

## 特约综述



我们利用转基因果蝇文库,结合蛋白质组学、代谢组学和生物信息学等系统生物学手段,研究信号转导网络的结构与分子调控机理。目前我们的研究重点包括:Wnt信号通路的调控机理以及对生长和发育的影响;果蝇代谢相关通路的调控机理及其与哺乳动物的保守性;“糖尿病”果蝇和“肥胖”果蝇模型的建立以及在药物筛选中的应用。

<http://www.sysbio.ac.cn/chenyuan8.asp>

## Wnt 信号通路: 调控机理和生物学意义

尹定子 宋海云\*

(中国科学院系统生物学重点实验室, 上海 200031)

**摘要** Wnt 信号通路作为一种在进化中高度保守的信号通路,在生长、发育、代谢和干细胞维持等多种生物学过程中发挥重要作用。而 Wnt 通路的失控与癌症、肥胖和糖尿病等疾病的发生有密切联系。经典 Wnt 通路的调控过程,主要围绕 beta-Catenin 和 TCF 这两个关键调节因子进行,从而在转录水平上影响着大量与生长和代谢相关的靶基因的表达。本文将综合介绍近年来针对经典 Wnt 通路调控机理的研究进展,以及 Wnt 通路与健康发生的关系。

**关键词** Wnt; beta-Catenin; TCF; 发育; 疾病

Wnt 这一名字来源于两个同源蛋白:果蝇中的 Wingless 和小鼠中的 Int, 发音为“wint”。Wnt 信号通路可分为经典通路和非经典通路。在这里我们只介绍经典的 Wnt 通路。Wnt 信号转导通路的开启和关闭直接控制着大量与生长和代谢相关的基因的表达水平,同时,这一信号通路通过与其它信号通路(如 TGFbeta/BMP、Hedgehog、PI3K、RTK 等)之间复杂的相互作用(crosstalk)间接影响着这些通路下游的基因。因此, Wnt 信号转导通路参与了多种生物学过程的调控,包括胚胎的生长和形态发育、组织的稳定、能量代谢的平衡以及干细胞的维持。Wnt 通路的失调与人类重大疾病有密切联系。Wnt 通路的过度激活与多种癌症(包括结肠癌、胃癌、乳腺癌等)的发生紧密相关<sup>[1-3]</sup>。例如,在结肠癌患者中广泛存在 Wnt 通路的调节因子包括 APC、beta-Catenin、Axin、TCF 等基因的突变,从而造成与生

长相关的基因的过量表达。Wnt 信号通路同时也能促进癌细胞的转移。此外, Wnt 通路的失调还会引发代谢类疾病<sup>[4]</sup>。Wnt 信号通路能够抑制脂肪细胞的分化。因此,这一信号通路被抑制可导致肥胖,进而引发代谢紊乱。通过对不同族群的调查,人们发现,位于 Wnt 通路中的关键调节因子 TCF7L7 基因上的基因多样性与二型糖尿病的发生几率有着最紧密的联系,而迄今为止人们对其中的机理仍然缺少足够的认识<sup>[5]</sup>。近年来人们在对干细胞的研究中发现, Wnt 信号通路对于表皮干细胞、肠干细胞、造血干细胞、神经干细胞、胚胎干细胞以及肿瘤干细胞的维持都起着重要的调控作用<sup>[6]</sup>。所以,深入研究

中国科学院百人计划(No.2010OHTP12)和 973 计划(No.2011CB943900)资助项目

\* 通讯作者。Tel: 021-64363829, E-mail: hysong@sibs.ac.cn

Wnt 信号通路的调控机理, 寻找药物治疗的靶蛋白, 是近年来生物学和医学研究的热门领域。

## 1 Wnt信号通路的调控机理

Wnt信号通路由以下部分组成: 细胞外的Wnt配体蛋白、细胞膜上的受体、细胞浆内的信号传导部分和核内的转录调控部分。

### 1.1 Wnt 蛋白

哺乳动物中有 19 种 Wnt 蛋白的亚型。Wnt 蛋白通过结合到细胞膜上的受体引发下游一系列信号转导, 其自身存在一个产生 - 修饰 - 分泌 - 转运的过程。Wnt 蛋白是一类高度不溶的蛋白, 这主要是因为其脂质化修饰。Wnt 蛋白的修饰主要有两种: 糖基化和棕榈酰化。如在小鼠中 Wnt3a 的糖基化修饰对于 Wnt 蛋白的分泌是必需的<sup>[7]</sup>, 半胱氨酸 77 位的棕榈酰修饰影响其活性<sup>[8]</sup>, 而 209 位的棕榈酰修饰缺失导致其滞留在内质网中<sup>[9]</sup>。

在体内脂质化修饰的Wnt蛋白结合于细胞表面和细胞基质中, 这降低了其扩散能力, 而发育过程中,

Wnt起到形态发生素的作用, 这就要求Wnt蛋白必须扩散到较远的地方, Wnt蛋白通过形成多聚体或者与脂蛋白颗粒结合的方式提高扩散能力<sup>[10]</sup>。

### 1.2 胞浆内的调控

经典的 Wnt 信号通路中, 对 beta-Catenin 浓度的调控处于中心地位。beta-Catenin 的浓度受 Axin/GSK-3/APC 复合体控制, 这一复合体由 Axin 蛋白的不同区域分别结合 GSK3、CK1、beta-Catenin 形成<sup>[11]</sup>, 当无 Wnt/Wg 配体存在时, 胞质中的 Axin 复合体处于稳定状态, 复合体中的 CK1 $\alpha$ 、GSK3 依次磷酸化 beta-Catenin (果蝇中为 Armadillo), 特定位点磷酸化的 beta-Catenin 被 E3 泛素连接酶  $\beta$ -Trcp 识别, 泛素化后被蛋白酶体 (proteasome) 降解, 使胞质中的 beta-Catenin 维持在较低的浓度 (图 1A)。CK1 $\alpha$  和 GSK3 可以磷酸化 Axin、APC, 促进复合体的形成。蛋白磷酸酶 PP1 和 PP2A 也参与了这一过程。它们可以与 Axin、APC 结合, 分别对 Axin、beta-Catenin 去磷酸化, 抑制复合物的形成和 beta-Catenin 的降解<sup>[12]</sup>。

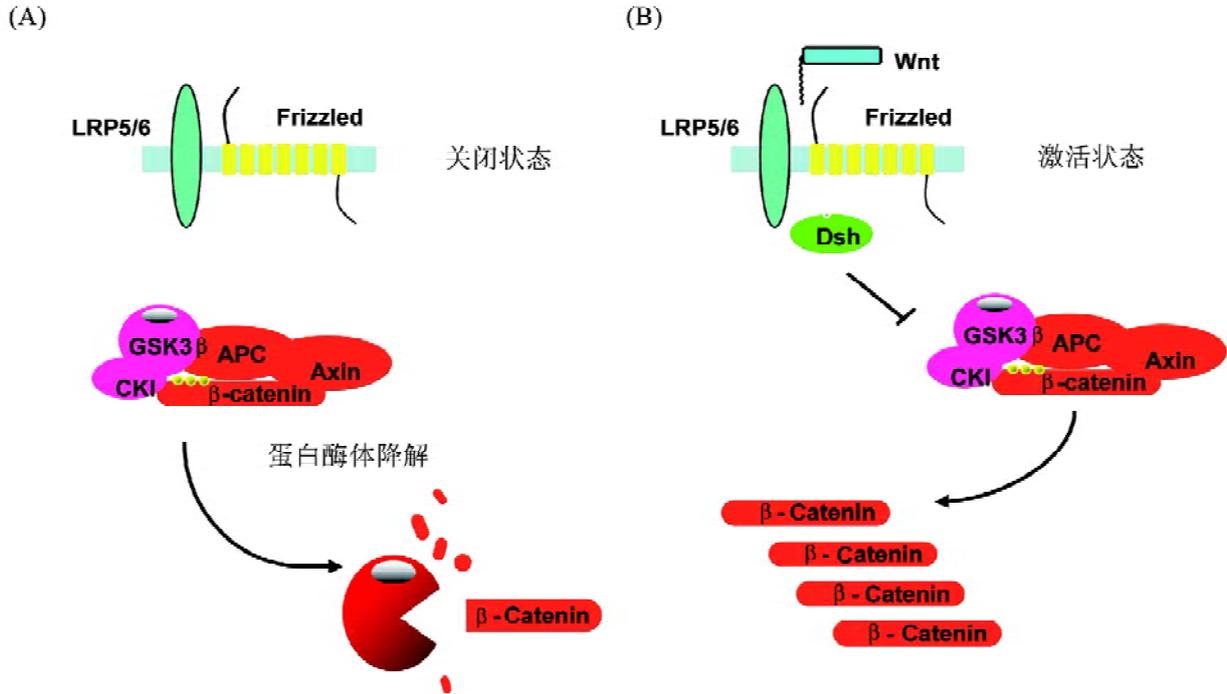


图 1 Wnt 信号在核外的传导过程

A: 没有 Wnt 信号分子存在时, beta-Catenin 被 APC 复合体中的 CKI 和 GSK3 $\beta$  磷酸化后进入蛋白酶体降解途径; B: Wnt 蛋白与受体结合时, 膜上的信号通过 Dsh 引发 APC 复合体的解体, beta-Catenin 不断累积, 浓度升高。

Fig.1 The extra-nuclear transduction of the Wnt signaling pathway

A: in the absence of Wnt ligand, beta-Catenin is phosphorylated by a complex composed of APC, CKI and GSK3 $\beta$ . This triggers its degradation via the proteasome pathway; B: after the binding of Wnt to its receptor, the signal on the membrane is transduced into the cytoplasm via Dsh, which leads to dissociation of the APC complex. As a result, the cytoplasmic pool of beta-Catenin accumulates.

APC可以抑制PP2A对beta-Catenin的去磷酸化作用,同时促进beta-Catenin与Axin的结合,在APC缺失的情况下,过表达Axin可以维持对beta-Catenin的持续降解<sup>[13]</sup>,这说明Axin的浓度是这一复合体形成的限制因素。

当Wnt/Wg信号存在时,Axin/GSK-3/APC复合体解聚,胞浆内的beta-Catenin/Armadillo得以稳定并不断积累,进入细胞核与TCF(果蝇中为Pangolin或dTCF)结合,启动下游基因转录。Wnt受体由Fz和LRP5/6(果蝇中为Arrow)组成<sup>[2]</sup>。Wnt蛋白与受体的结合引起LRP5/6的磷酸化和Fz-LRP5/6复合体的形成。Dsh可以与Fz结合,LRP5/6含有5个连续的PPPSPXS区域,Axin可以与磷酸化的PPPSPXS结合,同时Axin结合GSK3、CK1,引起GSK3、CK1对其余PPPSPXS区域的磷酸化,PPPSPXS的磷酸化又进一步促进Axin的结合<sup>[14,15]</sup>。Dsh和Axin都含有一个DIX结构域,二者可以通过这一区域形成Dsh-Dsh或Dsh-Axin多聚体,促进Wnt-Fz-LRP5/6复合物的形成。Axin蛋白与LRP5/6的结合导致了Axin复合物的解体,从而促进beta-Catenin的稳定性(图1B)。

### 1.3 核内的调控

在静息状态下,核内的TCF/LEF结合在WRE序列上,并与转录抑制因子Groucho和CtBP结合,招募HDAC等一系列因子,抑制下游基因的转录<sup>[16]</sup>(图2A)。beta-Catenin入核后,可以取代Groucho等抑制因子,同时招募一系列转录辅助因子,开启下游基因的转录。beta-Catenin蛋白可分为三个功能区域: N端、12个Armadillo重复区段(R1~R12)组成的中段和C端区域。R3~R10区域介导了beta-Catenin与TCF的结合<sup>[17]</sup>,此区域的缺失会使beta-Catenin对下游基因的激活作用完全丧失。C端区域为转录激活区域,可以结合一系列通用转录辅因子如染色质重塑因子,组蛋白乙酰转移酶,促进转录的起始和延伸。N端区域可以结合辅因子Bcl9<sup>[18]</sup>(图2B)。

真核生物的染色体由组蛋白和DNA组成的核小体包装而成,组蛋白的各种修饰状态会影响染色质结构和基因的转录。组蛋白乙酰化通常与转录活跃区域相联系,beta-Catenin C端区域可以与乙酰转移酶CBP、p300结合,促进附近区域的组蛋白乙酰化<sup>[19]</sup>。有研究表明Wnt激活后短时间内WRE区域附近远至30 Kb的组蛋白都被乙酰化修饰,这可能与TCF的特性有关,TCF结合到DNA上时,会引起DNA多达

130度的弯曲<sup>[20,21]</sup>,从而使序列上远离的染色质部分在空间上拉近,便于beta-Catenin介导的乙酰化。H3K4的甲基化通常与基因的起始和延伸相联系,beta-Catenin的R11-C区域可以与具有H3K4甲基转移酶活性的MLL复合体结合,引起周围H3K4甲基化。E3泛素连接酶及RAD6对于H2BK123的泛素化修饰是H3K4甲基化的先决条件,体外实验表明泛素化修饰对于beta-Catenin下游的基因转录是必需的。beta-Catenin通过与Hyx-PAF1(polymerase associated factor 1)作用引起H2B泛素化及H3K4甲基化<sup>[18]</sup>。

转录激活需要核小体重排,暴露出相应的位点,促进转录因子与其的结合。SWI/SNF家族是一类具有ATPase活性的染色质重塑因子,其成员蛋白BRG1可以与beta-Catenin的R7~R12区域结合,参与beta-Catenin对下游基因的转录<sup>[22]</sup>。

beta-Catenin的N端可以与Bcl9结合,Bcl9是一类特异性参与beta-Catenin转录的辅因子,绝大部分的beta-Catenin下游的基因转录都需要Bcl9的参与<sup>[23]</sup>。Bcl9主要的功能区域包括HD1和HD2两个。HD2区域与beta-Catenin结合,HD1区域与Pygo的PHD区域结合,将beta-Catenin与Pygo联接起来<sup>[24]</sup>。Pygo由NHD与PHD两个区域构成。果蝇中,Pygo对于Wnt目标基因的转录是必需的。其NHD区域是转录激活区域,可以与mediator12、mediator13、TAF4<sup>[25]</sup>等结合,促进转录起始复合物的形成,使Pol II正确定位。Pygo的PHD区域可以结合H3K4甲基化的染色质,也有研究表明Pygo可以通过未知的因子与TCF结合,在静息状态下已结合在WRE区域,这些都提示Pygo可能通过与Bcl9-beta-Catenin的结合,促进beta-Catenin在WRE和转录活性位点的结合<sup>[18]</sup>。

随着研究的深入,不断发现新的参与beta-Catenin调控下游基因的转录辅助因子。我们最近的研究发现了Coop蛋白作为Pangolin的辅助抑制因子,可以与Armadillo竞争性结合Pangolin。当Coop过表达时,Armadillo与Pangolin的结合被干扰,从而抑制Wnt信号通路的下游基因表达。而Coop功能减弱或丧失时,Armadillo与Pangolin的结合增强,可以进一步促进下游基因的表达。目前的研究表明,Coop不会影响其它几种主要的信号通路,包括Hedgehog、BMP和Notch等。这说明Coop蛋白作为一种新的特异性的抑制因子参与了Wnt信号通路的调控过程<sup>[26]</sup>

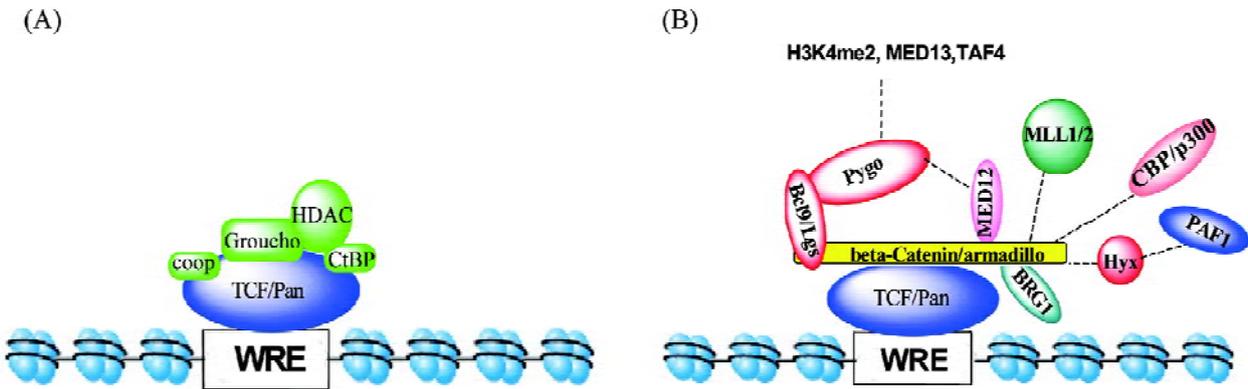


图2 Beta-Catenin 在核内调节其下游基因的转录

A: 在没有 beta-Catenin 的状态下, TCF 与 Groucho、CtBP、Coop 等抑制性因子结合, 招募 HDAC, 下游基因的转录被抑制; B: beta-Catenin 可以替换 Groucho 和 Coop 与 TCF 结合, 激活下游基因转录, 其 N 端通过 Bcl9-Pygo 与 MED12、MED13、TAF4、H3K4me2 结合, C 端与多种转录辅助因子结合, 如乙酰转移酶 CBP, 甲基转移酶 MLL, 染色质重塑因子 BRG1, 转录起始和延伸辅助因子 MED12、PAF1 等。

Fig.2 Beta-Catenin regulates transcription of its target genes in nucleus

A: in the absence of beta-Catenin, co-repressors such as Groucho, CtBP and Coop bind to TCF and recruit HDAC. In this context, transcription of Wnt downstream genes is repressed; B: beta-Catenin competes with Groucho and Coop to bind TCF, thus activating expression of Wnt target genes. The N-terminal of beta-Catenin can interact with Med12, Med13, TAF4 and H3K4me2 via Bcl9 and Pygo, while its C-terminal can bind many co-activators, including acetyltransferase CBP, methyltransferase MLL, chromatin remodeling factor BRG1, transcription initiation and elongation factors MED12 and PAF1.

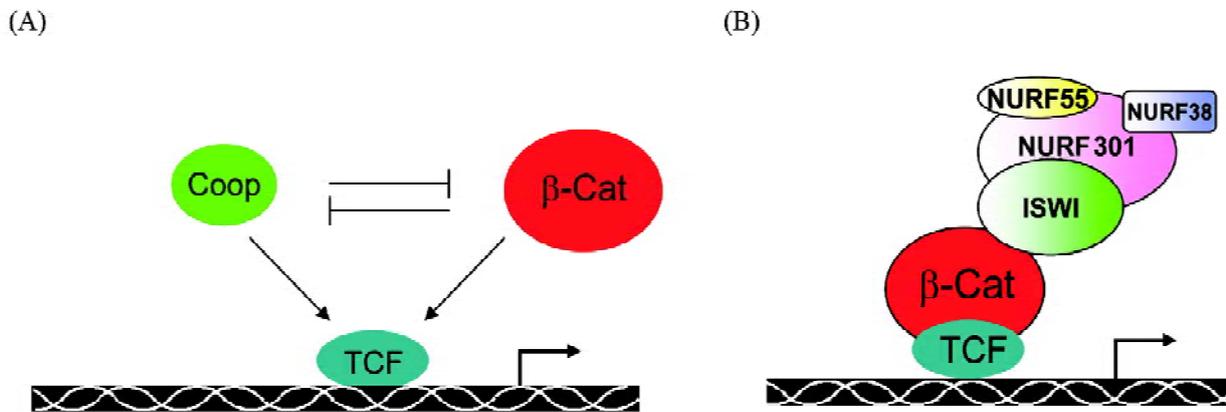


图3 Coop 和 ISWI 是新发现的 Wnt 通路的调节因子

A: Coop 是一类新发现的 Wnt 信号通路的抑制性因子, 可以与 beta-Catenin 竞争结合 TCF; B: 具有 ATPase 活性的 ISWI 作为 NURF 复合体的一员, 被 beta-Catenin 招募, 参与对下游基因的转录激活过程。

Fig.3 Coop and ISWI are newly discovered factors that regulate the Wnt pathway

A: as a newly identified repressive regulator of the Wnt pathway, Coop can compete with beta-Catenin to bind TCF; B: ISWI is the catalytic subunit of the NURF complex and functions as a chromatin remodeling ATPase, it also functions as a co-activator of beta-Catenin, and plays a positive role in the activation of Wnt target genes.

(图 3A)。另外一种蛋白 ISWI 是一种具有染色质重塑活性的 ATPase, 可以作为 NURF 复合物的一个亚基直接与 Armadillo 结合, 通过 NURF 复合物的功能促进下游基因的转录<sup>[27]</sup>(图 3B)。有趣的是, ISWI 以

及 NURF 并不能调控所有的 Wnt 下游基因, 这里有两种可能性。一种可能性是由于 beta-Catenin/Armadillo 能够招募多种功能相似的辅助激活因子, 因此不同细胞类型、不同发育阶段或者不同结构的基因

上,可以利用不同的辅助激活因子来调控不同下游基因的表达。另一种可能性是 ISWI 或者 NURF 只有在较强的 Wnt 信号存在时,才能参与对 Wnt 下游基因的调控,从而使 Wnt 蛋白作为形态发生素在组织表面形成的浓度梯度转化为不同层次的调控信号。

#### 1.4 Wnt 下游基因的反馈调控

Wnt 信号通路的生物学效应最终是通过控制其目标基因的表达实现的。Wnt 信号在不同的组织和发育阶段引起的效应各不相同,这预示着其调控的目标基因也是不同的。Wnt 的目标基因和其它方面的信息可以在(<http://www.stanford.edu/~rnusse/Wntwindow.html>)找到。一个有趣的现象是很多 Wnt 信号通路的调控因子的表达都受 Wnt 通路自身所调控,例如果蝇中 Wg 抑制正调控因子 Dfz2 的表达,而促进负调控因子 Axin 的表达,这显示了 Wnt 通路的自我反馈调节功能<sup>[2]</sup>。

## 2 Wnt 信号通路的生理功能

### 2.1 Wnt 与小肠组织稳定性

小肠表面有很多上皮细胞组成的微绒毛,有利于扩大吸收营养物质的面积。微绒毛上皮细胞的更新速度非常快,绒毛顶端的细胞不断死亡被清除,位于底部隐窝(crypt)的干细胞不断分化为上皮细胞来补充。干细胞的分化要经历一个快速增殖的前体细胞(transit amplifying)、特化的前体细胞(committed progenitor)。目前的研究表明 Wnt 信号通路在这一过程中起主导作用,TCF4 缺失的小鼠的隐窝前体细胞完全消失,过表达 Wnt 抑制剂 DKK 的成年小鼠缺乏隐窝结构,过表达 Wnt 的激动剂 R-spondin-1 能够引起隐窝前体细胞的过度增生<sup>[6]</sup>。

### 2.2 Wnt 与毛囊发生

表皮干细胞位于汗腺下方的隆突部位,表皮干细胞向上迁移分化为皮脂腺细胞,或者分化为角质干细胞,进而分化为毛囊间表皮细胞;向下迁移至毛囊的底部的生毛基质,进入快速增殖的状态,分化为整个毛发。现有的研究表明 Wnt 信号影响毛囊的数量,同时也决定表皮干细胞定向分化为各种终末分化细胞的能力。过表达稳定的 beta-Catenin 促进毛囊数量的增多<sup>[28]</sup>。在毛囊形成后特异性敲除 beta-Catenin,毛发会在一个周期后完全消失<sup>[29]</sup>,这是因为 beta-Catenin 缺失情况下,表皮干细胞失去了分化为角质细胞的能力,倾向于分化为表皮。TCF/Lef 家族中

的 TCF3 和 Lef1 在毛囊的细胞中表达,TCF3 在表皮干细胞中特异性表达,过表达 TCF3 抑制表皮干细胞的分化;Lef1 敲除的小鼠缺乏毛囊,过表达 Lef1 导致毛胚样结构的增多,过表达显性失活的 Lef1 抑制表皮干细胞向角质细胞分化,促使其向皮脂腺方向分化<sup>[30]</sup>。

### 2.3 Wnt 与造血干细胞

造血干细胞可以分化为各种血液细胞,骨髓中的造血干细胞以及它所处的微环境都可以分泌 Wnt 蛋白,这提示了 Wnt 对于造血干细胞的自我更新可能有重要意义。纯化的活性 Wnt3a 蛋白可以在体外促进小鼠造血干细胞的自我更新,提高其重构受到致死剂量放射性照射小鼠的造血系统的能力<sup>[8]</sup>。过表达组成型激活的 beta-Catenin 促进造血干细胞的自我更新,过表达 Axin 则抑制造血干细胞在体外的增殖,同时抑制其在体内重构造血系统的能力。在体内通过表达 Wnt 的抑制剂 DKK 抑制造血干细胞内 Wnt 信号通路活性会导致造血干细胞的周期加快,处于 G<sub>0</sub> 期的细胞数量明显减少,重构造血系统的能力明显降低,对 5-氟尿嘧啶的敏感性增强<sup>[31]</sup>。另外一些研究表明体内 Wnt 的过度激活抑制造血干细胞的分化能力,小鼠最终因贫血而死<sup>[32]</sup>。这些看似相互抵触的实验结果反映了 Wnt 的作用依赖于其所处的环境,其正常生物学功能的执行需要适度的活性。

### 2.4 Wnt 与骨密度

骨组织含有成骨细胞和破骨细胞,成骨细胞不断堆积骨基质,破骨细胞吸收骨基质,这两个过程的相对活性决定了骨密度。LRP5 的功能丧失突变会导致骨质疏松-假性神经胶质瘤综合征(osteoporosis-pseudoglioma syndrome, OPPG),其特征之一是骨密度降低,而 LRP5 的功能获得性突变则会引起高骨密度症(high bone mass, HBM),Wnt 通路的抑制剂 SOST、DKK、sFRP 的失活同样引起高骨密度症<sup>[33]</sup>。

### 2.5 Wnt 与脂肪细胞分化

脂肪细胞担负着储存和动员能量的功能,同时也作为一个内分泌器官分泌各种信号分子调节机体的能量代谢平衡。成熟脂肪细胞的分化过程包括从间充质干细胞特化为前脂肪细胞和前脂肪细胞终末分化为成熟脂肪细胞的过程。Wnt 信号通路对这两个阶段都有调节作用。在 MEF 细胞中过表达 Wnt10b 抑制其向脂肪细胞方向分化,促使其向成骨细胞方向分化<sup>[34]</sup>。过表达 Wnt 抑制剂 Sfrp1 的转基因小鼠脂

肪含量下降 20%，骨骼组织含量上升。Wnt10b 缺失的小鼠的成肌细胞中的脂肪细胞分化相关基因的表达明显上调，受到损伤后其肌纤维中有过量的脂肪滴形成。在终末分化阶段，Wnt 通路主要通过抑制 PPAR $\gamma$  和 CEBP $\alpha$  这两个核心转录因子来抑制脂肪细胞分化。Wnt10b 在前脂肪细胞中高表达，在诱导分化后，其水平迅速降低，利用脂肪细胞特有蛋白 FABP4 启动子控制表达的 Wnt10b 转基因小鼠体重比正常小鼠轻 50%，能抵抗高脂饮食诱导的肥胖，同时胰岛素敏感性增强<sup>[35]</sup>。PPAR $\gamma$  也能够反过来调节 Wnt 通路活性，有研究发现 PPAR $\gamma$  可以与 beta-Catenin 结合，引导其进入蛋白酶体降解途径<sup>[36]</sup>。

### 3 Wnt 信号通路与人疾病的关系

#### 3.1 Wnt 与结肠癌

癌细胞的特征之一是异常增殖和细胞周期的失控，Wnt 通路对于干细胞自我更新的调控也被癌细胞所利用。大部分的结肠癌一开始都由 Wnt 通路的异常激活引起，家族性结肠息肉病(familial adenomatous polyposis, FAP)是一种遗传性疾病，表现为结肠上皮的大量的腺瘤和息肉。FAP 是由 APC 的失活引起的，APC 失活导致核内 beta-Catenin 水平的上升，细胞不断增殖。伴随着 APC 突变细胞的不断增生，细胞其它的致癌基因或抑癌基因也可能发生突变，最终引起肿瘤的发生。在其他的一些结肠癌病例中还有 Wnt 通路中其他基因的突变，如 Axin 的功能缺失突变<sup>[37]</sup>，beta-Catenin N 端丝/苏氨酸降解控制区域(destruction motif)发生突变，抵抗 Axin 复合体的降解作用<sup>[38]</sup>。一般认为 Wnt 通路的异常激活引发结肠癌的机制与 Wnt 维持隐窝干细胞和增殖前体细胞的机制类似，通过调控 cyclinD 和 c-myc 的基因表达，使细胞长久维持在一个不断增殖的类似于前体细胞的状态，也为其它的致癌突变提供了一个窗口。

除结肠癌外，Wnt 信号通路的突变也会引起其它部位肿瘤的发生。例如大多数毛母质瘤(pilomatricoma)都伴随有 beta-Catenin 的突变。在一些肝癌病例中发现有 Axin 的功能缺失突变<sup>[6]</sup>。

#### 3.2 Wnt 与神经退行性疾病

Wnt 通路可能与神经退行性疾病有关。阿尔茨海默氏症是神经退行性疾病的一种，其特征包括细胞外 beta 淀粉样蛋白的沉积，细胞内 tau 蛋白过度磷酸

化引起的沉积和乙酰胆碱能神经元的死亡<sup>[39]</sup>。有研究表明 GSK-3 $\beta$  的抑制剂 LiCl 对神经退行性疾病模型有保护作用。Presenilin-1 蛋白的突变会引起家族早发性阿尔茨海默氏症，研究发现体内 Presenilin-1 会与 beta-Catenin 形成复合体，提高 beta-Catenin 的稳定性。Presenilin-1 的突变引起 beta-Catenin 降解增加，病人脑组织中的 beta-Catenin 水平显著下降，从而使神经元对 beta 淀粉样蛋白沉积引起的细胞凋亡更敏感<sup>[40]</sup>。

#### 3.3 Wnt 与糖尿病

糖尿病是现代危害人类健康的最重要的疾病之一，近年来的研究提示 Wnt 信号通路与糖尿病的发生有着密切的关系。全基因组关联分析发现 TCF7L2 第四个内含子上的多态性，是最显著的与二型糖尿病的发病率相关的遗传因素，关于 TCF7L2 如何引起二型糖尿病易感性的机制还不清楚，但现有的研究表明 TCF7L2 的糖尿病易感基因型主要与 beta 细胞的胰岛素分泌降低有关，与胰岛素敏感性无关<sup>[41]</sup>。

糖尿病的发生与胰岛 beta 细胞的数量与功能不足密切相关。Wnt 信号通路也可以调节胰岛 beta 细胞的增殖。在体外 knock-down TCF7L2 的表达水平降低了人原代 beta 细胞的增殖。利用 Wnt3a 处理体外培养的胰岛 beta 细胞系或胰岛，可以明显促进上调 Wnt 下游的转录因子 pitx2，pitx2 结合 cyclinD2 的启动子，增强 cyclinD2 的表达，最终促进 beta 细胞的增殖<sup>[42]</sup>。在体内 beta 细胞中特异性过表达 beta-Catenin 促进 beta 细胞的增殖，改善小鼠的血糖耐受性。过表达 Axin 则会抑制 pitx2 和 cyclinD2 的表达，降低 beta 细胞的增殖。LRP5 敲除的小鼠表现为葡萄糖刺激的胰岛素分泌水平降低<sup>[43]</sup>。这些研究结果表明了 Wnt 信号通路影响胰岛 beta 细胞的数量和胰岛素的分泌。

成熟的脂肪细胞作为内分泌组织可以分泌很多信号分子，包括 Wnt。利用人脂肪细胞培养基处理胰岛 beta 细胞，可以提高 beta 细胞内的 Wnt 信号通路活性，促进其增殖和胰岛素分泌能力<sup>[44]</sup>。

### 4 利用模式生物果蝇研究信号转导通路的优势

大部分信号转导通路在进化上具有高度的保守性。对比哺乳动物和果蝇的信号通路可以看到，它

们利用高度同源性的调节因子来调控相似的生长或代谢功能。以 Wnt/Wingless 通路为例, Wnt 通路中已知的重要调控因子如 Wnt、Frizzled、Dishevelled、Axin、beta-Catenin、TCF 等在 Wingless 通路中都可以找到相对应的同源蛋白<sup>[45]</sup>。利用果蝇体系研究信号转导通路的优势在于: 首先, 果蝇体系中的功能冗余较少, 这大大降低了研究的复杂性。例如, Wnt 通路中的关键调节因子 TCF 在小鼠中拥有 4 种同源蛋白, 而在果蝇中只存在一种同源蛋白。其次, 果蝇体系中的遗传学手段非常成熟。与哺乳动物研究相比, 人们能够比较容易地操纵果蝇中组织特异性的基因表达或者条件性的基因敲除。因此, 果蝇体系是研究信号转导通路理想的动物模型。人们所熟悉的通路, 像 Wnt/Wingless、Notch、Hedgehog 和 Hippo 通路以及调控它们的关键调节因子最初都是在果蝇中被发现, 并从而开始被深入研究的<sup>[46-49]</sup>。

果蝇个体小, 生命周期短, 有利于转基因株的大量构建和保存。在果蝇的研究体系中, 全基因组范围的转基因 RNAi 文库已分别在奥地利、日本和美国建立<sup>[50-52]</sup>。利用这样的文库人们可以系统性地体内进行功能丧失的研究。而全基因组范围的转基因过表达文库也在构建中。利用这样的文库人们可以系统性地体内进行功能获得的研究。以上两类文库在其它模式生物中尚未建立。因此可以预见, 在未来对信号通路的调控机理及其与疾病关系的研究中, 人们将会越来越多地利用果蝇模式生物的优势。

### 参考文献(References)

- Polakis P. The many ways of Wnt in cancer. *Curr Opin Genet Dev* 2007; 17(1): 45-51.
- Logan CY, Nusse R. The Wnt signaling pathway in development and disease. *Annu Rev Cell Dev Biol* 2004; 20: 781-810.
- Klaus A, Birchmeier W. Wnt signalling and its impact on development and cancer. *Nat Rev Cancer* 2008; 8(5): 387-98.
- Prestwich TC, Macdougald OA. Wnt/beta-catenin signaling in adipogenesis and metabolism. *Curr Opin Cell Biol* 2007; 19(6): 612-7.
- Welters HJ, Kulkarni RN. Wnt signaling: relevance to beta-cell biology and diabetes. *Trends Endocrinol Metab* 2008; 19(10): 349-55.
- Reya T, Clevers H. Wnt signalling in stem cells and cancer. *Nature* 2005; 434(7035): 843-50.
- Komekado H, Yamamoto H, Chiba T, Kikuchi A. Glycosylation and palmitoylation of Wnt-3a are coupled to produce an active form of Wnt-3a. *Genes Cells* 2007; 12(4): 521-34.
- Willert K, Brown JD, Danenberg E, Duncan AW, Weissman IL, Reya T, *et al.* Wnt proteins are lipid-modified and can act as stem cell growth factors. *Nature* 2003; 423(6938): 448-52.
- Takada R, Satomi Y, Kurata T, Ueno N, Norioka S, Kondoh H, *et al.* Monounsaturated fatty acid modification of Wnt protein: its role in Wnt secretion. *Dev Cell* 2006; 11(6): 791-801.
- Panakova D, Sprong H, Marois E, Thiele C, Eaton S. Lipoprotein particles are required for Hedgehog and Wingless signalling. *Nature* 2005; 435(7038): 58-65.
- Kimelman D, Xu W. Beta-catenin destruction complex: insights and questions from a structural perspective. *Oncogene* 2006; 25(57): 7482-91.
- Luo W, Zou H, Jin L, Lin S, Li Q, Ye Z, *et al.* Axin contains three separable domains that confer intramolecular, homodimeric, and heterodimeric interactions involved in distinct functions. *J Biol Chem* 2005; 280(6): 5054-60.
- Lee E, Salic A, Kruger R, Heinrich R, Kirschner MW. The roles of APC and Axin derived from experimental and theoretical analysis of the Wnt pathway. *PLoS Biol* 2003; 1(1): E10.
- Zeng X, Tamai K, Doble B, Li S, Huang H, Habas R, *et al.* A dual-kinase mechanism for Wnt co-receptor phosphorylation and activation. *Nature* 2005; 438(7069): 873-7.
- MacDonald BT, Yokota C, Tamai K, Zeng X, He X. Wnt signal amplification via activity, cooperativity, and regulation of multiple intracellular PPPSP motifs in the Wnt co-receptor LRP6. *J Biol Chem* 2008; 283(23): 16115-23.
- Cavallo RA, Cox RT, Moline MM, Roose J, Polevoy GA, Clevers H, *et al.* *Drosophila* Tcf and Groucho interact to repress Wingless signalling activity. *Nature* 1998; 395(6702): 604-8.
- Graham TA, Weaver C, Mao F, Kimelman D, Xu W. Crystal structure of a beta-catenin/Tcf complex. *Cell* 2000; 103(6): 885-96.
- Mosimann C, Hausmann G, Basler K. Beta-catenin hits chromatin: regulation of Wnt target gene activation. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2009; 10(4): 276-86.
- Hecht A, Vlemminckx K, Stemmler MP, van Roy F, Kemler R. The p300/CBP acetyltransferases function as transcriptional coactivators of beta-catenin in vertebrates. *EMBO J* 2000; 19(8): 1839-50.
- Parker DS, Ni YY, Chang JL, Li J, Cadigan KM. Wingless signaling induces widespread chromatin remodeling of target loci. *Mol Cell Biol* 2008; 28(5): 1815-28.
- Giese K, Cox J, Grosschedl R. The HMG domain of lymphoid enhancer factor 1 bends DNA and facilitates assembly of functional nucleoprotein structures. *Cell* 1992; 69(1): 185-95.
- Waltzer L, Vandel L, Bienz M. Teashirt is required for transcriptional repression mediated by high Wingless levels. *EMBO J* 2001; 20(1-2): 137-45.
- Thompson B, Townsley F, Rosin-Arbesfeld R, Musisi H, Bienz

- M. A new nuclear component of the Wnt signalling pathway. *Nat Cell Biol* 2002; 4(5): 367-73.
- 24 Kramps T, Peter O, Brunner E, Nellen D, Froesch B, Chatterjee S, *et al.* Wnt/wingless signaling requires BCL9/legless-mediated recruitment of pygopus to the nuclear beta-catenin-TCF complex. *Cell* 2002; 109(1): 47-60.
- 25 Wright KJ, Tjian R. Wnt signaling targets ETO coactivation domain of TAF4/TFIID *in vivo*. *Proc Natl Acad Sci USA* 2009; 106(1): 55-60.
- 26 Song H, Goetze S, Bischof J, Spichiger-Haeusermann C, Kuster M, Brunner E, *et al.* Coop functions as a corepressor of Pangolin and antagonizes Wingless signaling. *Genes Dev* 24(9): 881-6.
- 27 Song H, Spichiger-Haeusermann C, Basler K. The ISWI-containing NURF complex regulates the output of the canonical Wingless pathway. *EMBO Rep* 2009; 10(10): 1140-6.
- 28 Gat U, DasGupta R, Degenstein L, Fuchs E. De Novo hair follicle morphogenesis and hair tumors in mice expressing a truncated beta-catenin in skin. *Cell* 1998; 95(5): 605-14.
- 29 Huelsken J, Vogel R, Erdmann B, Cotsarelis G, Birchmeier W. beta-Catenin controls hair follicle morphogenesis and stem cell differentiation in the skin. *Cell* 2001; 105(4): 533-45.
- 30 DasGupta R, Fuchs E. Multiple roles for activated LEF/TCF transcription complexes during hair follicle development and differentiation. *Development* 1999; 126(20): 4557-68.
- 31 Fleming HE, Janzen V, Lo Celso C, Guo J, Leahy KM, Kronenberg HM, *et al.* Wnt signaling in the niche enforces hematopoietic stem cell quiescence and is necessary to preserve self-renewal *in vivo*. *Cell Stem Cell* 2008; 2(3): 274-83.
- 32 Scheller M, Huelsken J, Rosenbauer F, Taketo MM, Birchmeier W, Tenen DG, *et al.* Hematopoietic stem cell and multilineage defects generated by constitutive beta-catenin activation. *Nat Immunol* 2006; 7(10): 1037-47.
- 33 Hartmann C. A Wnt canon orchestrating osteoblastogenesis. *Trends Cell Biol* 2006; 16(3): 151-8.
- 34 Bennett CN, Hodge CL, MacDougald OA, Schwartz J. Role of Wnt10b and C/EBPalpha in spontaneous adipogenesis of 243 cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2003; 302(1): 12-6.
- 35 Christodoulides C, Lagathu C, Sethi JK, Vidal-Puig A. Adipogenesis and WNT signalling. *Trends Endocrinol Metab* 2009; 20(1): 16-24.
- 36 Moldes M, Zuo Y, Morrison RF, Silva D, Park BH, Liu J, *et al.* Peroxisome-proliferator-activated receptor gamma suppresses Wnt/beta-catenin signalling during adipogenesis. *Biochem J* 2003; 376(Pt 3): 607-13.
- 37 Kinzler KW, Vogelstein B. Lessons from hereditary colorectal cancer. *Cell* 1996; 87(2): 159-70.
- 38 Morin PJ, Sparks AB, Korinek V, Barker N, Clevers H, Vogelstein B, *et al.* Activation of beta-catenin-Tcf signaling in colon cancer by mutations in beta-catenin or APC. *Science* 1997; 275(5307): 1787-90.
- 39 Moon RT, Kohn AD, De Ferrari GV, Kaykas A. Wnt and beta-catenin signalling: diseases and therapies. *Nat Rev Genet* 2004; 5(9): 691-701.
- 40 Inestrosa NC, Toledo EM. The role of Wnt signaling in neuronal dysfunction in Alzheimer's Disease. *Mol Neurodegener* 2008; 3: 9.
- 41 Florez JC, Jablonski KA, Bayley N, Pollin TI, de Bakker PI, Shuldiner AR, *et al.* TCF7L2 polymorphisms and progression to diabetes in the Diabetes prevention program. *N Engl J Med* 2006; 355(3): 241-50.
- 42 Rulifson IC, Karnik SK, Heiser PW, ten Berge D, Chen H, Gu X, *et al.* Wnt signaling regulates pancreatic beta cell proliferation. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007; 104(15): 6247-52.
- 43 Fujino T, Asaba H, Kang MJ, Ikeda Y, Sone H, Takada S, *et al.* Low-density lipoprotein receptor-related protein 5 (LRP5) is essential for normal cholesterol metabolism and glucose-induced insulin secretion. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003; 100(1): 229-34.
- 44 Schinner S. Wnt-signalling and the metabolic syndrome. *Horm Metab Res* 2009; 41 (2): 159-63.
- 45 Dierick H, Bejsovec A. Cellular mechanisms of wingless/Wnt signal transduction. *Curr Top Dev Biol* 1999; 43: 153-90.
- 46 Cabrera CV, Alonso MC, Johnston P, Phillips RG, Lawrence PA. Phenocopies induced with antisense RNA identify the wingless gene. *Cell* 1987; 50(4): 659-63.
- 47 Ingham PW, Taylor AM, Nakano Y. Role of the *Drosophila* patched gene in positional signalling. *Nature* 1991; 353(6340): 184-7.
- 48 Kidd S, Lockett TJ, Young MW. The Notch locus of *Drosophila melanogaster*. *Cell* 1983; 34(2): 421-33.
- 49 Wu S, Huang J, Dong J, Pan D. Hippo encodes a Ste-20 family protein kinase that restricts cell proliferation and promotes apoptosis in conjunction with salvador and warts. *Cell* 2003; 114(4): 445-56.
- 50 Dietzl G, Chen D, Schnorrer F, Su KC, Barinova Y, Fellner M, *et al.* A genome-wide transgenic RNAi library for conditional gene inactivation in *Drosophila*. *Nature* 2007; 448(7150): 151-6.
- 51 Leulier F, Ribeiro PS, Palmer E, Tenev T, Takahashi K, Robertson D, *et al.* Systematic *in vivo* RNAi analysis of putative components of the *Drosophila* cell death machinery. *Cell Death Differ* 2006; 13(10): 1663-74.
- 52 Ni JQ, Markstein M, Binari R, Pfeiffer B, Liu LP, Villalta C, *et al.* Vector and parameters for targeted transgenic RNA interference in *Drosophila melanogaster*. *Nat Methods* 2008; 5(1): 49-51.

## Regulation of Wnt Signaling: Mechanisms and Biological Significance

Ding-Zi Yin, Hai-Yun Song\*

*(Key Laboratory of Systems Biology, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200031, China)*

**Abstract** The Wnt signaling pathway is highly conserved during evolution, and plays important roles in animal growth, development, metabolism, and maintenance of stem cells. Misregulation of Wnt signaling contributes to human diseases including cancer, obesity and diabetes. Beta-Catenin and TCF are key regulators in the canonical Wnt pathway, controlling expression of genes involved in growth and metabolism. Here we will discuss the progress in the study of mechanisms that regulate the canonical Wnt pathway, and the implications in human diseases.

**Key words** Wnt; beta-Catenin; TCF; development; disease

---

This work was supported by 100 Talents Program of the Chinese Academy of Sciences (No.2010OHTP12) and 973 Program (No. 2011CB943900)

\*Corresponding author. Tel: 86-21-64363829, E-mail: hysong@sibs.ac.cn