targeting Notch, Hedgehog, and Wnt pathways in cancer stem cells: clinical update [J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2015, 12: 445-464.
- [17] Jarde T, Evans RJ, McQuillan KL, et al. *In vivo* and *in vitro* models for the therapeutic targeting of Wnt signaling using a Tet-OAN89 β -catenin system [J]. *Oncogene*, 2013, 32: 883-893.
- [18] Sebio A, Kahn M, Lenz HJ. The potential of targeting Wnt/ β -catenin in colon cancer [J]. *Expert Opin Ther Targets*, 2014, 18: 611-615.
- [19] Kahn M. Can we safely target the WNT pathway? [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2014, 13: 513-532.
- [20] Gekas C, D'Altri T, Aligué R, et al. β -Catenin is required for T-cell leukemia initiation and MYC transcription downstream of Notch1 [J]. *Leukemia*, 2016, 30: 2002-2010.
- [21] Li L, Peng W, Zhou Q, et al. LRP6 regulates Rab7-mediated autophagy through the Wnt/ β -catenin pathway to modulate trophoblast cell migration and invasion [J]. *J Cell Biochem*, 2020, 121: 1599-1609.
- [22] Matsuzaki S, Darcha C. Involvement of the Wnt/ β -catenin signaling pathway in the cellular and molecular mechanisms of fibrosis in endometriosis [J]. *PLoS One*, 2013, 8: e76808.
- [23] Mologni L, Dekhil H, Ceccon M, et al. Colorectal tumors are effectively eradicated by combined inhibition of β -catenin, KRAS, and the oncogenic transcription factor ITF2 [J]. *Cancer Res*, 2010, 70: 7253-7263.
- [24] Mologni L, Bruscolo S, Ceccon M, et al. Synergistic effects of combined Wnt/KRAS inhibition in colorectal cancer cells [J]. *PLoS One*, 2012, 7: e51449.
- [25] Chang TS, Lu CK, Hsieh YY, et al. 2,4-Diamino-quinazoline, a Wnt signaling inhibitor, suppresses gastric cancer progression and metastasis [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21: 5901.
- [26] Chen Z, Venkatesan AM, Dehnhardt CM, et al. 2,4-Diamino-quinazolines as inhibitors of beta-catenin/Tcf-4 pathway: potential treatment for colorectal cancer [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2009, 19: 4980-4983.
- [27] Szenker-Ravi E, Altunoglu U, Leushacke M, et al. RSPO2 inhibition of RNF43 and ZNRF3 governs limb development independently of LGR4/5/6 [J]. *Nature*, 2018, 557: 564-569.
- [28] Yan KS, Janda CY, Chang J, et al. Non-equivalence of Wnt and R-spondin ligands during Lgr5⁺ intestinal stem-cell self-renewal [J]. *Nature*, 2017, 545: 238-242.
- [29] Storm EE, Durinck S, de Sousa e Melo F, et al. Targeting PTPRK-RSPO3 colon tumours promotes differentiation and loss of stem-cell function [J]. *Nature*, 2016, 529: 97-100.
- [30] Fischer MM, Yeung VP, Cattaruzza F, et al. RSPO3 antagonism inhibits growth and tumorigenicity in colorectal tumors harboring common Wnt pathway mutations [J]. *Sci Rep*, 2017, 7: 15270.
- [31] Seshagiri S, Stawiski EW, Durinck S, et al. Recurrent R-spondin fusions in colon cancer [J]. *Nature*, 2012, 488: 660-664.
- [32] Torres VI, Godoy JA, Inestrosa NC. Modulating Wnt signaling at the root: porcupine and Wnt acylation [J]. *Pharmacol Ther*, 2019, 198: 34-45.
- [33] Wang X, Moon J, Dodge ME, et al. The development of highly potent inhibitors for porcupine [J]. *J Med Chem*, 2013, 56: 2700-2704.
- [34] García-Reyes B, Witt L, Jansen B, et al. Discovery of inhibitor of Wnt production 2 (IWP-2) and related compounds as selective ATP-competitive inhibitors of casein kinase 1 (CK1) δ/ϵ [J]. *J Med Chem*, 2018, 61: 4087-4102.
- [35] Blyszczuk P, Müller-Edenborn B, Valenta T, et al. Transforming growth factor- β -dependent Wnt secretion controls myofibroblast formation and myocardial fibrosis progression in experimental autoimmune myocarditis [J]. *Eur Heart J*, 2017, 38: 1413-1425.
- [36] Najdi R, Proffitt K, Sprowl S, et al. A uniform human Wnt expression library reveals a shared secretory pathway and unique signaling activities [J]. *Differentiation*, 2012, 84: 203-213.
- [37] Madan B, Ke Z, Harmston N, et al. Wnt addiction of genetically defined cancers reversed by PORCN inhibition [J]. *Oncogene*, 2016, 35: 2197-2207.
- [38] Kulak O, Chen H, Holohan B, et al. Disruption of Wnt/ β -catenin signaling and telomeric shortening are inextricable consequences of tankyrase inhibition in human cells [J]. *Mol Cell Biol*, 2015, 35: 2425-2435.
- [39] Lau T, Chan E, Callow M, et al. A novel tankyrase small-molecule inhibitor suppresses APC mutation-driven colorectal tumor growth [J]. *Cancer Res*, 2013, 73: 3132-3144.
- [40] Tang L, Zhu H, Yang X, et al. Shizukaol D, a dimeric sesquiterpene isolated from *Chloranthus serratus*, represses the growth of human liver cancer cells by modulating Wnt signalling pathway [J]. *PLoS One*, 2016, 11: e0152012.
- [41] Wu X, Luo F, Li J, et al. Tankyrase 1 inhibitor XAV939 increases chemosensitivity in colon cancer cell lines *via* inhibition of the Wnt signaling pathway [J]. *Int J Oncol*, 2016, 48: 1333-1340.
- [42] Huang SM, Mishina YM, Liu S, et al. Tankyrase inhibition stabilizes axin and antagonizes Wnt signalling [J]. *Nature*, 2009, 461: 614-620.
- [43] Martins-Neves SR, Paiva-Oliveira DI, Fontes-Ribeiro C, et al. IWR-1, a tankyrase inhibitor, attenuates Wnt/ β -catenin signaling in cancer stem-like cells and inhibits *in vivo* the growth of a subcutaneous human osteosarcoma xenograft [J]. *Cancer Lett*, 2018, 414: 1-15.
- [44] Walczak K, Turski WA, Rajtar G. Kynurenic acid inhibits colon cancer proliferation *in vitro*: effects on signaling pathways [J].

- Amino Acids, 2014, 46: 2393-2401.
- [45] Katoh M. Canonical and non-canonical WNT signaling in cancer stem cells and their niches: cellular heterogeneity, omics reprogramming, targeted therapy and tumor plasticity (Review) [J]. Int J Oncol, 2017, 51: 1357-1369.
- [46] Ruan Z, Liang M, Lai M, et al. KYA1797K down-regulates PD-L1 in colon cancer stem cells to block immune evasion by suppressing the β -catenin/STT3 signaling pathway [J]. Int Immunopharmacol, 2020, 78: 106003.
- [47] Fiskus W, Sharma S, Saha S, et al. Pre-clinical efficacy of combined therapy with novel beta-catenin antagonist BC2059 and histone deacetylase inhibitor against AML cells [J]. Leukemia, 2015, 29: 1267-1278.
- [48] Shen C, Li B, Astudillo L, et al. The CK1 α activator pyrvinium enhances the catalytic efficiency (k_{cat}/K_m) of CK1 α [J]. Biochemistry, 2019, 58: 5102-5106.
- [49] Wang C, Dai J, Sun Z, et al. Targeted inhibition of disheveled PDZ domain *via* NSC668036 depresses fibrotic process [J]. Exp Cell Res, 2015, 331: 115-122.
- [50] Pradhan TR, Mohapatra DK. A synthetic study toward the core structure of (-)-apicularen A [J]. Org Biomol Chem, 2018, 16: 8810-8818.
- [51] Mauvezin C, Neufeld TP. Bafilomycin A1 disrupts autophagic flux by inhibiting both V-ATPase-dependent acidification and Ca-P60A/SERCA-dependent autophagosome-lysosome fusion [J]. Autophagy, 2015, 11: 1437-1438.
- [52] Hirakawa T, Nasu K, Miyabe S, et al. β -Catenin signaling inhibitors ICG-001 and C-82 improve fibrosis in preclinical models of endometriosis [J]. Sci Rep, 2019, 9: 20056.
- [53] Unlu A, Nayir E, Dogukan Kalenderoglu M, et al. Curcumin (Turmeric) and cancer [J]. J BUON, 2016, 21: 1050-1060.
- [54] Nelson KM, Dahlin JL, Bisson J, et al. The essential medicinal chemistry of curcumin [J]. J Med Chem, 2017, 60: 1620-1637.
- [55] Wu X, Yu N, Zhang Y, et al. Radix Tetrastigma hemsleyani flavone exhibits antitumor activity in colorectal cancer *via* Wnt/ β -catenin signaling pathway [J]. Onco Targets Ther, 2018, 11: 6437-6446.
- [56] Krizova L, Dadakova K, Kasparovska J, et al. Isoflavones [J]. Molecules, 2019, 24: 1076.
- [57] Ruan H, Zhan YY, Hou J, et al. Berberine binds RXR α to suppress β -catenin signaling in colon cancer cells [J]. Oncogene, 2017, 36: 6906-6918.
- [58] Li H, Jeong JH, Kwon SW, et al. Z-Ajoene inhibits growth of colon cancer by promotion of CK1 α dependent β -catenin phosphorylation [J]. Molecules, 2020, 25: 703.
- [59] Takahashi K, Kikuchi H, Nguyen VH, et al. Biological activities of novel derivatives of differentiation-inducing factor 3 from dictyostelium discoideum [J]. Biol Pharm Bull, 2017, 40: 1941-1947.
- [60] Kubokura N, Takahashi-Yanaga F, Arioka M, et al. Differentiation-inducing factor-3 inhibits intestinal tumor growth *in vitro* and *in vivo* [J]. J Pharmacol Sci, 2015, 127: 446-455.