

综述

非经典 Wnt 通路在卵巢癌中的作用与潜在治疗意义研究进展

周婉桢, 滕银成

上海交通大学医学院附属第六人民医院妇产科, 上海 200233

[摘要] 卵巢癌是病死率最高的女性生殖系统恶性肿瘤, 其发生发展过程涉及多种信号通路的异常调控。Wnt 信号通路是一种高度保守的分子信号通路, 在胚胎发育、组织稳态以及肿瘤发生发展等生理及病理过程中发挥重要作用。Wnt 信号通路包括经典的 Wnt/ β -连环蛋白 (β -catenin) 通路以及不依赖 β -catenin 转录活性的非经典 Wnt 通路, 后者主要包括 Wnt/平面细胞极性 (Wnt/planar cell polarity, Wnt/PCP) 通路和 Wnt/ Ca^{2+} 通路。以往研究主要集中于经典 Wnt 通路与肿瘤进展的关系, 但近年来非经典 Wnt 通路逐渐受到重视, 相关研究丰富了其在组织发育及肿瘤发生等生理及病理过程中的认知。现有研究提示, 非经典 Wnt 通路在卵巢癌中受到异常调控, 并与卵巢癌的分期及预后密切相关。非经典 Wnt 通路在卵巢癌细胞增殖、迁移、侵袭等多种生物学过程发挥重要作用, 且该通路的变化与卵巢癌化学治疗 (化疗) 耐药也具有一定相关性。该文从上述多个角度对非经典 Wnt 通路在卵巢癌中的作用进行综述, 并讨论基于非经典 Wnt 通路的卵巢癌靶向治疗研究进展, 为开发新型靶向药物提供新的思路。

[关键词] 卵巢癌; 非经典 Wnt 通路; 肿瘤进展; 化疗耐药; 靶向治疗

[DOI] 10.3969/j.issn.1674-8115.2023.08.015 **[中图分类号]** R737.31 **[文献标志码]** A

Research progress of the role of non-canonical Wnt signaling pathway in ovarian cancer and its potential therapeutic implications

ZHOU Wanzhen, TENG Yincheng

Department of Obstetrics and Gynecology, Shanghai Sixth People's Hospital, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 200233, China

[Abstract] Ovarian cancer is a malignant tumor of the female reproductive system with the highest mortality, and involves the aberrant regulation of multiple molecular signaling pathways. As a highly conserved molecular pathway, Wnt signaling pathway plays an important role in embryonic development, tissue homeostasis, and tumorigenesis. Wnt signaling pathway includes canonical Wnt/ β -catenin pathway and non-canonical pathway, and the latter mainly includes Wnt/planar cell polarity (Wnt/PCP) pathway and Wnt/ Ca^{2+} pathway. Previous studies have mainly focused on the relationship between the canonical Wnt pathway and tumor progression. Recently, the non-canonical Wnt pathway has gradually received attention, and related researches have enriched the understanding of the non-canonical Wnt pathway in physiological and pathological processes such as tissue development and tumorigenesis. The existing studies suggest that the nonclassical Wnt pathway is abnormally regulated in ovarian cancer and is closely related to the staging and prognosis of ovarian cancer. Non-classical Wnt pathway plays an important role in many biological processes such as proliferation, migration and invasion of ovarian cancer cells, and the changes of this pathway are also related to chemotherapy resistance of ovarian cancer. This article reviews the role of the non-canonical Wnt pathway in ovarian cancer, and discusses the research progress of targeted therapy based on the non-canonical Wnt pathway, aiming to provide new ideas for the development of novel targeted drugs.

[Key words] ovarian cancer; non-canonical Wnt pathway; cancer progression; chemotherapy resistance; targeted therapy

[基金项目] 国家自然科学基金 (82172934)。

[作者简介] 周婉桢 (1997—), 女, 博士生; 电子信箱: Apccy7@163.com。

[通信作者] 滕银成, 电子信箱: teng_yc@126.com。

[Funding Information] National Natural Science Foundation of China (82172934).

[Corresponding Author] TENG Yincheng, E-mail: teng_yc@126.com.

卵巢癌是严重威胁女性健康的恶性肿瘤之一, 病死率居妇科恶性肿瘤之首。根据全球癌症统计报告, 2020 年全球卵巢癌新增患者 31 万余人, 新增死亡病例 20 万余例^[1]。尽管手术治疗及以铂类药物为主的联合化学治疗(化疗)方案在一定程度上改善了卵巢癌患者的预后, 但耐药、复发、转移等情况仍为卵巢癌治疗带来了极大阻碍。因此, 深入探究卵巢癌发生发展中潜在的生物学机制具有重要意义。Wnt 信号通路在进化过程中高度保守, 可参与细胞增殖、分化、凋亡、迁移、侵袭以及组织稳态维持等多种生理过程。根据是否依赖 β -catenin 转录活性可将其分为经典通路和非经典通路, 后者又包括 Wnt/平面细胞极性(Wnt/planar cell polarity, Wnt/PCP) 和 Wnt/ Ca^{2+} 通路^[2]。Wnt 信号通路在卵巢癌发生、发展、侵袭和耐药等方面发挥重要作用^[3], 但早期报道多集中于经典信号通路。随着研究的深入, 非经典通路在卵巢癌中的作用逐渐受到重视。进一步阐明非经典 Wnt 通路在卵巢癌中的作用对了解卵巢癌发生发展的分子机制以及开发新型靶向药物至关重要。因此, 本文围绕非经典 Wnt 通路在卵巢癌细胞增殖、迁移, 疾病侵袭, 化疗耐药各过程中的作用, 以及靶向非经典通路治疗卵巢癌的研究进展进行综述, 以期深化对卵巢癌发生发展机制的认知, 为寻找新的分子治疗靶点, 开发新型靶向药物提供依据。

1 Wnt 信号通路简述

Wnt 蛋白是一种分泌型糖蛋白, 按照既往分类方式 Wnt 蛋白可分为经典 Wnt 蛋白(Wnt1、Wnt2、Wnt3a、Wnt8 等) 和非经典 Wnt 蛋白(Wnt4、Wnt5a、Wnt5b、Wnt7a、Wnt11 等)。卷曲蛋白(frizzled, FZD) 是 Wnt 蛋白的膜受体, 其启动下游信号转导需要共受体的配合, 其中低密度脂蛋白受体相关蛋白 5/6 (low-density lipoprotein receptor-related protein 5/6, LRP5/6) 参与经典 Wnt 信号的转导, 受体酪氨酸激酶样孤儿受体 1/2 (receptor tyrosine kinase-like orphan receptor 1/2, ROR1/2) 参与非经典 Wnt 信号的转导。当 Wnt 蛋白与 FZD 受体结合后, 其胞内段募集并激活散乱蛋白(dishevelled, DVL), 随之启动 Wnt 信号级联。根据激活的下游信号级联, 可将 Wnt 通路分为经典 Wnt 信号通路和非经典 Wnt 信号通路。

1.1 经典 Wnt 信号通路

经典 Wnt 信号通路又称 Wnt/ β -catenin 通路。Wnt 通路未激活时, 胞质中的糖原合成激酶-3 β (glycogen synthase kinase-3 β , GSK-3 β)、轴抑制蛋白(axis inhibition protein, Axin) 以及腺瘤性结肠息肉(adenomatous polyposis coli, APC) 蛋白等分子可形成一种“降解复合体”, 该复合体结合 β -catenin 并促进其泛素化降解, 从而降低游离 β -catenin 水平。当 Wnt 蛋白与 FZD 受体及 LRP5/6 共受体结合后, FZD 受体激活 DVL 并诱导 GSK-3 β 等蛋白的磷酸化以及降解复合体的失活。这一过程将促进胞质中 β -catenin 的积累, 并促进其易位至细胞核中与 T 细胞因子 1 (T cell factor 1, TCF-1) 结合, 诱导 *c-Myc*、细胞周期蛋白 D1 (cyclin D1, *CCND1*)、*Axin2* 以及基质金属蛋白酶 7 (matrix metalloproteinase 7, *MMP-7*) 等靶基因的表达^[4]。

1.2 非经典 Wnt 信号通路

非经典信号通路主要包括 2 种机制——Wnt/PCP 通路和 Wnt/ Ca^{2+} 通路, 通常由非经典 Wnt 蛋白激活。Wnt/PCP 通路参与原肠胚形成、神经前体细胞分化以及内耳毛细胞定位等多种生物学过程, 通常被认为与细胞极性、排列和迁移相关^[5-6]。在 Wnt/PCP 通路中, Wnt 与 FZD、ROR 的结合可活化 DVL, 并可激活形态发生素蛋白相关激活因子 1 (dishevelled-associated activator of morphogenesis 1, DAAM1), 诱导 Ras 同系物家族成员 A (Ras homolog family member A, RhoA) 及其下游 Rho 相关卷曲螺旋蛋白激酶 (Rho-associated coiled-coil forming protein kinase, ROCK) 的磷酸化, 从而实现细胞肌动蛋白骨架重排; DVL 还可通过直接激活 Ras 相关的 C3 肉毒素底物 1 (Ras-related C3 botulinum toxin substrate 1, Rac1) 诱导肌动蛋白聚合及伪足形成, 并活化 c-Jun N 末端蛋白激酶 (c-Jun N-terminal protein kinase, JNK), 促进 c-Jun 磷酸化并与 Fos 及 ATF 等蛋白家族成员二聚化构成激活蛋白 1 (activator protein 1, AP-1) 转录复合物, 进而启动 *MMP-2*、*MMP-9*、尿激酶型纤溶酶原激活剂 (urokinase type plasminogen activator, *uPA*)、*CCND2* 等靶基因转录^[7]。Wnt/ Ca^{2+} 通路的调控及功能作用较为复杂且研究相对有限。现有文献资料^[8] 表明其在调节细胞骨架重排、细胞黏附以及胚胎背-腹轴模式建立等过程中可发挥重要作

用。Wnt-FZD 复合物可通过激活磷脂酶 C (phospholipase C, PLC) 提高细胞内 Ca^{2+} 浓度, 进一步激活钙调神经磷酸酶 (calcineurin, CN) 及多种钙依赖性激酶, 如钙/钙调蛋白依赖的蛋白激酶 II (calcium/calmodulin-dependent protein kinase II, CaMK II) 和蛋白激酶 C (protein kinase C, PKC)^[4]。CN 可诱导活化的 T 细胞核内因子 (nuclear factor of activated T cell, NFAT) 入核, 启动靶基因转录。

2 非经典 Wnt 通路的表达与卵巢癌分期及预后的相关性

非经典 Wnt 通路的相关分子在卵巢癌中异常表达并与患者的临床特征密切相关。一项纳入 623 例患者的大型队列研究^[9]发现, Wnt5a 在卵巢癌组织中高表达, 且表达水平随病理分级增高而升高; Wnt5a 在 4 种主要的卵巢癌组织学类型 (浆液性癌、子宫内膜样癌、透明细胞癌和黏液性癌) 中均高表达, 但不同组织类型间未见显著差异。PENG 等^[10]同样发现, Wnt5a 在卵巢癌组织中的表达显著高于正常和良性病变的卵巢组织, 且表达水平与肿瘤分期正相关, 与患者的总生存期 (overall survival, OS) 和无进展生存期 (progression-free survival, PFS) 负相关。因此, Wnt5a 表达水平可能是卵巢癌患者预后的独立预测因子。也有研究^[11]在卵巢癌中观察到 Wnt5a 的启动子甲基化程度增高以及蛋白表达水平降低, 但该研究仅纳入 5 例健康卵巢组织和 30 例卵巢肿瘤组织, 还需更大样本量的研究加以证明。

HENRY 等^[12]研究发现, ROR1 和 ROR2 在卵巢癌中均高表达, 且与 OS 和 PFS 负相关; 其中 ROR1 在透明细胞癌和黏液性癌中的表达更高, ROR2 在子宫内膜样癌中表达更高。两者在组织定位上存在一定的差异: ROR1 在肿瘤基质中的表达低于肿瘤细胞, 而 ROR2 在基质中的表达高于肿瘤细胞; 转移灶肿瘤基质中 ROR2 水平的升高较 ROR1 更为显著。这提示 ROR2 在卵巢癌转移及基质信号转导中可能起到更关键的作用。ZHANG 等^[13]的研究同样显示, ROR1 在卵巢癌中的表达显著增高, 并与肿瘤分期、分级及淋巴结转移等临床参数相关。他们认为, ROR1 表达水平可能是卵巢癌患者 OS 和 PFS 的独立预后因素之一。

DVL 在卵巢癌中的表达情况存在一定的争议。KARIN-KUJUNDZIC 等^[14]在细胞系和组织水平上比较了 3 种 DVL 亚型 (DVL1、DVL2、DVL3) 在卵巢癌和健康卵巢组织中的表达情况, 结果显示 DVL1 和 DVL3 在肿瘤中高表达, DVL2 未见显著差异。但 LIU 等^[15]通过对 124 例卵巢癌组织进行免疫组织化学分析提示, DVL2 在卵巢癌组织中高表达, 且与肿瘤分级和不良预后相关。这可能与前者的研究纳入了较多的低级别浆液性癌样本有关, 后续还需要更多的大型研究加以证明。NFAT 信号在卵巢癌中的作用尚不明确, 但最近的研究^[16]表明, NFAT 在卵巢癌组织中高表达且与肿瘤转移和不良预后显著相关。进一步的研究^[17]显示, NFAT 在晚期透明细胞癌中表达上调, 提示 NFAT 可能是透明细胞癌预后的生物标志物之一。

除了肿瘤原发部位, 在卵巢癌恶性腹水及腹腔转移灶中也发现非经典 Wnt 通路成分的异常表达。CHEN 等^[18]发现 Wnt5a 及下游分子 RhoA 在卵巢癌网膜转移灶中的表达高于正常组织及卵巢癌原发灶, 且与肿瘤分期和分级正相关。CHEHOVER 等^[19]对 87 例转移性高级别浆液性癌患者的恶性渗出液 (70 例腹腔积液及 17 例胸腔积液) 进行 Wnt 通路分子的表达分析, 发现 Wnt5a 在恶性腹水中高表达。KOTRBOVÁ 等^[20]的研究同样证实了这一点, Wnt5a 在恶性腹水中高表达且与更差的 OS 和 PFS 相关。

3 非经典 Wnt 通路与卵巢癌细胞增殖

非经典 Wnt 通路与细胞极性及迁移关系密切, 而近几年的研究表明, 非经典 Wnt 通路在肿瘤生长、肿瘤细胞增殖中也起到关键作用。CHEN 等^[18]的研究表明, Wnt7a 在卵巢癌组织中高表达, 利用 RNA 干扰 (RNA interference, RNAi) 技术敲降 Wnt7a 可显著抑制卵巢癌细胞的体外增殖能力, 并诱导细胞周期 G_0/G_1 期阻滞。过表达 Wnt5a 可通过调节整合素 αv 的表达来促进卵巢癌细胞 SKOV3 的增殖活性和克隆形成能力^[21]。非经典 Wnt 通路的共受体 ROR1 和 ROR2 可促进乳腺癌及淋巴瘤等肿瘤细胞的恶性增殖^[22]。在卵巢癌中, HENRY 等^[23]发现 ROR2 特异性敲低可抑制细胞体外增殖, 而 ROR1 的特异性敲低未观察到明显差异, 但可协同增强 ROR2 敲低对卵巢癌细胞增

殖的抑制能力。另一方面, ZHANG 等^[24]认为, ROR1 在卵巢癌肿瘤干细胞 (cancer stem cell, CSC) 的干性维持中起到关键作用。利用抗 ROR1 抗体或靶向 ROR1 的干扰小 RNA (small interfering RNA, siRNA) 处理可抑制卵巢癌细胞体外增殖能力及卵巢癌患者来源的肿瘤异种移植物 (primary tumor-derived xenografts, PDXs) 在裸鼠体内的生长。在具体的下游级联上, Wnt/PCP 通路和 Wnt/Ca²⁺ 通路可能通过不同的机制发挥促进卵巢癌细胞增殖的作用。Wnt/PCP/JNK 信号级联可促进 c-Jun 入核, 启动 CCND2 等靶基因转录, 从而促进细胞的增殖和存活^[25]。而钙信号可诱导 NFAT 的转录活性, 通过上调 c-Myc 等关键蛋白的表达来促进卵巢癌细胞增殖^[16]。

4 非经典 Wnt 通路与卵巢癌细胞迁移和侵袭

恶性肿瘤转移是一个多因素、多步骤的级联过程, 涉及细胞迁移、基质侵袭、脉管浸润以及转移组织定植等多个步骤, 其中细胞黏附异常、上皮间充质转换、基质侵袭、细胞骨架重排及迁移动力学改变等因素均起到重要作用。

目前的研究已表明 Wnt5a 表达水平与肿瘤转移存在极大的相关性, 且与肿瘤的组织学类型密切相关。ASEM 等^[26]的研究认为, Wnt5a 可能是一种卵巢癌腹膜转移的关键调节因子, 并可通过激活 Src 蛋白激酶家族中 Fgr 激酶的活性来促进卵巢癌细胞的腹膜定植。此外, 激活 Wnt5a-FZD2 轴可促进卵巢癌细胞的迁移和侵袭能力, 并诱导上皮标志物——钙黏蛋白 E (E-cadherin, E-cad) 的表达降低, 间充质标志物——钙黏蛋白 N (N-cadherin, N-cad) 和波形蛋白的表达增高^[27]。这表明 Wnt5a-FZD2 轴可通过参与卵巢癌上皮-间充质转化 (epithelial-mesenchymal transition, EMT) 途径提高卵巢癌细胞的转移潜力。而在 FORD 等^[9]的研究中也观察到高表达的 Wnt5a 可以促进卵巢癌 EMT 进程。

PKC 在 Wnt/Ca²⁺ 通路介导的卵巢癌细胞侵袭中发挥重要作用。QI 等^[28]发现, Wnt5a 可促进 PKC α 的表达和活化来调控卵巢癌细胞的运动及黏附能力, 促进肿瘤细胞 EMT 进程并诱导肿瘤血管生成。PKC 的激活还可促使卵巢癌细胞表达 MMP7、MMP10 等基

质金属蛋白酶, 进一步增强肿瘤细胞的侵袭能力^[29]。

Wnt/PCP 通路可通过激活 ROCK 及 Rac1 诱导肌动蛋白骨架重塑, 参与细胞形态和细胞运动的调节。RhoA-ROCK 以及 Rac1-JNK 级联介导的丝状伪足及板状伪足形成是 Wnt5a 诱导肿瘤细胞迁移的关键过程^[5,30]。在体外模型中, Wnt5a 重组蛋白刺激卵巢癌细胞迁移及侵袭能力增强, 并观察到经 Wnt5a 处理的卵巢癌细胞丝状伪足及板状伪足数目及长度增加的显著细胞形态学改变^[26]。Dickkopf 相关蛋白 4 (Dickkopf-related protein 4, DDK4) 是经典 Wnt 通路的抑制因子, 但可激活非经典的 Wnt/PCP 通路, 在 Wnt 经典和非经典通路的调控中发挥重要作用。研究^[31]表明, DKK4 的 mRNA 和蛋白水平在卵巢癌中均显著增高, 利用 siRNA 敲低卵巢癌细胞株中的 DKK4 可通过抑制 c-Jun、JNK 的磷酸化和肌动蛋白丝的形成来抑制细胞迁移。

值得注意的是, Wnt/PCP 通路还可通过与多种信号通路的串话影响细胞的迁移及侵袭能力。最近一项研究^[21]揭示了 Wnt5a 与整合素在转移性浆液性卵巢癌中的相关性, Wnt5a 过表达可导致卵巢癌细胞的整合素 α_v 、 α_5 和 β_6 亚基表达增加, 从而促进卵巢癌细胞的迁移以及对纤连蛋白和层粘连蛋白的附着; 增强的整合素信号可同时激活局部黏着斑激酶 (focal adhesion kinase, FAK) 信号级联, 进一步促进细胞运动、细胞黏附以及细胞骨架重排。此外, Wnt5a 在转化生长因子- β (transforming growth factor- β , TGF- β) 介导的 EMT 过程中发挥关键作用, Wnt5a 诱导的整合素表达可促进 TGF- β 通路的效应转录因子 Smad2/3 入核, 进而促进卵巢癌细胞 EMT 途径^[32]。既往研究^[33]也表明, Wnt5a/b 等可通过 Wnt-ROR-Rho GTPases-Lats1/2-yes 相关蛋白 (yes-associated protein, YAP) /带有 PDZ 结合基序的转录共激活因子 (transcriptional coactivator with PDZ-binding motif, TAZ) 轴激活 Hippo 通路, 从而促进细胞迁移。这种信号通路的串话在肿瘤发生发展中具有重要作用。一方面, 信号通路之间串话可形成正反馈, 协同增强肿瘤的恶性生物学行为; 另一方面, 肿瘤细胞可通过信号通路之间的串话建立代偿机制, 从而抵抗靶向药物的治疗效果。

综上, 非经典 Wnt 通路可通过多种途径影响肿瘤细胞迁移及侵袭能力, 在卵巢癌的侵袭及转移中发挥积极作用 (图 1)。

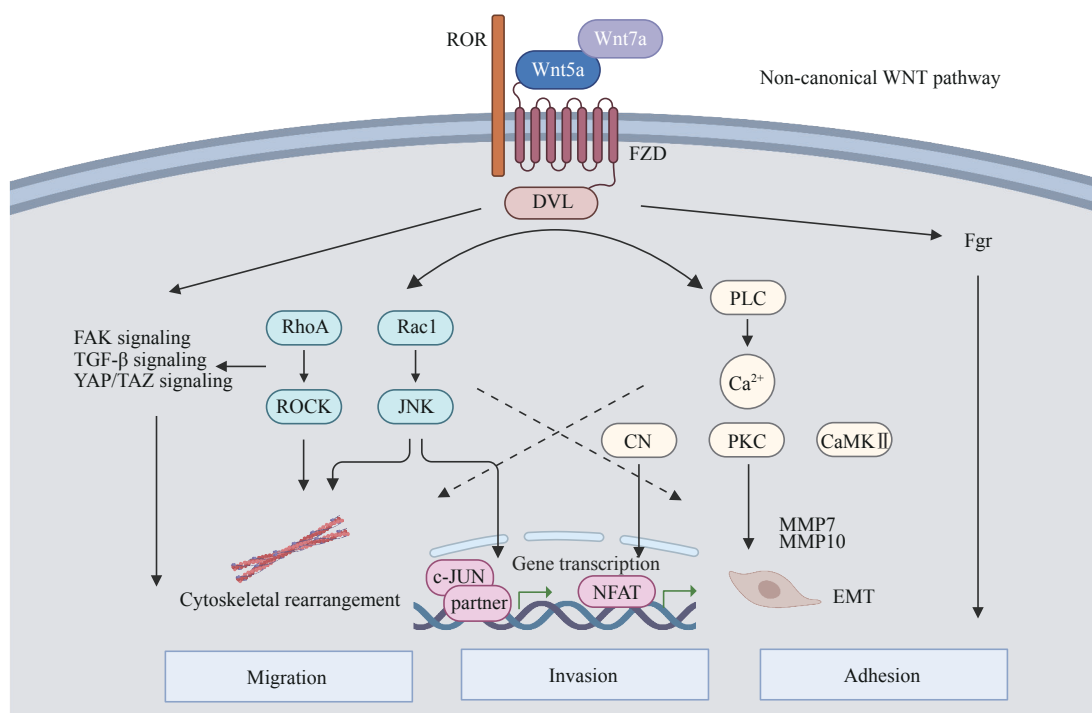


图1 非经典Wnt通路调节卵巢癌细胞迁移和侵袭

Fig 1 Non-canonical Wnt signaling pathway regulates ovarian cancer cell migration and invasion

5 非经典Wnt通路与卵巢癌细胞化疗耐药

经典Wnt通路在卵巢癌铂耐药中的研究已取得了显著进展,而非经典Wnt通路在卵巢癌耐药中的作用也日益受到关注。VESKIMÄE等^[34]研究发现,与铂敏感卵巢癌患者相比,Wnt5a、ROR1和ROR2的蛋白表达水平在铂耐药患者的肿瘤组织中显著增高。在卵巢癌细胞中过表达Wnt5a可显著降低细胞对紫杉醇、奥沙利铂、5-氟尿嘧啶、表柔比星和依托泊苷的化学敏感性,而敲低Wnt5a则可增加对上述药物的化学敏感性^[10]。HUNG等^[35]发现,Wnt5a在肿瘤多重耐药细胞中高表达并可通过激活蛋白激酶A来上调ATP结合盒亚家族B成员1(ATP binding cassette subfamily B member 1, ABCB1)的表达。ABCB1可以ATP依赖的形式将药物泵出细胞,降低胞内化疗药物的浓度,介导多药耐药。非经典Wnt通路的其他组分对卵巢癌化疗耐药也起到重要作用。ROR1和ROR2在A2780顺铂耐药株(A2780/cisR)中的表达显著高于亲本株,特异性敲低ROR1和ROR2可抑制卵巢癌铂耐药细胞的迁移和侵袭,并增强细胞对顺铂的敏感性^[12]。ZHANG等^[36]发现,DVL1在卵巢癌紫杉醇耐药细胞株(A2780/Taxol)中高表达,抑制

DVL1活性可增加紫杉醇诱导的细胞毒性。因此,Wnt5a及下游关键蛋白的表达水平可能是卵巢癌化疗反应的潜在生物标志物。

CaMK II在卵巢癌化疗耐药中的作用存在一定争议。HUANG等^[37]的研究表明CaMK II在SKOV3顺铂耐药株(SKOV3/DDP)中的表达水平较低。但另一项研究^[38]表明在卵巢癌阿霉素耐药株(A2780/ADR)中CaMK II的表达及活化均高于亲本株,使用CaMK II抑制剂降低ABCB1表达,可恢复卵巢癌细胞对阿霉素治疗的敏感性。因此,CaMK II可能在不同的条件刺激下与多种信号级联相互作用,后续仍需要更多的研究来阐明Wnt/Ca²⁺通路在卵巢癌化疗耐药中的具体机制。

6 基于非经典Wnt通路的潜在治疗靶点

鉴于非经典Wnt通路在卵巢癌增殖、迁移、侵袭以及化疗耐药等方面扮演的重要角色,靶向非经典Wnt通路治疗卵巢癌正成为研究热点。

目前虽没有美国食品药品监督管理局(FDA)批准上市的Wnt5a靶向药物,但多项体外试验和临床前研究已证实靶向Wnt5a可有效抑制卵巢癌进展。例

如,研究^[39]发现 microRNA-365 (miR-365) 在卵巢癌组织中低表达。miR-365 可通过直接结合 Wnt5a mRNA 的 3'非翻译区 (3'-untranslated region, 3'-UTR) 而下调 Wnt5a 水平。过表达 miR-365 可抑制卵巢癌细胞体外增殖、迁移和侵袭能力,并抑制移植瘤在小鼠异种移植模型中的生长。因此,配合适当的递送体系,miR-365 有望成为下一代卵巢癌治疗的有效药物。除了表达水平上的调控,Wnt5a 的小分子抑制剂也正在研发和验证。BOX5 是 Wnt5a 信号转导的抑制剂,可有效抑制 Wnt5a 介导的黑色素瘤细胞侵袭^[40]。AZIMIAN-ZAVAREH 等^[21]发现,BOX5 也可抑制卵巢癌细胞的体外侵袭能力,并抑制整合素 αv 表达及随后的 FAK 信号通路活化。

靶向非经典 Wnt 通路的受体层面研发抗肿瘤药物也具有相当的潜力。Ipafriccept 是一种 FZD 抑制剂,已在上皮性卵巢癌的动物模型中展现出较强的抗肿瘤活性。Ipafriccept 与紫杉醇联用展现出比 Ipafriccept 或紫杉醇单药治疗更高的疗效。在一项关于 Ipafriccept 联合紫杉醇和卡铂治疗复发性铂敏感卵巢癌的 Ib 期研究^[41]中,共纳入 37 例卵巢癌患者,其中 28 例患者 (75.7%) 实现完全或部分缓解;但在研究中观察到 Ipafriccept 可诱导脆性骨折的发生,后续还需要设计更多的方案来降低该药物的骨毒性并探究最佳的安全剂量。Zilovertamab 是一种靶向 ROR1 的单克隆抗体,通过结合 ROR1 的胞外结构域阻断 Wnt5a 诱导的 ROR1 信号转导,在多种 ROR1 阳性的恶性肿瘤如慢性淋巴细胞白血病、套细胞淋巴瘤和乳腺癌的 I/II 期临床试验中已证明了其安全性和有效性^[42-45]。Zilovertamab 在卵巢癌中也有潜在的治疗作用。体外试验中,Zilovertamab 可显著抑制卵巢癌细胞的增殖,Zilovertamab 单药治疗在同源重组修复缺陷 (homologous recombination deficiency, HRD) 状态正常或缺陷的卵巢癌细胞中均观察到良好的干预效果,但与多聚腺苷二磷酸核糖聚合酶 (poly ADP-ribose polymerase, PARP) 抑制剂联用并没有体现出对卵巢癌细胞的协同抑制作用^[46]。Zilovertamab 可诱导 PDXs 模型中的 CSCs 衰老,并抑制移植瘤的生长及重新定植其他免疫缺陷小鼠的能力^[24]。值得关注的是,ROR1 在卵巢癌免疫治疗中也展现出较高的价值。WU 等^[47]发现,ROR1 在卵巢癌肿瘤干细胞中高表达,且赋予了 CSCs 疫苗的高免疫原性,可诱导机体产生高效的抗肿瘤免疫能力。在小鼠皮下中接种高表

达 ROR1 的 CSCs 疫苗可显著抑制卵巢癌的生长,并可增加 γ 干扰素 (interferon- γ , IFN- γ)、抗 ROR1 抗体水平以及自然杀伤细胞 (natural killer cell, NK 细胞) 杀伤活性,敲降 ROR1 将极大程度降低 CSCs 疫苗的免疫原性及治疗效果。此外,相关试验也在探究 ROR1 作为嵌合抗原受体 T 细胞 (chimeric antigen receptor T-cell, CAR-T) 细胞标靶的作用^[48]。靶向 ROR1 的 CAR-T 疗法在动物试验中已证明其安全性^[49]。一项在非小细胞肺癌及三阴性乳腺癌患者中进行的 I 期临床试验 (NCT02706392)^[50] 中发现,ROR1 CAR-T 细胞对正常组织无毒性作用,但存在肿瘤浸润程度低下且免疫功能障碍的问题,未来还需要进一步探究 ROR1 CAR-T 疗法在实体瘤,尤其是卵巢癌中的应用。与 ROR1 不同,靶向 ROR2 的研究相对较少。先前的研究^[23]表明,利用 siRNA 敲降 ROR2 可有效抑制卵巢癌细胞增殖。JOSHI 等^[51]利用牛血清白蛋白和多聚甲基丙烯酸 *N,N*-二甲基氨基乙酯 (poly [2-(dimethylamino) ethyl methacrylate], PDMAEMA) 研发出的一种纳米颗粒,可结合并递送 ROR2 siRNA。这种纳米颗粒在体外试验中表现出极低的细胞毒性,且可显著抑制卵巢癌细胞迁移和侵袭能力。这将有望解决 siRNA 药物缺乏安全高效递送载体的难题。

其他非经典 Wnt 通路抑制剂亦可有效逆转非经典 Wnt 通路对卵巢癌的影响。例如 JNK 抑制剂 SP600125 可有效抑制卵巢癌生长及转移能力^[52]; RhoA/ROCK 抑制剂法舒地尔可抑制卵巢癌的侵袭性并增强顺铂的疗效^[53]; 特非那定可通过抑制 CaMK II 活性恢复多耐药卵巢癌细胞的阿霉素敏感性^[38]。但靶向这些下游分子时需考虑到影响其他信号通路的非特异性效应。

7 总结与展望

非经典 Wnt 通路在卵巢癌、黑色素瘤、胰腺癌等多种肿瘤的发生、转移、耐药等过程中扮演重要角色。多数研究结果显示,非经典 Wnt 通路的关键组分在卵巢癌组织中表达升高,并可通过多种途径促进卵巢癌细胞的增殖、迁移、侵袭以及抵抗化疗耐药的能力。基于非经典 Wnt 通路已设计出了多种干预靶点并投入临床及临床前研究,但这些研究主要在体外进行,体内实验数据相对缺乏,未来还需要大量的实验

数据及临床研究来实现靶向非经典 Wnt 通路治疗卵巢癌的临床转化。

利益冲突声明/Conflict of Interests

2位作者声明不存在利益冲突。

Both authors disclose no relevant conflict of interests.

作者贡献/Authors' Contributions

滕银成负责论文框架指导、制定以及论文审核；周婉桢负责文献

阅读和论文撰写。2位作者均阅读并同意了最终稿件的提交。

TENG Yincheng was responsible for the guidance, formulation and review of the paper framework. ZHOU Wanzhen was responsible for literature reading and paper writing. Both authors have read the last version of paper and consented for submission.

- Received: 2023-04-23
- Accepted: 2023-06-19
- Published online: 2023-08-28

参·考·文·献

- [1] SUNG H, FERLAY J, SIEGEL R L, et al. Global cancer statistics 2020: globocan estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. *CA Cancer J Clin*, 2021, 71(3): 209-249.
- [2] ZHANG Y, WANG X. Targeting the Wnt/ β -catenin signaling pathway in cancer[J]. *J Hematol Oncol*, 2020, 13(1): 165.
- [3] NGUYEN V H L, HOUGH R, BERNAUDO S, et al. Wnt/ β -catenin signalling in ovarian cancer: insights into its hyperactivation and function in tumorigenesis[J]. *J Ovarian Res*, 2019, 12(1): 122.
- [4] KONI M, PINNARÒ V, BRIZZI M F. The Wnt signalling pathway: a tailored target in cancer[J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(20): 7697.
- [5] ASEM M S, BUECHLER S, WATES R B, et al. Wnt5a signaling in cancer[J]. *Cancers (Basel)*, 2016, 8(9): 79.
- [6] VANDERVORST K, HATAKEYAMA J, BERG A, et al. Cellular and molecular mechanisms underlying planar cell polarity pathway contributions to cancer malignancy[J]. *Semin Cell Dev Biol*, 2018, 81: 78-87.
- [7] BUENO M L P, SAAD S T O, ROVERSI F M. Wnt5a in tumor development and progression: a comprehensive review[J]. *Biomed Pharmacother*, 2022, 155: 113599.
- [8] LOJK J, MARC J. Roles of non-canonical Wnt signalling pathways in bone biology[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(19): 10840.
- [9] FORD C E, PUNNIA-MOORTHY G, HENRY C E, et al. The non-canonical Wnt ligand, Wnt5a, is upregulated and associated with epithelial to mesenchymal transition in epithelial ovarian cancer[J]. *Gynecol Oncol*, 2014, 134(2): 338-345.
- [10] PENG C J, ZHANG X L, YU H L, et al. Wnt5a as a predictor in poor clinical outcome of patients and a mediator in chemoresistance of ovarian cancer[J]. *Int J Gynecol Cancer*, 2011, 21(2): 280-288.
- [11] JIN P, SONG Y, YU G Y. The role of abnormal methylation of Wnt5a gene promoter regions in human epithelial ovarian cancer: a clinical and experimental study[J]. *Anal Cell Pathol (Amst)*, 2018, 2018: 6567081.
- [12] HENRY C E, LLAMOSAS E, DJORDJEVIC A, et al. Migration and invasion is inhibited by silencing ROR1 and ROR2 in chemoresistant ovarian cancer[J]. *Oncogenesis*, 2016, 5(5): e226.
- [13] ZHANG H L, QIU J R, YE C P, et al. ROR1 expression correlated with poor clinical outcome in human ovarian cancer[J]. *Sci Rep*, 2014, 4: 5811.
- [14] KARIN-KUJUNDZIC V, KARDUM V, SOLA I M, et al. Dishevelled family proteins in serous ovarian carcinomas: a clinicopathologic and molecular study[J]. *APMIS*, 2020, 128(3): 201-210.
- [15] LIU R, CHENG J L, CHEN Y N, et al. Potential role and prognostic importance of dishevelled-2 in epithelial ovarian cancer[J]. *Int J Gynaecol Obstet*, 2017, 138(3): 304-310.
- [16] XU W W, GU J J, REN Q L, et al. NFATC1 promotes cell growth and tumorigenesis in ovarian cancer up-regulating c-Myc through ERK1/2/p38 MAPK signal pathway[J]. *Tumor Biol*, 2016, 37(4): 4493-4500.
- [17] XIN B, JI K Q, LIU Y S, et al. NFAT overexpression correlates with CA72-4 and poor prognosis of ovarian clear-cell carcinoma subtype[J]. *Reprod Sci*, 2021, 28(3): 745-756.
- [18] CHEN S, WANG J, GOU W F, et al. The involvement of RhoA and Wnt5a in the tumorigenesis and progression of ovarian epithelial carcinoma[J]. *Int J Mol Sci*, 2013, 14(12): 24187-24199.
- [19] CHEHOVER M, REICH R, DAVIDSON B. Expression of Wnt pathway molecules is associated with disease outcome in metastatic high-grade serous carcinoma[J]. *Virchows Arch*, 2020, 477(2): 249-258.
- [20] KOTRBOVÁ A, OVESNÁ P, GYBEL' T, et al. WNT signaling inducing activity in ascites predicts poor outcome in ovarian cancer[J]. *Theranostics*, 2020, 10(2): 537-552.
- [21] AZIMIAN-ZAVAREH V, DEGHANI-GHOBADI Z, EBRAHIMI M, et al. Wnt5a modulates integrin expression in a receptor-dependent manner in ovarian cancer cells[J]. *Sci Rep*, 2021, 11(1): 5885.
- [22] MENCK K, HEINRICHS S, BADEN C, et al. The WNT/ROR pathway in cancer: from signaling to therapeutic intervention[J]. *Cells*, 2021, 10(1): 142.
- [23] HENRY C E, EMMANUEL C, LAMBIE N, et al. Distinct patterns of stromal and tumor expression of ROR1 and ROR2 in histological subtypes of epithelial ovarian cancer[J]. *Transl Oncol*, 2017, 10(3): 346-356.
- [24] ZHANG S P, CUI B, LAI H, et al. Ovarian cancer stem cells express ROR1, which can be targeted for anti-cancer-stem-cell therapy[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2014, 111(48): 17266-17271.
- [25] FANG X, CHEN C Q, XIA F Z, et al. CD274 promotes cell cycle entry of leukemia-initiating cells through JNK/cyclin D2 signaling[J]. *J Hematol Oncol*, 2016, 9(1): 124.
- [26] ASEM M, YOUNG A M, OYAMA C, et al. Host Wnt5a potentiates microenvironmental regulation of ovarian cancer metastasis[J]. *Cancer Res*, 2020, 80(5): 1156-1170.
- [27] LUO M, ZHOU L, ZHAN S J, et al. ALPL regulates the aggressive potential of high grade serous ovarian cancer cells via a non-canonical Wnt pathway[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2019, 513(2): 528-533.
- [28] QI H, SUN B C, ZHAO X L, et al. Wnt5a promotes vasculogenic mimicry and epithelial-mesenchymal transition via protein kinase C α in epithelial ovarian cancer[J]. *Oncol Rep*, 2014, 32(2): 771-779.
- [29] AL-ALEM L F, MCCORD L A, SOUTHARD R C, et al. Activation of the PKC pathway stimulates ovarian cancer cell proliferation, migration, and expression of MMP7 and MMP10[J]. *Biol Reprod*, 2013, 89(3): 73.
- [30] TANG Y Y, HE Y, ZHANG P, et al. LncRNAs regulate the cytoskeleton and related Rho/ROCK signaling in cancer metastasis[J]. *Mol Cancer*,

- 2018, 17(1): 77.
- [31] WANG S Z, WEI H, ZHANG S L. Dickkopf-4 is frequently overexpressed in epithelial ovarian carcinoma and promotes tumor invasion[J]. *BMC Cancer*, 2017, 17(1): 455.
- [32] DEGHANI-GHOBADI Z, SHEIKH HASANI S, AREFIAN E, et al. Wnt5a and TGF β 1 converges through YAP1 activity and integrin alpha v up-regulation promoting epithelial to mesenchymal transition in ovarian cancer cells and mesothelial cell activation[J]. *Cells*, 2022, 11(2): 237.
- [33] PARK H W, KIM Y C, YU B, et al. Alternative Wnt signaling activates YAP/TAZ[J]. *Cell*, 2015, 162(4): 780-794.
- [34] VESKIMÄE K, SCARAVILLI M, NIININEN W, et al. Expression analysis of platinum sensitive and resistant epithelial ovarian cancer patient samples reveals new candidates for targeted therapies[J]. *Transl Oncol*, 2018, 11(5): 1160-1170.
- [35] HUNG T H, HSU S C, CHENG C Y, et al. Wnt5a regulates ABCB1 expression in multidrug-resistant cancer cells through activation of the non-canonical PKA/ β -catenin pathway[J]. *Oncotarget*, 2014, 5(23): 12273-12290.
- [36] ZHANG K, SONG H X, YANG P, et al. Silencing dishevelled-1 sensitizes paclitaxel-resistant human ovarian cancer cells *via* AKT/GSK-3 β / β -catenin signalling[J]. *Cell Prolif*, 2015, 48(2): 249-258.
- [37] HUANG L, JIN Y, FENG S J, et al. Role of Wnt/ β -catenin, Wnt/c-Jun N-terminal kinase and Wnt/Ca²⁺ pathways in cisplatin-induced chemoresistance in ovarian cancer[J]. *Exp Ther Med*, 2016, 12(6): 3851-3858.
- [38] HUANG W, YANG S, CHENG Y S, et al. Terfenadine resensitizes doxorubicin activity in drug-resistant ovarian cancer cells *via* an inhibition of CaMK II/CREB1 mediated ABCB1 expression[J]. *Front Oncol*, 2022, 12: 1068443.
- [39] WANG Y L, XU C L, WANG Y, et al. MicroRNA-365 inhibits ovarian cancer progression by targeting Wnt5a[J]. *Am J Cancer Res*, 2017, 7(5): 1096-1106.
- [40] JENEI V, SHERWOOD V, HOWLIN J, et al. A t-butyloxycarbonyl-modified Wnt5a-derived hexapeptide functions as a potent antagonist of Wnt5a-dependent melanoma cell invasion[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106(46): 19473-19478.
- [41] MOORE K N, GUNDERSON C C, SABBATINI P, et al. A phase 1b dose escalation study of ipafricept (OMP54F28) in combination with paclitaxel and carboplatin in patients with recurrent platinum-sensitive ovarian cancer[J]. *Gynecol Oncol*, 2019, 154(2): 294-301.
- [42] CHOI M Y, WIDHOPF G F II, WU C C, et al. Pre-clinical specificity and safety of UC-961, a first-in-class monoclonal antibody targeting ROR1[J]. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk*, 2015, 15: S167-S169.
- [43] CHOI M Y, WIDHOPF G F II, GHIA E M, et al. Phase I trial: cirmtuzumab inhibits ROR1 signaling and stemness signatures in patients with chronic lymphocytic leukemia[J]. *Cell Stem Cell*, 2018, 22(6): 951-959. e3.
- [44] GHIA E M, RASSENTI L Z, CHOI M Y, et al. High expression level of ROR1 and ROR1-signaling associates with venetoclax resistance in chronic lymphocytic leukemia[J]. *Leukemia*, 2022, 36(6): 1609-1618.
- [45] ZHANG S P, ZHANG H, GHIA E M, et al. Inhibition of chemotherapy resistant breast cancer stem cells by a ROR1 specific antibody[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2019, 116(4): 1370-1377.
- [46] LIU D L, KAUFMANN G F, BREITMEYER J B, et al. The anti-ROR1 monoclonal antibody zilvertamab inhibits the proliferation of ovarian and endometrial cancer cells[J]. *Pharmaceutics*, 2022, 14(4): 837.
- [47] WU D, YU X Y, WANG J, et al. Ovarian cancer stem cells with high ROR1 expression serve as a new prophylactic vaccine for ovarian cancer[J]. *J Immunol Res*, 2019, 2019: 9394615.
- [48] OSORIO-RODRÍGUEZ D A, CAMACHO B A, RAMÍREZ-SEGURA C. Anti-ROR1 CAR-T cells: architecture and performance[J]. *Front Med (Lausanne)*, 2023, 10: 1121020.
- [49] LEE B K, WAN Y H, CHIN Z L, et al. Developing ROR1 targeting CAR-T cells against solid tumors in preclinical studies[J]. *Cancers*, 2022, 14(15): 3618.
- [50] SRIVASTAVA S, FURLAN S N, JAEGER-RUCKSTUHL C A, et al. Immunogenic chemotherapy enhances recruitment of CAR-T cells to lung tumors and improves antitumor efficacy when combined with checkpoint blockade[J]. *Cancer Cell*, 2021, 39(2): 193-208. e10.
- [51] JOSHI N, LIU D L, DICKSON K A, et al. An organotypic model of high-grade serous ovarian cancer to test the anti-metastatic potential of ROR2 targeted Polyion complex nanoparticles[J]. *J Mater Chem B*, 2021, 9(44): 9123-9135.
- [52] CHEN X Y, CHEN Y M, LIN X Y, et al. The drug combination of SB202190 and SP600125 significantly inhibit the growth and metastasis of olaparib-resistant ovarian cancer cell[J]. *Curr Pharm Biotechnol*, 2018, 19(6): 506-513.
- [53] OHTA T, TAKAHASHI T, SHIBUYA T, et al. Inhibition of the Rho/ROCK pathway enhances the efficacy of cisplatin through the blockade of hypoxia-inducible factor-1 α in human ovarian cancer cells[J]. *Cancer Biol Ther*, 2012, 13(1): 25-33.

[本文编辑] 包玲