

Н. І. Шарикіна, О. М. Пуськов, О. О. Хавич, А. Г. Радівосевич,
М. О. Мунько, Т. А. Бухтіарова

Сигнальний шлях Wnt за пухлинного росту, можливості фармакологічної корекції

Державна установа «Інститут фармакології та токсикології
Національної академії медичних наук України», м. Київ

Ключові слова: Wnt сигналінг, пухлинний ріст, β -катенінова трансдукція, фармакологічна корекція

Одним з найвагоміших досягнень останніх десятиріч стало широке вивчення системи внутрішньоклітинної сигналізації: від взаємодії «ліганд-рецептор» до рівня трансляції та пост-трансляційних процесів. Саме з відхиленнями від її регуляції пов'язана низка патологічних станів людини, у тому числі злоякісні новоутворення.

Як відомо, значна кількість онкологічних та онкофармакологічних досліджень у цей час присвячена дисфункції основних сигнальних шляхів, що беруть участь у контролі клітинної проліферації, диференціації, міграції клітин та апоптозу: EGFR [1–3], GPCR [4–5], каскад трансдукції Hedgehog [6], Wnt [7], Notch [8], TGF β [9], HIFs [10] та ін.

Одержаний масив відомостей становить основу сучасних підходів до створення засобів фармакологічної корекції патологічних станів сигнальної трансдукції – таргетних (молекулярно спрямованих) протипухлинних засобів та їхніх комбінацій з урахуванням встановлених взаємодій сигнальних каскадів («cross-linking» процеси) [10–12].

У наших попередніх дослідженнях від аналізу [2, 3] до пошуку нових речовин з таргетною активністю [13, 14] відмічено ряд похідних хіназоліну, що за протипухлинною дією не поступаються чи перевищують активність світового стандарту для лікування недрібноклітинного раку легенів людини (Ерлотиніб, Тарцева) – похідного хіназоліну. Нові сполуки, як і Тарцева, мають здатність блокувати каскад трансдукції EGF (епідермального фак-

тора росту) на рівні його рецептора (EGFR).

Дослідження сигнальної трансдукції Hedgehog дозволили одержати сполуки, що на рівні ланки каскаду SMO блокують сигналінг, не поступаючись активності сполуки-стандарту Циклопаміну [6].

У цій статті надаємо наші подальші аналітичні дослідження щодо сигналінгу Wnt, який контролює безліч біологічних процесів через свою центральну роль у підтриманні тканинного гомеостазу. Із дисфункцією цього сигнального шляху пов'язаний широкий спектр патологій людини, зокрема, розвиток і прогресування злоякісних пухлин, а саме: раку легенів [15], товстої кишки [15], меланобластоми [16], мультиформної гліобластоми [17] та ін.

Назва каскаду «Wnt» становить комбінацію назви гена *Drosophila melanogaster* Wg (wingless), у разі мутації якого порушується розвиток крил мушки, та гомологічного гена хребетних Int. У 1990 році назви цих генів були поєднані в гібридній назві «Wingless – related integration site (Wnt)» [18, 19].

Родина Wnt існує в геномі тварин понад 600 млн років. Натепер охарактеризовано 19 генів Wnt білків – глікопротеїдів з розміром молекул 40 кДа. Вони проходять дозрівання в ендоплазматичному ретикуліумі (глікозилування, ацетилювання) та в супроводженні білка Wntless перетинають плазматичну мембрану й секретуються [21]. У позаклітинному середовищі білки Wnt включаються в численні процеси міжклітинного спілкування.

Для передачі сигналу в середину клітини Wnt – ліганди зв'язуються з відповідним рецептором чи групою рецепторів – 15 рецепторів Фріззлед (Frizzled, Fz) чи

з корецепторами [22]. Білки Fz становлять велику групу рецепторів, зв'язаних з G-білками (GPCR, G-protein-coupled receptors) [21]. Крім Fz-рецепторів на поверхні клітини розташовані й інші білки, здатні зв'язуватися з лігандами Wnt. Серед них родина рецепторних молекул LRP (receptor – related proteins), що здійснюють передачу Wnt-сигналу в клітину [23]. З Wnt-лігандами зв'язуються антагоністи й агоністи Wnt з модуляцією Wnt-сигналіngu.

Згідно з класичним уявленням, взаємодія Wnt-лігандів з їхніми рецепторами запускає сигнальний каскад Wnt. Натепер відомі 3 сигнальні каскади, які активуються білками Wnt. Це канонічний, чи β -катеніновий шлях, та 2 неканонічних: Wnt/ Ca^{2+} сигнальний шлях і шлях клітинної поляризації (PCP) [24]. Саме канонічний шлях задіяний у широкому спектрі біологічних процесів: перуляції проліферації та диференціювання, підтримці популяції стовбурових клітин та ін. Порушення активності в канонічному Wnt-сигнальному шляху мають місце за багатьох онкологічних захворювань, що може бути пов'язане з мутаціями ланок каскаду та/чи епігенетичними змінами. У зв'язку з цим ми зупинимося на канонічному Wnt-сигнальному шляху (рисунок).

Ключовими учасниками канонічного Wnt/ β -катенінового каскаду є протоонкопротеїн β -катенін [25], ліпопротеїди низької щільності 5/6 (LRP 5/6), білок Dishevelled (DVL) і цитоплазматичний «підтримуючий» білок AXIN [26, 27].

Ключовою подією в разі активації канонічного сигнального шляху Wnt є стабілізація β -катеніну. За відсутності активуючого сигналу концентрація β -катеніну в ядрі та цитоплазмі знаходиться на низькому рівні завдяки спеціальному білковому комплексу деструкції, який включає білки AXIN та APC, протеїнкіназу GSK-3 β . У складі комплексу β -катенін фосфорилується з його наступною деградацією [28].

Коли клітини одержують сигнал Wnt, ліганд зв'язує рецептор Frizzled, який активує Dishevelled (DSH) – інгібуючий деструктивний комплекс зі зниженням швидкості деградації β -катеніну [29], його накопиченням в

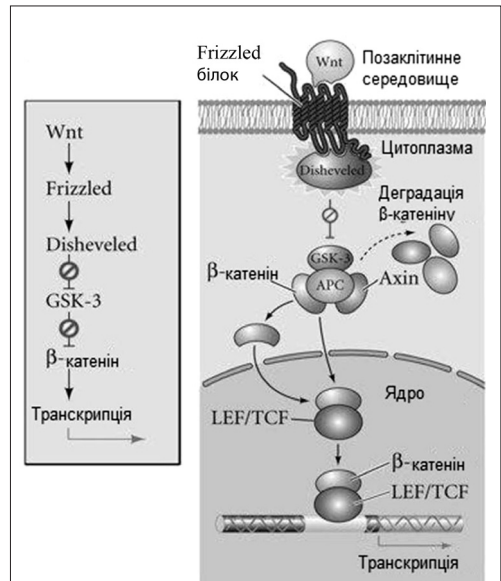


Рисунок. β -катеніновий сигнальний шлях Wnt

Примітка. Frizzled – сімейство рецепторних білків, пов'язаних з G-білком – рецептори сигнального шляху Wnt та інших сигнальних шляхів; Dishevelled – цитоплазматичний фосфопротеїн, що є посередником між Frizzled рецептором й іншими сигнальними білками Wnt каскаду; GSK-3 (Глікогенсинтаза кінназа 3) – серин-треонінова протеїнкіназа; APC та Axin – білки – негативні регулятори β -катеніну; LEF/TCF – сімейство білків – транскрипційних факторів, що зв'язуються з ДНК.

цитоплазмі, входом в ядро, де він активує транскрипцію за допомогою факторів LEF/TCF та ін. [28].

Пригнічення експресії чи делеції β -катеніну є важливими для терапії за пухлинного росту різного гістогенезу.

Слід відмітити, що зазначені характеристики сигналіngu Wnt та їхні відхилення за пухлинного росту стосуються й стовбурових пухлинних клітин, яким нині надається вирішальне значення в широкому спектрі пухлинного росту [30].

Таким чином, уже сьогодні орієнтація на сигналінг Wnt, його канонічний шлях у разі злоякісних новоутворень дає надію на корисні терапевтичні підходи до лікування пухлинної хвороби, у тому числі за рахунок впливу на стовбурові пухлинні клітини.

Натепер лікарські засоби та БАП, що здатні впливати на сигналінг Wnt, можна розділити на 3 групи: засоби, які затверджені для клінічного застосування за іншими показаннями і в яких виявили здатність впливати на

сигналінг Wnt; засоби, що проходять доклінічне вивчення; засоби, що проходять клінічну апробацію.

До першої групи можна віднести затверджені FDA нестероїдні протипухлинні засоби суліндак, аспірин, цеlexкоксиб, вітаміни А та Д, хоча точні механізми їхньої дії на Wnt не встановлені повністю; поліфеноли: кверцетин, епігалокатехін-3-галат, кукурмін, ресвератрол [30–33]; антигельмінтний засіб пірвіній [30]. Проходить подальше вивчення їхньої протипухлинної дії.

Проводиться доклінічне вивчення значної кількості агентів, для яких прогнозується чи вже показаний вплив на сигналінг Wnt з ідентифікацією механізмів впливу на певні ланки шляху Wnt. Так, сполуки XAV-939, GW55, G007-LK, G244-LM та IWR-1 стабілізують AXIN шляхом інгібування танкірази [34].

Знайдені антитіла, що нейтралізують Wnt 3A; FLD7, FZ DIO – антитіла доставки до пухлин радіоізотопу Ітрію-90 [24]; пептиди та пептидоміметики, здатні впливати на ланки шляху Wnt

[24]. Представлений в спеціальній літературі великий обсяг зазначених досліджень вказує на перспективу одержання речовин, здатних регулювати процеси за пухлинної хвороби.

Широку клінічну апробацію проходить значна кількість сполук зі встановленою в доклінічному дослідженні здатністю впливати на сигналінг Wnt. Серед них LGK-974 (інгібітор поркупіну), ICG-001 і PRI-724 (пригнічення взаємодії β -катеніну з коактиватором циклічного білка [35]; антитіла до різних ланок Wnt, що нейтралізують Wnt-ліганди та Wnt-рецептори з певним клінічним ефектом.

Слід підкреслити, що клінічні дослідження ще знаходяться на ранніх етапах. Однак широкий об'єм пошуку з урахуванням різних ланок сигналінгу Wnt на думку фармакологів і клініцистів свідчить про перспективу одержання препаратів, здатних впливати на патологічну експресію шляху Wnt з більш високою активністю, ніж у класичних цитостатичних засобів.

1. Epidermal growth factor receptor (EGFR): Arising star in the era of precision medicine of lung cancer. X. Liu, P. Wang, C. Zhang, Z. Ma. *Oncotarget*. 2017. V. 8, № 30. P. 50209–50220.
2. Трансдукція мітогенних сигналів як основа створення протипухлинних таргетних препаратів (частина I). Н. І. Шарикіна, Н. О. Мешкова, О. В. Міщенко та ін. *Фармакологія та лікарська токсикологія*. 2014. № 4–5. С. 3–10.
3. Трансдукція мітогенних сигналів як основа створення протипухлинних таргетних препаратів (частина II). Н. І. Шарикіна, Н. О. Мешкова, О. В. Міщенко та ін. *Фармакологія та лікарська токсикологія*. 2014. № 6. С. 19–26.
4. Marinissen M. J., Gutkind J. S. G-protein-coupled receptors and signaling networks: emerging paradigms. *Trends Pharmacol Sci*. 2001. V. 22, № 7. P. 368–376.
5. Lappano R., Maggiolini M. G protein-coupled receptors: novel targets for drug discovery in cancer. *Nat Rev Drug Discov*. 2011. V. 10, № 1. P. 47–60.
6. Сигнальний шлях Hedgehog: від механізмів трансдукції до пошуку протипухлинних засобів. Н. І. Шарикіна, А. Г. Радієвич, М. А. Мунько та ін. *Фармакологія та лікарська токсикологія*. 2019. № 3. С. 159–165.
7. Anastas J. N., Moon R. T. WNT signalling pathways as therapeutic targets in cancer. *Nat Rev Cancer*. 2013. V. 13, № 1. P. 11–26.
8. Алейник А. Н., Кондакова И. В. Сигнальная система Notch и онкогенез. *Вопросы онкологии*. 2012. № 5. С. 593–597.
9. Huynh L. K., Hipolito C. J., ten Dijke P. A. Perspective on the Development of TGF- β Inhibitors for Cancer Treatment. *Biomolecules*. 2019. V. 9, № 11. P. 743.
10. Mennerich D., Kubaichuk K., Kietzmann T. DUBs, Hypoxia, and Cancer. *Trends Cancer*. 2019. V. 5, № 10. P. 632–653.
11. Bellmann-Sickert K., Beck-Sickinger A. G. Peptide drugs to target G protein-coupled receptors. *Trends Pharmacol Sci*. 2010. V. 31, № 7. P. 434–441.
12. G Protein-Coupled Receptors in Cancer. R. Bar-Shavit, M. Maoz, A. Kancharla et al. *Int J Mol Sci*. 2016. V. 17, № 8. P. 1320.
13. Цитостатична дія α_1 -адреноблокаторів – похідних хіназоліну. Н. О. Мешкова, О. В. Міщенко, В. В. Захаренко, Н. І. Шарикіна. *Фармакологія та лікарська токсикологія*. 2015. № 4–5. С. 65–68.
14. Противоопухолевая активность α_1 -адреноблокаторов – производных хиназолина. Н. А. Мешкова, О. В. Мищенко, С. И. Пенделюк, Н. И. Шарыкина. *Экспериментальная та клінічна медицина*. 2015. № 3. С. 26–29.

15. *Tennis M., Van Scoyk M., Winn R. A. Role of the wnt signaling pathway and lung cancer. J Thorac Oncol. 2007. V. 2, № 10. P. 889–892.*
16. Сигнальний шлях Wnt і його значення для розвитку меланоми. К. В. Куликова, А. В. Кибардин, Н. В. Гнучев і др. *Современные технологии в медицине. 2012. № 3. С. 107–112.*
17. Wnt-сигнальний каскад в патогенезі мультиформної гліобластомы. Ю. Д. Василец, Н. Е. Арноцкая, И. А. Кудрявцев, В. Е. Шевченко. *Успехи молекулярной онкологии. 2018. Т. 5, № 4. С. 94–103.*
18. Angers S., Moon R. T. Proximal events in Wnt signal transduction. *Nat Rev Mol Cell Biol. 2009. V. 10, № 7. P. 468–477.*
19. Calcium/calmodulin-dependent protein kinase type IV is a target gene of the Wnt/beta-catenin signaling pathway. M. S. Arrázola, L. Varela-Nallar, M. Colombres et al. *J Cell Physiol. 2009. V. 221, № 3. P. 658–667.*
20. *Miller J. R. The Wnts. Genome Biol. 2002. V. 3, № 1. P. 1–15.*
21. *Slusarski D. C., Corces V. G., Moon R. T. Interaction of Wnt and a Frizzled homologue triggers G-protein-linked phosphatidylinositol signalling. Nature. 1997. V. 390, № 6658. P. 410–413.*
22. *MacDonald B. T., He X. Frizzled and LRP5/6 receptors for Wnt/ β -catenin signaling. Cold Spring Harb Perspect Biol. 2012. V. 4, № 12.*
23. LDL-receptor-related proteins in Wnt signal transduction. K. Tamai, M. Semenov, Y. Kato et al. *Nature. 2000. V. 407, № 6803. P. 530–535.*
24. Role of Wnt/ β -catenin, Wnt/c-Jun N-terminal kinase and Wnt/ Ca^{2+} pathways in cisplatin-induced chemoresistance in ovarian cancer. L. Huang, Y. Jin, S. Feng et al. *Exp Ther Med. 2016. V. 12, № 6. P. 3851–3858.*
25. *Willert K., Nusse R. Beta-catenin: a key mediator of Wnt signaling. Curr Opin Genet Dev. 1998. V. 8, № 1. P. 95–102.*
26. *MacDonald B. T., Tamai K., He X. Wnt/ β -catenin signaling: components, mechanisms, and diseases. Dev Cell. 2009. V. 17, № 1. P. 9–26.*
27. *Baarsma H. A., Konigshoff M., Gosens R. The WNT signaling pathway from ligand secretion to gene transcription: the molecular mechanisms and pharmacological targets. Pharmacol Therapeutic. 2013. V. 138, № 1. P. 66–83.*
28. *Weeraratna A. T. A Wnt-er wonderland the complexity of Wnt signaling in melanoma. Cancer Metastasis Rev. 2005. V. 24, № 2. P. 237–250.*
29. *Davis E. K., Zou Y., Ghosh A. Wnts acting through canonical and noncanonical signaling pathways exert opposite effects on hippocampal synapse formation. Neural Dev. 2008. V. 3. P. 32.*
30. *Kim Y. M., Kahn M. The role of the Wnt signaling pathway in cancer stem cells: prospects for drug development. Res Rep Biochem. 2014. V. 4. P. 1–12.*
31. *Vallée A., Lecarpentier Y., Vallée J. N. Curcumin: a therapeutic strategy in cancers by inhibiting the canonical WNT/ β -catenin pathway. J Exp Clin Cancer Res. 2019. V. 38, № 1. P. 323.*
32. Wnt signaling in ovarian tumor genesis. T. A. Gatliffe, B. J. Monk, K. Planutis, R. F. Holcombe. *Int J Gynecol Cancer. 2008. V. 18, № 5. P. 954–962.*
33. Phosphorylation of tau antagonizes apoptosis by stabilizing beta-catenin, a mechanism involved in Alzheimer's neurodegeneration. H. L. Li, H. H. Wang, S. J. Liu et al. *Proc Natl Acad Sci USA. 2007. V. 104, № 9. P. 3591–3596.*
34. Targeting Notch, Hedgehog, and Wnt pathways in cancer stem cells: clinical update. N. Takebe, L. Miele, P. J. Harris et al. *Nat Rev Clin Oncol. 2015. V. 12, № 8. P. 445–464.*
35. A phase I first-in-human study of PRI-724 in patients (pts) with advanced solid tumors. A. B. El-Khoueiry, Y. Ning, D. Yang et al. *J Clin Oncol. 2013. V. 31, № 15 (suppl). P. 2501.*
36. Prostate tumor progression is mediated by a paracrine TGF- β /Wnt 3a signaling axis. X. Li, V. Placencio, J. M. Iturregui et al. *Oncogene. 2008. V. 27, № 56. P. 7118–7130.*
37. Kahn M. Can we safely target the WNT pathway? *Nat Rev Drug Discov. 2014. V. 13, № 7. P. 513–532.*

**Н. І. Шарикіна, О. М. Пуськов, О. О. Хавич, А. Г. Радівоевич,
М. А. Мунько, Т. А. Бухтіарова**

Сигнальний шлях Wnt за пухлинного росту, можливості фармакологічної корекції

У статті наведено сучасні дані щодо клітинного сигнального шляху Wnt, який відіграє значну роль у регуляції гомеостазу та зумовлює низку злоякісних новоутворень за патологічної експресії його ланок.

Зазначено основні, у тому числі патологічні, ланки передачі клітинних сигналів Wnt як мішені для пошуку таргетних протипухлинних засобів.

Означено 3 етапи пошуку та вивчення таргетних препаратів щодо Wnt і стан їхнього розвитку в світі:

- вивчення відносно шляху Wnt затверджених для клінічного використання за іншими показаннями препаратів (суліндак, целекоксиб, вітаміни А та Д, пірвіній, кверцетін, куркумін, ресвератрол та ін.);
- доклінічні дослідження нових фізіологічно активних речовин з певною активністю щодо Wnt сигналіну (XAV-939, GW55, G007-LK, G244-LM);

– клінічні випробування сполук, що виявили здатність впливати на Wnt сигналінг (LGK-974 (інгібітор поркупіну), ICG001, PRI-724, антитіла, що нейтралізують Wnt-ліганди та рецептори). Загальна думка онкофармакологів і клініцистів свідчить про перспективу одержання препаратів, здатних впливати на патологічну експресію шляху Wnt з більш високою активністю, ніж у класичних цитостатичних засобів.

Ключові слова: Wnt сигналінг, пухлинний ріст, β-катенінова трансдукція, фармакологічна корекція

**Н. И. Шарькина, А. Н. Пуськов, О. А. Хавич, А. Г. Радивоевич,
М. А. Мунько, Т. А. Бухтиарова**

Сигнальный путь Wnt при опухолевом росте, возможности фармакологической коррекции

В статье представлен обзор современных данных по клеточному сигнальному пути Wnt, который играет значительную роль в регуляции гомеостаза и обуславливает ряд злокачественных новообразований при патологической экспрессии его звеньев.

Показаны основные, в том числе патологические, звенья передачи клеточных сигналов Wnt как мишени для поиска таргетных противоопухолевых средств.

Отмечено 3 этапа поиска и изучения таргетных препаратов, способных воздействовать на Wnt сигналинг и состояние их развития в мире:

- изучение в отношении пути Wnt препаратов, утвержденных для клинического использования по другим показателям (сулиндак, целекоксиб, витамины А и Д, пирвиний, кверцетин, куркумин, ресвератрол и др.);
- доклинические исследования новых физиологически активных веществ с определенной активностью относительно Wnt сигналинга (XAV-939, GW55, G007-LK, G244-LM);
- клинические испытания соединений, которые обнаружили способность действовать на Wnt сигналинг (LGK-974 (ингибитор поркупина), ICG001, PRI-724, антитела, нейтрализующие Wnt-лиганды и рецепторы).

Общее мнение онкофармакологов и клиницистов свидетельствует о перспективе получения препаратов, способных влиять на патологическую экспрессию пути Wnt с более высокой активностью, чем классические цитостатики.

Ключевые слова: Wnt сигналинг, опухолевый рост, β-катениновая трансдукция, фармакологическая коррекция

**Н. I. Sharykina, O. M. Puskov, O. O. Khavych, A. G. Radivoevych,
M. A. Munko, T. A. Bukhtiarova**

The Wnt signaling pathway in tumor development, possibilities of pharmacological correction

The article provides an overview of current data on the cellular Wnt signaling pathway, which plays a significant role in the regulation of homeostasis and causes a number of malignancies in the pathological expression of its links.

To date, three signaling cascades that are activated by Wnt proteins are known: canonical and two noncanonical. The canonical or β-catenin pathway involves in various biological processes and impaired activity of β-catenin signaling occurs in many oncological diseases.

The main links of Wnt cell signaling are indicated as a targets for finding targeted antitumor agents.

Three stages of search and study of targeted Wnt drugs and their development in the world are defined as follows:

- study in relation to the Wnt pathway of drugs approved for clinical use for other indications (Sulindac, Celecoxib, vitamins A and D, Pyrvinium, Quercetin, Curcumin, Resveratrol and others);
- preclinical studies of new physiologically active substances with certain activity on Wnt signaling (XAV-939, GW55, G007-LK, G244-LM);
- clinical trials of compounds that have shown ability to act Wnt signaling (LGK-974 (inhibitor of Porcupine), ICG001, PRI-724, antibodies that neutralize Wnt ligands and receptors).

The general opinion of oncoparmacologists and clinicians shows the possibility to create drugs that capable to affect the pathological expression of the Wnt pathway with higher activity than classical cytostatic agents.

Key words: Wnt signaling, tumor growth, β-catenin pathway, pharmacological correction

Надійшла: 27 лютого 2020 р.

Прийнята до друку: 22 квітня 2020 р.

Контактна особа: Шарикіна Надія Іванівна, доктор медичних наук, професор, лабораторія онкофармакології, ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМНУ», буд. 14, вул. Антона Цедіка, м. Київ, 03057. Тел.: + 38 0 44 456 83 22. Електронна пошта: sharykina@ift.org.ua