

Wnt 信号通路抑制因子 SFRP1 在肿瘤中的研究进展

郑枫芸 李继承*

(浙江大学细胞生物学研究所, 杭州 310058)

摘要 定位于染色体 8p11.2 上的分泌型卷曲相关蛋白 1 (secreted frizzled related protein 1, SFRP1) 基因, 是近来发现的新的抑癌基因。因其编码 Wnt 信号通路抑制因子 SFRP1, *SFRP1* 基因失活可导致 Wnt 信号转导途径的紊乱, 影响肿瘤的发生发展。近年来国内外对 SFRP1 在恶性肿瘤的失活机制进行了一系列的研究, 现对这方面的工作进展进行综述。

关键词 肿瘤; Wnt 信号通路; 分泌型卷曲相关蛋白 1

Wnt 信号通路是在胚胎发育、中枢神经系统形成中起关键作用的信号转导通路。近年来发现 Wnt 通路的异常活化与肿瘤的形成密切相关。作为 Wnt 信号转导的负调控者分泌型卷曲相关蛋白(secreted frizzled related proteins, SFRPs)可能在肿瘤发生中有重要作用, 已经证明它的下调与人类肿瘤相关。

5 个拮抗 Wnt 信号转导的 SFRPs(SFRP1~SFRP5) 组成 SFRPs 家族。SFRP1 由定位于 8p11.2 的 *SFRP1* 基因编码。SFRP1 可能与受体竞争结合 Wnt 蛋白, 或直接与 Wnt 蛋白结合, 由此阻断了 Wnt 信号转导通路^[1]。目前发现, 有十几种已知的高发性癌变(如乳腺癌、前列腺癌、结肠癌和肝癌等等)都出现 Wnt 信号转导途径的失调。在 Wnt 信号转导失调日渐成为近年肿瘤研究中热点的同时, 越来越多的学者偏向于认为 *SFRP1* 基因的表现遗传改变和 SFRP1 表达下调, 从而使 Wnt 通路异常活化而导致肿瘤。

1 乳腺癌

由于与乳腺癌的关系研究较多, *SFRP1* 已被描述为乳腺癌中的一个肿瘤抑制基因(tumor suppressor gene, TSG)^[2]。

SFRP1 表达在乳腺癌中普遍缺失, 并与早期乳腺癌病人的低存活率相关, 有望成为早期乳腺癌新的先兆标记。Klopocki 等^[3]分析了超过 2 000 例的乳腺肿瘤和 56 例原位癌, SFRP1 缺失频率分别为 46% 和 43%, 表明 SFRP1 在早期乳腺癌中的表达缺失与预后不良相关。

SFRP1 基因启动子在乳腺癌中高甲基化, 可能是 *SFRP1* 基因沉默的主要机制, 从而使 SFRP1 的表达缺失或下调。Lo 等^[4]发现 *SFRP1* 基因在乳腺癌细胞系和原发性乳腺癌中, 均发生 *SFRP1* 基因启动子高

甲基化, 且与 SFRP1 表达的缺失或下调相关。此外, *SFRP1* 基因启动子高甲基化的乳腺癌细胞系的 mRNA, 在经过甲基转移酶抑制剂 5-氮-2'-脱氧胞嘧啶(5-aza-2'-deoxycytidine, DAC)处理后恢复表达。Veeck 等^[5]在人原发性乳腺癌和乳腺癌细胞系中, 检测到到 *SFRP1* 启动子甲基化在原发性乳腺癌(61%, $n=130$) 和细胞系中高发。原发性乳腺癌组织中 *SFRP1* 甲基化与其表达缺失紧密相关($P<0.001$), 用 DAC 处理后的细胞系 SFRP1 表达恢复。并通过 Kaplan-Meier 分析发现, *SFRP1* 启动子甲基化是对病人预后不良的独立因素。

基于 *SFRP1* 基因的肿瘤特异高甲基化频率, 以及与乳腺癌预后不良的相关性, *SFRP1* 基因失活也可能成为乳腺癌的有价值的标记。

2 结直肠癌

迄今, 结直肠癌中所发现的 SFRP1 的特性, 与结直肠癌发生过程中抑癌基因的特性相一致^[6]。SFRP1 表达下调及基因甲基化沉默, 与结直肠癌关系非常密切。Qi 等^[7]在结直肠腺癌、腺瘤和异常隐窝病灶(aberrant crypt foci, ACF)中, 检测到 *SFRP1* 甲基化频繁均高于 85%, 且结直肠肿瘤中的甲基化频率比正常组织和周围正常黏膜高。SFRP1 在腺癌和腺瘤中的表达下调, 与结直肠肿瘤启动子高甲基化显著相关。在用 DAC 和组蛋白去乙酰化转移酶抑制剂——曲古抑菌素(TSA) 联合(DAC/TSA)处理结直肠癌细胞系后, 失活的 *SFRP1* mRNA 重新恢复高效率表达。Suzuki 等^[8]在筛选人结直肠癌中的甲基化沉默基因

收稿日期: 2007-05-23 接受日期: 2007-07-15

* 通讯作者。Tel: 0571-88208088, Fax: 0571-88208094, E-mail:

lijichen@zju.edu.cn

时,也指出 *SFRP1* 是结直肠癌和胃癌中高发的高甲基化基因。Caldwell 等^[9]认为,结直肠癌发展中的早期 *SFRP1* 的失活通路,可成为常见实体瘤药物预防阶段的有用靶点。

从结直肠癌的起源角度, Katoh 等^[10]在作了人 *SFRP1* 启动子 *GLI* 结合位点与黑猩猩、大鼠、小鼠的同源性比较后,发现 *SFRP1* 启动子 CpG 岛高甲基化导致慢性顽固性炎症演变为胃肠肿瘤(如结直肠癌和胃癌)的发生。

但在研究 *SFRP1* 与结直肠癌的关系中,也存在着争议。Xu 等^[11]在建立可能在结肠癌发生过程中起表观遗传作用的 31 个基因启动子 CpG 岛甲基化谱时,却发现 *SFRP1* 基因的改变没有显示与肿瘤相关。

3 前列腺癌

在 *SFRP1* 基因与前列腺癌的病因学研究中,多数学者认为 *SFRP1* 基因高频率启动子区域 CpG 岛甲基化可能成为潜在的前列腺癌病因,并且具有诊断学意义。

Joesting 等发现^[12],在前列腺上皮细胞受肿瘤基质影响而向肿瘤阶段发展过程中,其细胞内的 *SFRP1* 过度表达。他们进一步检测了 *SFRP1* 升高的水平对前列腺组织和细胞的影响。*SFRP1* 处理人前列腺上皮细胞系,导致细胞增殖增加、凋亡减少、体外 Wnt/ β -连环蛋白通路信号传递的减少和体内增殖增加,阐明前列腺肿瘤基质中 *SFRP1* 的过度表达,可能为前列腺基质提供邻近上皮细胞增生性旁分泌信号。

另一方面,雄激素受体(androgen receptor, AR) 第一外显子中的 CAG 三碱基重复与前列腺癌发生发展相关。Coutinho-Camillo 等^[13]为了阐明前列腺癌中基因的表达差异与 AR 中 CAG 重复长度变化的关系,在差异表达基因中,发现 *SFRP1* 的转录本在大部分前列腺肿瘤中下调。17.5% (7/40) 的病例中 *SFRP1* 启动子区域高甲基化,并与 *SFRP1* 表达缺失明显相关 ($P=0.014$)。结果提示, *SFRP1* 参与的细胞通路上调或下调,可能与前列腺癌发生过程有关。

Lodygin 等^[14]在筛选前列腺癌中因 CpG 甲基化而钝化的候选基因时,在 41 例原发性前列腺癌组织中,检测到 *SFRP1* 的启动子区域 CpG 岛甲基化的基因频率为 83%。但 Flori 等^[15]认为前列腺癌中的 *SFRP1* 高甲基化现象稀少。所以, *SFRP1* 在前列腺癌中确切作用,至今仍有争议。

4 肺癌

目前研究揭示, *SFRP1* 的启动子高甲基化能频繁下调基因表达,并抑制肺癌细胞生长活性,证明 *SFRP1* 是肺癌潜在的肿瘤抑制基因。Fukui 等^[16]发现 *SFRP1* 表达在 48% 非小细胞肺癌(nonsmall cell lung cancer, NSCLC)和 36% 小细胞肺癌(small cell lung cancer, SCLC)细胞株中明显下调。52% NSCLC、8% SCLC 和 55% 原发性肺癌中的 *SFRP1* 启动子区域发生高甲基化,并与 *SFRP1* 的表达显著相关。在 40 例可提供信息的标本中,38% 原发性肺癌在 *SFRP1* 基因位点出现 LOH。对两个细胞株进行菌落(NCI-H460 和 NCI-H2009)生成分析中,发现 *SFRP1* 转染的菌落生成减少。

在肿瘤分型方面, Tang 等^[17]发现原发性肺癌和结肠转移性肺癌中, *SFRP1* 高甲基化程度具有明显差别,推测 *SFRP1* 启动子甲基化可用于区别原发性肺癌和结肠癌转移性肺癌。

5 膀胱癌

染色体 8p 上的缺失在某些肿瘤类型中高发,且与疾病演进相关。目前众多学者认为, *SFRP1* 表达缺失主要与侵袭性膀胱癌相关,并与较高的肿瘤分期和分级以及低生存率有关, *SFRP1* 缺失可能成为预后不良的乳头状侵袭性膀胱癌患者的独立标记^[18~20]。而 Hartmann 等^[19]进一步发现 *SFRP1* 表达缺失并非基因突变引起,而是由启动子高甲基化而导致的表观遗传抑制。

6 其他肿瘤

巴雷特食管(Barrett's esophagus)是食管腺癌前体之一。Zou 等^[21]发现食管腺癌、巴雷特食管上皮细胞、巴雷特食管病人的邻近正常上皮、健康人的正常食管上皮中 *SFRP1* 基因高甲基化率依次显著降低(分别为 93%、81%、5%、10%, $P<0.001$)。 *SFRP1* 在食管腺癌中的表达普遍下调,且与肿瘤的分期和分级以及发育异常分级负相关。因此, *SFRP1* 基因高甲基化在食管腺癌的演进中是普遍早发事件, *SFRP1* 甲基化可能成为巴雷特食管病发生中的生物学标记。

胃癌中 *SFRP1* 失活已成为普遍的早期现象,目前认为主要由 *SFRP1* 基因高甲基化引起^[22]。Nojima 等^[23]在胃癌中发现, CpG 岛甲基化导致的 *SFRP1* 沉默在胃癌细胞系(16/16, 100%)及原发性胃癌中(42/46, 91%)频繁发生。在经过 DAC 处理后 *SFRP1* 表达恢

复。SFRP1 的表达异常下调 T 细胞因子 / 淋巴细胞增强因子转录活性, 抑制细胞生长并诱导胃癌细胞凋亡。推测 SFRP1 异常甲基化是胃癌 Wnt 信号转导失活的主要机制之一。Zhao 等^[22]认为 SFRP1 表达缺失也可能与原发性胃癌转移相关。

SFRP1 启动子甲基化在肝癌(hepatocellular carcinoma, HCC)中频发, 并对 SFRP1 表达下调起重要作用。Shih 等^[24]发现在 HCC 细胞系、原发性 HCC、肝硬化、慢性肝炎病例中, SFRP1 启动子甲基化的发生率分别为 75%、48.2%、21.4%、14.3% 和 0%。与正常组织相比, HCC 中的 SFRP1 显著升高。所有 SFRP1 甲基化的样本伴随有 SFRP1 表达下调。DAC 做脱甲基处理的 HCC 细胞 SFRP1 表达恢复。最近, Shih 等^[25]研究指出, SFRP1 通过抑制经典 Wnt 通路抑制肝癌细胞生长的。

Sova 等^[26]对侵袭性宫颈癌(invasive cervical cancer, ICC)进行全基因组筛选, 以鉴别对检测 ICC 癌前预兆有用的高甲基化基因。他们首次发现了 SFRP1 的异常甲基化在 ICC 临床病例中高发。他们认为包括 SFRP1 在内的新基因可能为 ICC 和 / 或早期病变的检测和分级带来临床学上的帮助, 以及为更好地阐明 ICC 的进展机制奠定基础。高雌激素环境下 SFRP1 的高表达, 可能促进子宫平滑肌瘤发生过程中 SFRP1 的抗凋亡作用, 在 Fukuhara 等^[27]的实验中得到了证实。

卵巢癌中 SFRP1 因启动子甲基化而失活的机制, 与结肠癌相似。Takada 等^[28]的研究指出, 卵巢癌中 8p 频繁发生杂合性缺失并与 Wnt 信号通路有关。其进一步研究表明, 4/13 的卵巢癌细胞系和 2/17 的原发性卵巢癌发生 SFRP1 甲基化, 但在一个永生化的卵巢上皮细胞系 HOSE 和 7 个卵巢子宫内膜异位囊肿样本没有发生。而 4 例甲基化的卵巢癌细胞系经 DAC 处理和启动子脱甲基化后, 检测到 SFRP1 重新表达。

SFRP1 因甲基化而表达下调现象在白血病中日渐清晰化。Liu 等^[29]研究了 5 个 SFRPs 家族成员发现, SFRP1 在所有 B 细胞慢性淋巴性白血病(B cell chronic lymphocytic leukemia, CLL)病例中高甲基化和下调, 表明这种表观遗传事件是癌发中的关键步骤。因此 Liu 等推测, SFRP1 因 CpG 岛甲基化导致的沉默是 CLL Wnt 信号通路异常激活的可能机制之一。Román-Gómez 等^[30]在急性淋巴细胞性白血病(acute lymphoblastic leukemia, ALL)中 SFRP1 因启动

子异常甲基化而表达下调, 发现 Wnt 抑制因子的异常甲基化与 ALL 病人的不良预后有关。

最近, Dahl 等^[31]发现 SFRP1 启动子甲基化在肾细胞癌中频繁发生(68%, $n=38$), 并与 SFRP1 mRNA 表达缺失相关($P<0.05$)。

7 小结

由于 SFRP1 基因的表观遗传改变和 SFRP1 表达下调与肿瘤的形成密切相关。因此, 阻断 SFRP1 参与的 Wnt 通路可能是寻找抗肿瘤药物的一个新的靶点。

尽管越来越多的证据表明, 分泌型 Wnt 通路抑制因子通过它们的启动子甲基化而使其表达沉默, 从而扮演着肿瘤抑制剂的角色。然而要深入研究肿瘤中各种分泌型 Wnt 通路抑制因子的机制, 将会因其蛋白质的多样性而在短时间内难于揭示。正如 Wnt 通路在发育和随环境的自我平衡中的特殊而复杂的机能, 分泌型 Wnt 通路抑制因子在肿瘤发生发展中的影响, 依赖于分子、细胞和组织水平的整体揭示^[32]。

参考文献(References)

- [1] 腊 蕾等. 第一军医大学学报, 2004, 24: 453
- [2] Armes JE et al. *Oncogene*, 2004, 23: 5697
- [3] Klopocki E et al. *Int J Oncol*, 2004, 25: 641
- [4] Lo PK et al. *Cancer Biol Ther*, 2006, 5: 281
- [5] Veeck J et al. *Oncogene*, 2006, 25: 3479
- [6] Caldwell GM et al. *Cancer Res*, 2004, 64: 883
- [7] Qi J et al. *World J Gastroenterol*, 2006, 12: 7113
- [8] Suzuki H et al. *Nat Genet*, 2002, 31: 141
- [9] Caldwell GM et al. *Br J Cancer*, 2006, 94: 922
- [10] Katoh Y et al. *Int J Mol Med*, 2006, 17: 171
- [11] Xu XL et al. *World J Gastroenterol*, 2004, 10: 3441
- [12] Joesting MS et al. *Cancer Res*, 2005, 65: 10423
- [13] Coutinho-Camillo CM et al. *Int J Biol Markers*, 2006, 21: 96
- [14] Lodygin D et al. *Cancer Res*, 2005, 65: 4218
- [15] Florl AR et al. *Br J Cancer*, 2004, 91: 985
- [16] Fukui T et al. *Oncogene*, 2005, 24: 6323
- [17] Tang M et al. *Int J Cancer*, 2006, 119: 2603
- [18] Stoehr R et al. *Lab Invest*, 2004, 84: 465
- [19] Hartmann A. *Verh Dtsch Ges Pathol*, 2003, 87: 172
- [20] Buim ME et al. *Oncology*, 2005, 69: 445
- [21] Zou H et al. *Int J Cancer*, 2005, 116: 584
- [22] Zhao CH et al. *World J Gastroenterol*, 2007, 13: 2214
- [23] Nojima M et al. *Oncogene*, 2007, 26: 4699
- [24] Shih YL et al. *Cancer*, 2006, 107: 579
- [25] Shih YL et al. *Int J Cancer*, 2007, 121: 1028
- [26] Sova P et al. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2006, 15: 114
- [27] Fukuhara K et al. *J Clin Endocrinol Metab*, 2002, 87: 1729
- [28] Takada T et al. *Cancer Sci*, 2004, 95: 741

[29] Liu TH *et al. Cancer Res.* 2006, **66**: 653

[30] Román-Gómez J *et al. Blood*, 2007, **109**: 3462

[31] Dahl E *et al. Oncogene*, 2007, **26**: 5680

[32] Rubin JS *et al. Front Biosci.* 2006, **11**: 2093

Progress in Wnt Signal Pathway Antagonists SFRP1 in Cancer

Feng-Yun Zheng, Ji-Cheng Li*

(Institute of Cell Biology, Zhejiang University, Hangzhou 310031, China)

Abstract The secreted frizzled related protein 1 (SFRP1) gene, which is located on chromosome 8p11.2, has recently been demonstrated to be a new tumor suppressor gene. Since *SFRP1* gene encodes a Wnt signaling antagonist, it causes deregulation of Wnt signaling by inactivation, and finally affects human tumorigenesis and progression. A series of researches about the inactive mechanism of SFRP1 in human malignancies have been done in recent years, and now we review them in this article.

Key words cancer; Wnt signal pathway; secreted frizzled related protein 1

Received: May 23, 2007 Accepted: July 15, 2007

*Corresponding author. Tel: 86-571-88208088, Fax: 86-571-88208094, E-mail: lijichen@zju.edu.cn