

Tankyrases的抑制作用于经典Wnt途径: 治疗癌症的新靶点

包人月¹ 严小军^{1,2*} 刘建新^{1*}

(¹浙江大学动物科学学院, 杭州 310029; ²宁波大学海洋生物工程重点实验室, 宁波 315211)

摘要 Wnt信号途径涉及一系列发育的过程, 其异常激活可以导致多种癌症。《Nature》报道了一系列作用于Wnt信号途径的新型小分子抑制剂。这些小分子抑制剂的作用目标是端锚聚合酶Tankyrases, 它负责控制降解Wnt信号途径中的 β -catenin。在此过程中, E3泛素连接酶与Tankyrases的调控也有关联, 泛素化蛋白酶系统起着重要的监管职能。通过这些新型的小分子抑制剂来调控Wnt信号途径及其核心部件可能为Wnt相关的癌症治疗提供一种新的手段。该文重点阐述了通过小分子化合物抑制Tankyrases作用于经典Wnt途径及其与癌症治疗的研究进展。

关键词 Wnt; β -catenin; Tankyrases

1 引言

Wnt基因是一种原癌基因, 1982年, 由DasGupta等^[1]从鼠类乳腺癌病毒诱导的小鼠乳腺癌中克隆获得, 当时被称为*int-1*基因。经典Wnt信号途径的关键因子是 β -catenin。

在缺乏Wnt信号配体的情况下, β -catenin主要存在于轴蛋白抑制剂(axis inhibitor, Axin)、磷酸酪蛋白激酶1(casein kinase 1, CK1)、糖原合酶激酶3 β (glycogen synthase kinase 3 β , GSK3 β)以及腺瘤性息肉病基因产物蛋白(adenomatous polyposis coli, APC)组成的降解复合体^[2-3]中并被磷酸化。这种磷酸化使它被E3泛素连接酶 β TrCP识别, 泛素化并被蛋白酶体所降解^[4]。通过CK1、GSK3 β 对 β -catenin磷酸化的作用, 使得游离的 β -catenin在细胞质中的水平很低。

在Wnt信号配体存在的情况下, Axin离开降解复合体进入质膜^[5-6], β -catenin随之被降解, 复合体大量释放, 细胞质中增加的自由的 β -catenin蛋白磷酸化降解过程被阻碍并积聚, 最终进入细胞核与淋巴增强子结合因子1(lymphoid enhancer-binding factor 1, LEF1/TCF1)相互作用, 调节下游基因的表达^[7](图1)。这些下游基因与许多癌症有牵连^[8]。经典Wnt受体信号通向Wnt信号途径中的关键组件是Axin和Dvl蛋白。通过一个未知的机制, 受体激活Dvl并促进解散细胞质内的降解复合体, 并由此磷酸化 β -catenin^[9]。TCF则是一类具有双向调节功能的转录因子, 它与Groucho结合抑制基因转录, 而与 β -catenin结合则促进基因转录。

《Nature》研究报道了一系列作用于Wnt信号途径的新型小分子抑制剂^[10-11]。这些小分子抑制剂的作用目标是端锚聚合酶Tankyrases, 它负责控制降解Wnt信号途径中的 β -catenin。XAV939和IWR-1-endo就是两种新型的小分子化合物, 能与Tankyrases结合并刺激 β -catenin的磷酸化。它们对Wnt信号途径的抑制效果取决于破坏降解复合体中Axin的作用^[10-11]。XAV939可以抑制Tankyrases的活性, 并有可能通过Axin的聚ADP-核糖基化(PARylation)来稳定Axin和抑制经典Wnt信号途径, IWR-1-endo也可以结合并稳定Axin^[11]。这两种化合物在体外可以抑制结肠癌细胞增殖, 在体内可以抑制斑马鱼尾鳍和肠道组织再生, 而这两种表型都被经典Wnt信号途径所控制。

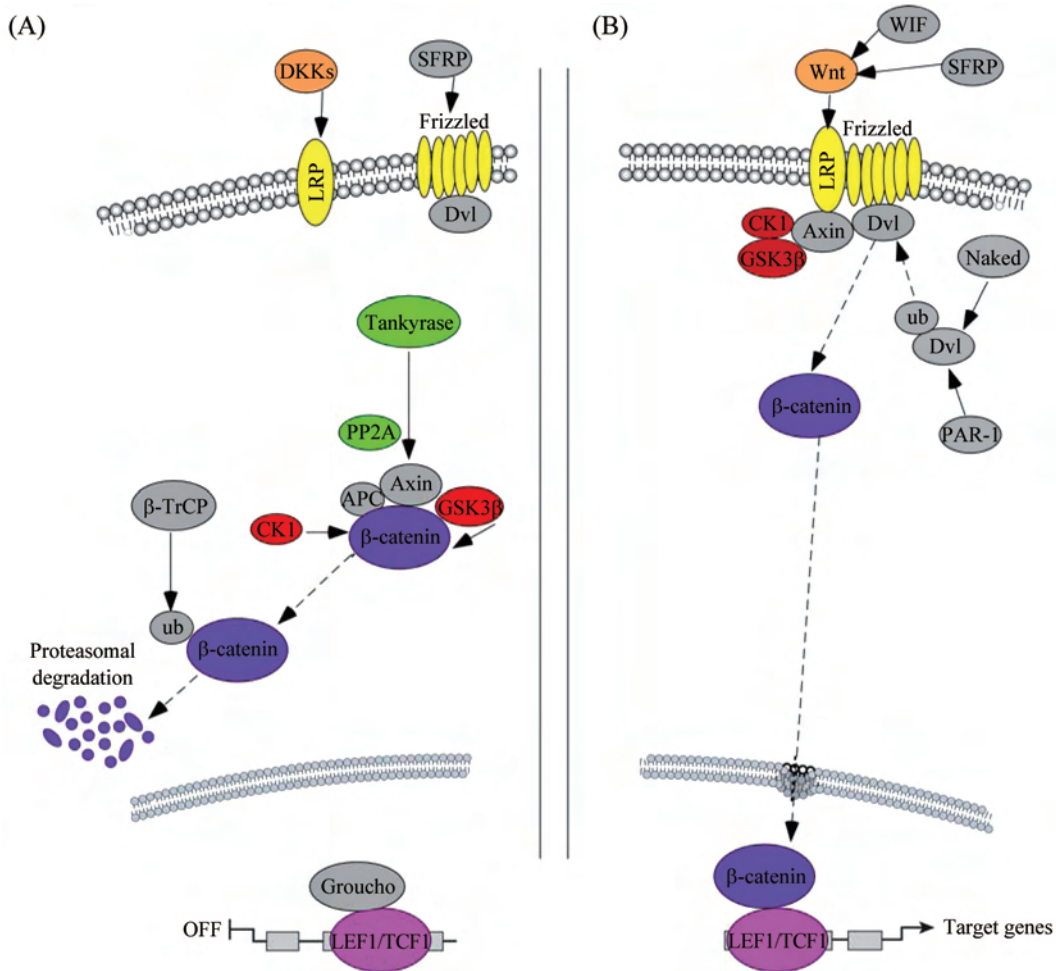
Tankyrases是首个被发现的能与端粒酶重复绑定序列(telomeric repeat binding factor 1, TRF1)结合的蛋白, 属于聚ADP-核糖聚合酶(poly ADP-ribose polymerase, PARP)蛋白家族。人类的Tankyrases1(TNKS1)和Tankyrases2(TNKS2)也分别被称为PARP-5a和PARP-5b^[12]。它们在调节染色体末端的端粒长度时是一个关键因素。Tankyrases被证明在端粒维持、姐妹染色单体分离、通过TRF1 PARylation(PARP家族酶裂解NAD⁺产生ADP-核糖和烟酰胺以及转移ADP-

收稿日期: 2012-07-02 接受日期: 2012-07-30

国家留学基金委公派CSC(No.2008632066)资助项目

*通讯作者。Tel: 0574-87600738, E-mail: yanxiaojun@nbu.edu.cn;

Tel: 0571-88982097, E-mail: liujx@zju.edu.cn



A: 在基础水平时, Wnt信号转导正常的情况下, β -catenin存在于一个多元复合物(降解复合体)内; B: Wnt配体存在的情况下, 其与Wnt以及它的两个共同受体Frizzled和LRP在细胞表面相互作用, 可以促进Frizzled-Dishevel复合体的形成并通过CK1和GSK3 β 磷酸化LRP。上述这些改变, 能够允许Axin与LRP的胞内域结合。因此Axin远离了降解复合体并被运往细胞表面, 导致了降解复合体的解离。 β -catenin因此被释放, 并进入细胞核。一旦进入了细胞核, β -catenin可以与TCF1/LEF1的转录因子家族结合从而取代了转录抑制因子, 并激活和促进各种细胞增殖和决定细胞命运的基因表达。

A: in the basal state, defined by an absence of Wnt signal, β -catenin is held within a multicomponent complex; B: in the presence of Wnt ligand, the cell surface interaction between Wnt and its two co-receptors Frizzled and LRP promotes the formation of a Frizzled-Dishevelled complex and the phosphorylation of LRP by CK1 and GSK3 β . These modifications allow for Axin to bind the LRP intracellular domain. Axin is sequestered away from the destruction complex, to the cell surface, resulting in the dissociation of the multicomponent complex. β -catenin is freed, and enters the nucleus. Once in the nucleus, β -catenin interacts with members of the TCF1/LEF1 transcription factor family displacing transcriptional repressors and recruiting a host of co-activators to promote the expression of a variety of proliferative and cell-fate determining genes.

图1 经典的Wnt信号转导途径

Fig.1 Overview of the canonical Wnt signaling pathway

核糖到靶蛋白, 产生的翻译后修饰, 简称为PARsylation)进行的有丝分裂、以及脂肪细胞的葡萄糖转运过程中起作用^[13]。许多PARP蛋白的细胞功能仍不清楚。

Tankyrases在药学中发挥的重要作用主要体现在使端粒动态平衡和Wnt信号途径中^[14](通过PARsylation共价作用靶定蛋白从而调节其功能^[15-16])。这

些特点使得Tankyrases成为了治疗癌症的新型潜在目标。

端粒酶的活性和Wnt经典途径在控制干细胞和癌症方面都起着重要作用^[17-18]。最近的报道也发现了端粒酶与Wnt经典途径的关系, 发现 β -catenin的突变可增强癌症中端粒酶复合体亚基Tert^[19]的表达上升并且使得端粒稳定^[20]。而TRF1与Wnt经典途径的

关系目前未见报道,有待于进一步的研究。

2 Tankyrases通过稳定Axin抑制经典Wnt信号途径

2.1 通过Tankyrases抑制Wnt信号途径的广泛性

无论在果蝇还是哺乳动物中都可以用TNKS1/2 siRNA的方法来增加Axin的水平并抑制Wnt信号途径,证明了Tankyrases在影响Wnt信号途径的作用方面很保守^[11]。Tankyrases通过九个氨基酸序列区域结合Axin蛋白的氨基末端^[11],而这9个氨基酸序列区域从果蝇到人类都保持一致。迄今为止,尽管有限的研究还不足以将表型与已知相关的Wnt信号途径缺陷相关联,但*Tankyrases1*和*Tankyrases2*双敲除的小鼠胚胎在第10天表现出了致死性,暗示了Tankyrases对Wnt信号途径调控的重要性^[21]。因此,在果蝇和小鼠*Tankyrases*基因的研究中进一步观察Tankyrases是否能普遍抑制Axin显得尤为重要。

Wnt信号途径在多种人类癌症中发挥了至关重要的作用。由于这一途径药物的贫乏,识别和调节Wnt信号途径的小分子显得尤为重要。除了已经报道的XAV939和IWR-1-endo外,最近发现[1,2,4]-三氮唑-3-基磺酰基甲基-3-苯基-[1,2,4]恶二唑抗剂也可以通过结合新型腺苷抑制Tankyrases1和Tankyrases2来抑制Wnt信号途径^[22]。一系列有关Tankyrases与Wnt信号途径的文章也陆续被报道,证明了通过抑制Tankyrases可以稳定Axin并且抑制Wnt信号途径,并提出了通过Tankyrases PARsylation作用的化合物,对癌症治疗的研究具重大意义^[11]。

虽然最近的研究表明,利用小分子拮抗剂作用于细胞中Tankyrases1和Tankyrases2是经典Wnt信号途径的关键节点。然而,在斑马鱼胚胎发育的过程中,Tankyrases未必是Wnt信号途径的一般或者核心组件^[10]。而在小鼠发育过程中广泛表达的Tankyrases1和Tankyrases2对其肾和肺的发育过程就很重要。Tankyrases的激活可在小鼠肾的发育中阻断Wnt信号转导产生的效果^[23]。另外,通过激活 β -catenin抑制Tankyrases的作用也展示了其在Wnt信号通路中的特殊性。在一些类型的细胞中Tankyrases抑制剂的治疗作用似乎是完全可逆的^[23]。这些研究都表明,Tankyrases是典型的Wnt信号转导拮抗剂的核心部件,其抑制剂应享有广泛的应用。

在小鼠胚胎细胞中,Axin2表现出了组织特异

性,可以抑制或激活Wnt信号转导^[24]。Axin2在人类不成熟的细胞、新生儿脑白质病变(oligo-dendroglial progenitors, OLPs)与新生儿缺氧缺血性脑损伤等少突胶质祖细胞以及在成人多发性硬化病变细胞中都有表达。*Axin2*是Wnt信号途径转录激活、负反馈通路以及促进 β -catenin降解的目标基因。小分子抑制剂XAV939可以通过作用于Tankyrases稳定Axin2水平,在大脑和脊髓中加速缺氧和脱髓鞘损伤后的髓鞘细胞分化^[24]。所以,Tankyrases稳定Axin2的功能也是髓鞘细胞重要的调节机制。本实验室的研究工作也证实了新型小分子抑制剂(铁离子络合物)能稳定Axin并抑制经典Wnt信号途径的作用,具体机制有待于进一步的探索^[25]。

2.2 结合Tankyrases稳定Axin的作用与抑制剂晶体结构有关

在以HEK293细胞为基础的化合物筛选中,发现了XAV939是一种结构独特的Wnt信号抑制剂。其与IWR-1-endo都可以抑制Tankyrases,并通过稳定Axin来抑制Wnt信号途径中 β -catenin的水平^[11]。这两种化合物不仅在细胞中可以抑制Wnt信号转导,而且在有APC突变的能形成高的 β -catenin信号的DLD-1和SW480结肠癌细胞株中也能发挥作用,甚至在缺乏APC功能的细胞中也能发挥作用^[10-11]。APC活性增强可以刺激 β -catenin被GSK3 β 磷酸化,从而促进 β -catenin的降解,在 β -catenin的稳定性中起负调节作用。反之,如果APC表达缺失可以使 β -catenin在核内积聚,进而激活相关靶基因的转录。在大部分的结直肠癌中均可以检测到APC基因的突变。也有文章指出,IWR-1-endo作用于Axin的方式不同于XAV939^[26]。

既然XAV939、IWR-1这些小分子化合物能够稳定Axin,那么它们结合Tankyrases的精确机制需要有晶体结构的研究来支持,这将有助于未来能更有效、更合理地设计下几代Tankyrases抑制剂。

最近一篇研究晶体结构的文章指出,NAD⁺、烟酰胺、IWR-1、PARP抑制剂1和PARP抑制剂2与Tankyrases2的结合诱导了特定的构象变化,揭示了Tankyrases底物结合环的灵活性并解释了Tankyrases现有的结构与活性之间的关系^[27]。观察烟酰胺复合物与NAD⁺处理过的晶体TNKS2作用证实了之前设想的抑制剂的结合位点是正确的。揭示蛋白酶裂解的蛋白被激活不会破坏晶体结构并可容纳抑制剂,以及酶裂解可能影响受体结合位点靶蛋白的亲

力,但并不直接影响利用PARP结合点的抑制剂。

TNKS2与PARP选择性抑制剂1的复合物结构显示了PARP1和PARP2相互作用的方式大多是保守的。PARP抑制剂1诱导TNKS2 D-环区域开放,成为不封闭的构象。这种开放式的结构是底物结合所需要的,结合NAD⁺就需要这样的开放结构^[28-29]。PARP抑制剂2不使用烟酰胺结合位点,而使用大部分PARPs其他抑制剂的结合位点。PARP抑制剂2结合导致的结构变化同样也影响烟酰胺结合位点,更重要的一点是,这会诱导D-环区域的开放。TNKS2和PARP抑制剂2之间独特的相互作用定义了一个通过设计监管D-环区域来控制PARPs抑制剂的新药物模型,此研究还提出,IWR-1抑制剂是与Tankyrases中并不广泛使用的烟酰胺结合位点结合的,指出IWR-1抑制剂的研究对PARP抑制剂结构方面的研究具有重要的意义^[27]。

IWR-2与Tankyrases1复合物的研究也为Tankyrases晶体结构的重要性提供了一个有力的证据,指出IWR-2不是与烟酰胺结合位点结合,而是与其他的位点结合,其不同于XAV939与Tankyrases的结合位点,揭示IWR化合物可能是Tankyrases的非竞争性抑制剂,为Tankyrases抑制剂的进一步发展提供了线索^[30]。

XAV939作为Tankyrases2的高效抑制剂,也为Tankyrases晶体结构的研究提供了依据,同时还指出,XAV939与Tankyrases1结合时,为了适应抑制剂D-环必须是灵活的^[28]。

Tankyrases蛋白质参与了两个端粒酶的调控,也参与了Wnt信号途径的调控。端粒酶还可参与共同激活皮肤和肠道干细胞中的Wnt信号^[26]。Tankyrases和端粒酶之间,端粒酶在维护干细胞中Wnt信号的两个进程之间或许比我们目前所理解的更为密切。发现XAV939和IWR-1结合Tankyrases的作用更是代表了在两种化合物研究方面的重大进展和了解Wnt信号途径研究机制上的重大进步。总之,这两种化合物都是通过作用于Tankyrases从而稳定Axin来抑制Wnt途径的。

2.3 Tankyrases耦合Axin调节Wnt信号途径与RNF-146泛素化途径有关

Tankyrases是如何使Axin蛋白稳定并且积累的,以及这个过程如何影响了Tankyrases的功能与水平,目前也正在研究中。经典Wnt信号转导控制细胞内的

β -catenin蛋白水平,并依赖于降解复合物使 β -catenin磷酸化,使之成为泛素化和蛋白酶体降解的目标。Axin功能的消失是通过重新定位Axin蛋白并与Wnt信号受体配合来使Wnt信号转导被激活的。受Tankyrases介导的PARsylation破坏了Axin的功能和促进了Wnt信号转导,提高了Axin1和Axin2蛋白的水平^[31](图1)。

通过RNAi筛选,确定了RNF146环型泛素E3连接酶作为Wnt信号途径中的正调控因子,它可以通过Tankyrases稳态调节Axin保持较低的蛋白水平而促进Wnt信号转导^[31]。RNF146是细胞质蛋白,可防止Tankyrases蛋白质在中心体的位置聚集^[31]。RNF146可直接PARsylation,通过其WWE的区域促进蛋白质的降解。Tankyrases自动PARsylation和Axin的PARsylation的过程是已知的,可以介导蛋白酶降解这些蛋白质,RNF146被识别为一个PARsylation导向的E3连接酶,并由此建立了一个与Tankyrases依赖PARsylation泛素化相关的分子机制。RNF146依赖的蛋白降解可能作为Tankyrases发挥其主要功能的一个机制。RNF146介导此过程证明了通过泛素化也可以调节Wnt信号转导。

通过泛素化/蛋白酶降解途径降解磷酸化的 β -catenin,使细胞质 β -catenin蛋白保持在一个较低的水平。Axin的PARsylation是通过Tankyrases依赖性模式的。无论在体外还是体内,Axin的PARsylation都需要通过蛋白酶来完成其随后泛素化和降解过程^[11]。当化合物通过抑制PARsylation、Tankyrases1、Tankyrases2并稳定Axin时,这两个Tankyrases亚型在Axin的高度保守结构域相互作用,并通过泛素-蛋白酶体途径促进Axin的降解。促进Tankyrases Axin的泛素化和降解,至少部分是通过Axin直接的PARsylation^[11]。液相色谱-串联质谱在分析Wnt信号途径中纯化的Axin蛋白复合物中泛素蛋白酶的作用时,揭示了泛素蛋白酶USP34的存在。USP34作用于Wnt信号途径中的降解复合物,通过与Tankyrases依赖的泛素化过程相拮抗来稳定Axin。此过程要求严格控制Wnt信号转导中Axin的动态平衡,用RNAi去影响USP34功能将导致Axin的降解和 β -catenin介导的转录被抑制^[32]。

RNF146还可使Tankyrases1、Tankyrases2蛋白不稳定。在它们的相互关系中,Tankyrases的激活降低了RNF146蛋白的水平。RNF146、Tankyrases、Axin形成了一个蛋白复合物。RNF146通过蛋白酶体降

解调节了这三种蛋白的泛素化过程。Axin的稳定性可由Tankyrases调控,其浓度限制了 β -catenin破坏复合物的组成部分^[31]。然而, Tankyrases依赖PARsylation耦合Axin泛素化和降解的分子机制却仍然有待于研究。

3 结语与展望

迄今为止, Axin的稳定调控仍然有许多地方不清楚。(1) Tankyrases如何通过PARsylation破坏Axin; (2) 为什么需要Axin的PARsylation, 是否与泛素化相关途径的需要有关; (3) Axin蛋白磷酸化显著增加磷酸化CK1和GSK3的稳定性, Axin也许作为它们的激酶^[33]; (4) Wnt信号转导是否会影响Tankyrases的活性或功能; (5) Tankyrases在体内对于Wnt信号途径的作用仍不清楚; (6) Wnt信号途径在干细胞中的基本特征调控与老化/衰老两个进程之间的关系也许比我们目前了解的更为密切。

像Wnt这样逐渐发展的重要的信号途径, 可以协调细胞迁移、增殖、黏附和死亡的过程, 不仅在发育的过程中有重要作用也在组织动态平衡中起作用^[7]。当一个Wnt信号通路失调时会导致各种病理性症状。这些情况包括各类癌症^[34]、失去组织的动态平衡引起的各类疾病^[35]。这些疾病主要被经典Wnt信号途径中各类信号诱导的增殖和抗凋亡基因所调控。激活经典Wnt信号途径而引起癌症的例子包括乳腺癌、肺癌、前列腺癌、卵巢癌、甲状腺及各种其他癌症^[36-39]。APC的突变就能激活Wnt信号转导和引起大多数结肠癌^[40]。

这些结果表明, Tankyrases抑制PARsylation的机制可能为癌症治疗做出贡献^[41]。鉴于Wnt信号途径被激活所导致的这些疾病, USP34抑制剂的发展可以为之提供一种新的治疗手段。XAV939、IWR-1-endo可以通过Tankyrases使得Axin稳定。发现抑制Tankyrases可以在新生儿缺氧后无法形成新的髓鞘时促进髓鞘形成, 标识了Axin2扭转的少突胶质细胞系细胞的分化块将被作为一个潜在的治疗目标^[24]。Tankyrases1的mRNA和蛋白在人类星形细胞瘤中的表达水平显著高于正常脑组织, Tankyrases1上调和星形细胞瘤病理分级之间也有着显著关联。此外, β -catenin的免疫杂交实验也证实了Tankyrases1的变化趋势。这项研究为Tankyrases1在星形细胞瘤的发生和进展中参与了Wnt信号转导提供了证据^[42], 暗

示了Tankyrases可能在星形细胞瘤的发生过程中起着关键作用。

总之, 小分子抑制剂与Tankyrases的结合诱导了特定的构象变化, 揭示Tankyrases底物结合环的灵活性并解释Tankyrases现有的结构与活性之间的关系, 定义了一个通过设计监管D-环区域来控制PARPs抑制剂的新药物模型。Tankyrases通过PARsylation破坏Axin作用于经典Wnt信号途径以及其靶点的研究将为癌症治疗做出贡献。

参考文献 (References)

- 1 DasGupta R, Kaykas A, Moon RT, Perrimon N. Functional genomic analysis of the Wnt-wingless signaling pathway. *Science* 2005; 308(5723): 826-33.
- 2 Dajani R, Fraser E, Roe SM, Yeo M, Good VM, Thompson V, *et al.* Structural basis for recruitment of glycogen synthase kinase 3 β to the axin-APC scaffold complex. *EMBO J* 2003; 22(3): 494-501.
- 3 Kimelman D, Xu W. Beta-catenin destruction complex: Insights and questions from a structural perspective. *Oncogene* 2006; 25(57): 7482-91.
- 4 Lustig B, Behrens J. The Wnt signaling pathway and its role in tumor development. *J Cancer Res Clin Oncol* 2003; 129(4): 199-221.
- 5 Tamai K, Zeng X, Liu C, Zhang X, Harada Y, Chang Z, *et al.* A mechanism for Wnt coreceptor activation. *Mol Cell* 2004; 13(1): 149-56.
- 6 Liu C, Li Y, Semenov M, Han C, Baeg GH, Tan Y, *et al.* Control of beta-catenin phosphorylation/degradation by a dual-kinase mechanism. *Cell* 2002; 108(6): 837-47.
- 7 Clevers H. Wnt/beta-catenin signaling in development and disease. *Cell* 2006; 127(3): 469-80.
- 8 Logan CY, Nusse R. The Wnt signaling pathway in development and disease. *Annu Rev Cell Dev Biol* 2004; 20: 781-810.
- 9 Wharton KA Jr. Runnin' with the Dvl: Proteins that associate with Dsh/Dvl and their significance to Wnt signal transduction. *Dev Biol* 2003; 253(1): 1-17.
- 10 Chen B, Dodge ME, Tang W, Lu J, Ma Z, Fan CW, *et al.* Small molecule-mediated disruption of Wnt-dependent signaling in tissue regeneration and cancer. *Nat Chem Biol* 2009; 5(2): 100-7.
- 11 Huang SM, Mishina YM, Liu S, Cheung A, Stegmeier F, Michaud GA, *et al.* Tankyrase inhibition stabilizes axin and antagonizes Wnt signaling. *Nature* 2009; 461(7264): 614-20.
- 12 Hottiger MO, Hassa PO, Luscher B, Schuler H, Koch-Nolte F. Toward a unified nomenclature for mammalian ADP-ribosyltransferases. *Trends Biochem Sci* 2010; 35(4): 208-19.
- 13 Hsiao SJ, Smith S. Tankyrase function at telomeres, spindle poles, and beyond. *Biochimie* 2008; 90(1): 83-92.
- 14 Folini M, Gandellini P, Zaffaroni N. Targeting the telosome: Therapeutic implications. *Biochim Biophys Acta* 2009; 1792(4): 309-16.
- 15 Counter CM, Botelho FM, Wang P, Harley CB, Bacchetti S. Stabilization of short telomeres and telomerase activity accompany immortalization of Epstein-Barr virus-transformed human B

- lymphocytes. *J Virol* 1994; 68(5): 3410-4.
- 16 Counter CM, Avilion AA, LeFeuvre CE, Stewart NG, Greider CW, Harley CB, *et al.* Telomere shortening associated with chromosome instability is arrested in immortal cells which express telomerase activity. *EMBO J* 1992; 11(5): 1921-9.
- 17 Sokol SY. Maintaining embryonic stem cell pluripotency with Wnt signaling. *Development* 2011; 138(20): 4341-50.
- 18 Miura T, Mattson MP, Rao MS. Cellular lifespan and senescence signaling in embryonic stem cells. *Aging Cell* 2004; 3(6): 333-43.
- 19 Wyatt HD, West SC, Beattie TL. In TERTpreting telomerase structure and function. *Nucleic Acids Res* 2010; 38(17): 5609-22.
- 20 Hoffmeyer K, Raggioli A, Rudloff S, Anton R, Hierholzer A, Del Valle I, *et al.* Wnt/beta-catenin signaling regulates telomerase in stem cells and cancer cells. *Science* 2012; 336(6088): 1549-54.
- 21 Chiang YJ, Hsiao SJ, Yver D, Cushman SW, Tessarollo L, Smith S, *et al.* Tankyrase 1 and tankyrase 2 are essential but redundant for mouse embryonic development. *PLoS One* 2008; 3(7): e2639.
- 22 Shultz MD, Kirby CA, Stams T, Chin DN, Blank J, Charlat O, *et al.* [1,2,4]triazol-3-ylsulfanylmethyl)-3-phenyl-[1,2,4]oxadiazoles: Antagonists of the Wnt pathway that inhibit tankyrases 1 and 2 via novel adenosine pocket binding. *J Med Chem* 2012; 55(3): 1127-36.
- 23 Karner CM, Merkel CE, Dodge M, Ma Z, Lu J, Chen C, *et al.* Tankyrase is necessary for canonical Wnt signaling during kidney development. *Dev Dyn* 2010; 239(7): 2014-23.
- 24 Qian L, Mahaffey JP, Alcorn HL, Anderson KV. Tissue-specific roles of Axin2 in the inhibition and activation of Wnt signaling in the mouse embryo. *Proc Natl Acad Sci USA* 2011; 108(21): 8692-7.
- 25 Song S, Christova T, Perusini S, Alizadeh S, Bao RY, Miller BW, *et al.* Wnt inhibitor screen reveals iron dependence of beta-catenin signaling in cancers. *Cancer Res* 2011; 71(24): 7628-39.
- 26 Park JI, Venteicher AS, Hong JY, Choi J, Jun S, Shkreli M, *et al.* Telomerase modulates Wnt signaling by association with target gene chromatin. *Nature* 2009; 460(7251): 66-72.
- 27 Narwal M, Venkannagari H, Lehtio L. Structural basis of selective inhibition of human tankyrases. *J Med Chem* 2012; 55(3): 1360-7.
- 28 Karlberg T, Markova N, Johansson I, Hammarstrom M, Schutz P, Weigelt J, *et al.* Structural basis for the interaction between tankyrase-2 and a potent Wnt-signaling inhibitor. *J Med Chem* 2010; 53(14): 5352-5.
- 29 Lehtio L, Collins R, van den Berg S, Johansson A, Dahlgren LG, Hammarstrom M, *et al.* Zinc binding catalytic domain of human tankyrase 1. *J Mol Biol* 2008; 379(1): 136-45.
- 30 Gunaydin H, Gu Y, Huang X. Novel binding mode of a potent and selective tankyrase inhibitor. *PLoS One* 2012; 7(3): e33740.
- 31 Callow MG, Tran H, Phu L, Lau T, Lee J, Sandoval WN, *et al.* Ubiquitin ligase RNF146 regulates tankyrase and Axin to promote Wnt signaling. *PLoS One* 2011; 6(7): e22595.
- 32 Lui TT, Lacroix C, Ahmed SM, Goldenberg SJ, Leach CA, Daulat AM, *et al.* The ubiquitin-specific protease USP34 regulates axin stability and Wnt/beta-catenin signaling. *Mol Cell Biol* 2011; 31(10): 2053-65.
- 33 MacDonald BT, Tamai K, He X. Wnt/beta-catenin signaling: Components, mechanisms, and diseases. *Dev Cell* 2009; 17(1): 9-26.
- 34 Polakis P. Wnt signaling and cancer. *Genes Dev* 2000; 14(15): 1837-51.
- 35 Krishnan V, Bryant HU, Macdougald OA. Regulation of bone mass by Wnt signaling. *J Clin Invest* 2006; 116(5): 1202-9.
- 36 Mazieres J, He B, You L, Xu Z, Jablons DM. Wnt signaling in lung cancer. *Cancer Lett* 2005; 222(1): 1-10.
- 37 Nusse R, Varmus HE. Many tumors induced by the mouse mammary tumor virus contain a provirus integrated in the same region of the host genome. *Cell* 1982; 31(1): 99-109.
- 38 Tekmal RR, Keshava N. Role of MMTV integration locus cellular genes in breast cancer. *Front Biosci* 1997; 2: d519-26.
- 39 Yardy GW, Brewster SF. Wnt signaling and prostate cancer. *Prostate Cancer Prostatic Dis* 2005; 8(2): 119-26.
- 40 Giarre M, Semenov MV, Brown AM. Wnt signaling stabilizes the dual-function protein beta-catenin in diverse cell types. *Ann N Y Acad Sci* 1998; 857: 43-55.
- 41 Fearon ER. PARsing the phrase "all in for Axin"—Wnt pathway targets in cancer. *Cancer Cell* 2009; 16(5): 366-8.
- 42 Tang B, Wang J, Fang J, Jiang B, Zhang M, Wang Y, *et al.* Expression of TNKS1 is correlated with pathologic grade and Wnt/beta-catenin pathway in human astrocytomas. *J Clin Neurosci* 2012; 19(1): 139-43.

Effect of Suppressing Tankyrases on Canonical Wnt Pathway: A New Target for the Treatment of Cancer

Bao Renyue¹, Yan Xiaojun^{1,2*}, Liu Jianxin^{1*}

(¹College of Animal Sciences, Zhejiang University, Hangzhou 310029, China; ²Key Laboratory of Marine Biotechnology, Ningbo University, Ningbo 315211, China)

Abstract Wnt signaling is involved throughout development and maybe inappropriately activated in a variety of human cancers. New study in *Nature* has identified small molecule inhibitor for Wnt pathway. Those inhibitors target an unsuspected cellular enzyme, Tankyrases, which controls the destruction of a β -catenin destructor. E3 ubiquitin ligases have been implicated in its regulation. The ubiquitinproteasome system plays important regulatory functions in Wnt pathway by regulating the activity of several of its core components. The development of small molecule inhibitors may offer a novel therapeutic opportunity. In this review, we focus on the roles of how small chemical affect Tankyrases to inhibit canonical Wnt signaling.

Key words Wnt; β -catenin; Tankyrases

Received: July 2, 2012 Accepted: July 30, 2012

This work was supported by the China Scholarship Council (No.2008632066)

*Corresponding author. Tel: 86-574-87600738, E-mail: yanxiaojun@nbu.edu.cn; Tel: 86-571-88982097, E-mail: liujx@zju.edu.cn