

## Strategie hamowania ścieżki Wnt w komórkach nowotworowych

### *Strategies of Wnt pathway inhibition in cancer cells*

Anna Rybarczyk, Aleksandra Majchrzak-Celińska, Violetta Krajka-Kuźniak

Katedra i Zakład Biochemii Farmaceutycznej, Uniwersytet Medyczny im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu

#### Streszczenie

Szlak sygnalizacyjny Wnt, w tym szlak kanoniczny i niekanoniczny, jest szlakiem wysoce konserwatywnym, kontrolującym rozwój embrionalny oraz procesy pełniące istotną rolę w utrzymaniu homeostazy i regeneracji tkanek poprzez udział w regulacji proliferacji, migracji, różnicowania i apoptozy komórek. Wykazano, że ścieżka Wnt ulega nieprawidłowej regulacji oraz konstytutywnej aktywacji w wielu różnych typach nowotworów. W związku z tym obecnie prowadzi się szeroko zakrojone badania, które mają na celu opracowanie leków mogących ingerować w określone komponenty szlaku, aby skutecznie zahamować aktywność tej ścieżki. W artykule dokonujemy charakterystyki aktywacji szlaku Wnt oraz przeglądu związków o potencjalnym zastosowaniu terapeutycznym poprzez oddziaływanie na tę ścieżkę sygnalizacyjną. (*Farm Współ 2022; 15: 102-109*) doi: 10.53139/FW.20221514

*Słowa kluczowe: kanoniczny i niekanoniczny szlak Wnt, β-kenatyna, inhibitory Wnt*

#### Abstract

The Wnt signaling pathway, including the canonical and non-canonical pathway, is a highly conserved pathway which controls embryonic development and processes that play an important role in maintaining tissue homeostasis and regeneration by participating in the regulation of cell proliferation, migration, differentiation and apoptosis. It has been shown that the Wnt pathway is abnormally regulated and constitutively activated in many different types of cancer. Therefore, extensive research is currently undertaken to develop drugs that can interfere with specific components of the pathway and lead to effective inhibition of pathway activity. In this article, we characterize Wnt pathway activation and review compounds with potential therapeutic utility by affecting this signaling pathway. (*Farm Współ 2022; 15: 102-109*) doi: 10.53139/FW.20221514

**Keywords:** *canonical and non-canonical Wnt pathway, β-catenin, Wnt pathway inhibitors*

#### Wprowadzenie

Sygnalizacja Wnt odgrywa istotną rolę w rozwoju embrionalnym organizmów wielokomórkowych podczas tworzenia osi ciała, a także w różnicowaniu struktur ośrodkowego układu nerwowego (OUN). W późniejszym okresie rozwoju ścieżka angażuje się w procesy biologiczne odpowiedzialne za homeostazę tkankową i regenerację. W 1982 r. Nusse i wsp. opisali gen *int-1*, wskazując go jako kluczowy w procesie wywoływania raka piersi u myszy pod wpływem wirusa MMTV [1]. Nazwa szlaku Wnt wywodzi się od nazw pierwszych odkrytych białek wchodzących w jego skład, tj. Wg – bezskrzydła muszka owocowa (Wingless) oraz Int – nazwa onkogenu odkrytego u myszy, który po

aktywacji wirusem MMTV wywoływał rozrost guzów nowotworowych (ang. *MMTV integration site*) [1]. Z uwagi na fakt, że szlak Wnt reguluje procesy różnicowania, migracji i podziałów, wszelkie nieprawidłowości w jego przekaźnictwie mogą skutkować wrodzonymi wadami rozwojowymi, m.in. w strukturach mózgowych, a także promować onkogenzę [2].

#### Białka WNT

Białka Wnt są glikolipoproteinami, z czego do tej pory opisano 19 białek, które łączy homologia sekwencji kodującej. Wszystkie białka zawierają na N-końcu sekwencję sygnałową poprzedzoną wysoce konserwatywną domeną bogatą w cysteiny. Obecność

tej grupy opisano m.in. w białku Wnt3a, Wnt1 i Wnt5a oraz Wg. Odkryto również dodatkową modyfikację na serynie 209 (Ser209) [3]. Te modyfikacje odpowiedzialne są za właściwości hydrofobowe białek Wnt i ułatwiają ich przyłączanie do błon komórkowych. Co ważniejsze, grupy acylowe są niezbędne w procesie wydzielania i regulacji aktywności białek Wnt. Grupy acylowe prawdopodobnie uczestniczą w przytwierdzeniu białka do błony siateczki śródplazmatycznej w pobliżu kompleksu transferazy oligosacharydowej, enzymu katalizującego proces glikozylacji. Enzymem uczestniczącym w dodawaniu grup acylowych do białek Wnt jest porcupina (PORCN) zwana również mom-1. Wyciszenie genu kodującego porcupinę prowadzi do zmniejszenia wydzielania białek Wnt oraz do ich akumulacji w obrębie siateczki śródplazmatycznej [4].

### Aktywacja szlaku Wnt

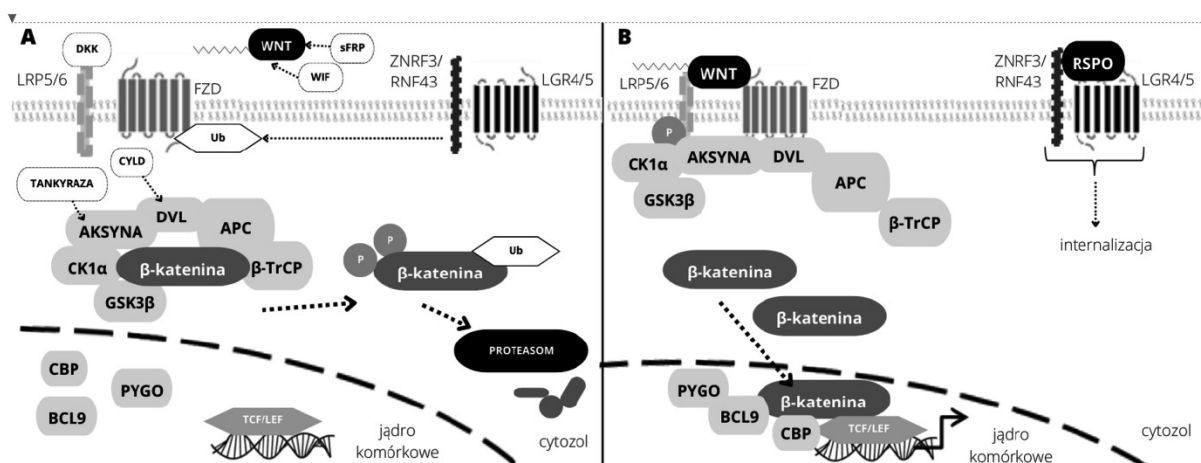
Szlak Wnt może zostać aktywowany drogą kanoniczną zależną od  $\beta$ -kateniny odpowiedzialną za regulację proliferacji komórek oraz drogami niekanonicznymi, wśród których najlepiej poznanymi są ścieżka zależna od jonów wapnia oraz ścieżka polarna, umożliwiające kontrolę biegunowości i migracji komórek [5].

Podczas nieobecności ligandów Wnt zlokalizowany w cytozolu tzw. kompleks degradujący, w którego skład wchodzi: DVL (ang. *dishevelled*), aksyna 1, APC (ang. *adenomatous polyposis coli*), kinaza kazeiny 1 $\alpha$  (CK1 $\alpha$ ), kinaza syntazy glikogenu 3 $\beta$  (GSK3 $\beta$ ) oraz

$\beta$ -TrCP (ang.  *$\beta$ -transducin repeats-containing E3 ubiquitin ligase*), doprowadza do degradacji  $\beta$ -kateniny, utrzymując niski poziom tego białka w cytozolu. Dzieje się to wskutek fosforylacji miejsc serynowych i tyrozynowych w  $\beta$ -kateninie z udziałem kinaz CK1 $\alpha$  oraz GSK3 $\beta$ , po czym  $\beta$ -katenina ulega ubikwitynacji przez  $\beta$ -TrCP oraz degradacji w proteasomie [6].

Pobudzenie ścieżki drogą kanoniczną (rycina 1) rozpoczyna się od związania liganda Wnt z kompleksem receptorowym tworzonym przez receptor Frizzled (Fzd) oraz ko-receptor LRP5/6 (ang. *low-density lipoprotein receptor related protein 5/6*). Powstały kompleks Wnt-Fzd-LRP5/6 indukuje przyłączenie DVL do Fzd, po czym do kompleksu receptorowego zostaje zrekrutowana również aksyna podlegająca regulacji przez poli-ADP-rybozylację w obecności tankyrazy [7]. Zakłócenie stabilizacji kompleksu degradującego skutkuje zahamowaniem ubikwitynacji  $\beta$ -kateniny. W efekcie poziom tego białka wzrasta sprzyjając jego translokacji do jądra komórkowego, gdzie wraz z CRB (ang. *CREB binding protein*), BCL9 (ang. *B-cell CLL/lymphoma 9 protein*) oraz PYGO (*Pygopus homolog*) pełni ono funkcję ko-aktywatora czynników transkrypcyjnych TCF/LEF (ang. *T-cell factor/lymphocyte enhancer factor*). Wówczas może dochodzić do ekspresji genów takich jak m.in. *c-MYC*, *VEGF*, *CCND1*, *CD44* czy *NEDD9* [2,6,8].

W ścieżce niekanonicznej rolę ko-receptora dla Fzd pełni ROR2 (ang. *tyrosine kinase-like orphan receptor 2*). Przyłączenie liganda Wnt do kompleksu



Rycina 1. Ścieżka sygnałowa Wnt: (A) szlak nieaktywny, (B) szlak aktywny  
Figure 1. The Wnt signaling pathway: (A) inactive pathway (B) active pathway

receptorowego, podobnie jak w wyżej opisanym przypadku, prowadzi do związania cząsteczki DVL przez wewnątrzkomórkową domenę receptora Fzd. Uruchomienie ścieżki zależnej od jonów wapnia wywołuje aktywację fosfolipazy C (PLC), która sprzyja uwalnianiu  $Ca^{2+}$  z siateczki śródplazmatycznej (ER) zwiększając jego stężenie w komórce, tym samym wpływając na kinazę białkową C (PKC), kinazę zależną od kalmoduliny II (CAMKII) oraz kalcyneurynę (CaN), ostatecznie doprowadzając do aktywacji jądrowego czynnika transkrypcyjnego NFAT (ang. *nuclear factor of activated T cells*). Natomiast pobudzenie ścieżki polarnej zachodzi poprzez zaangażowanie małych GTPaz RHOA (ang. *transforming protein RhoA*) oraz RAC1 (ang. *Ras-related C3 botulinum toxin substrate 1*), które odpowiednio aktywują kinazy ROCK (ang. *Rho-associated protein kinases*) oraz JNK (ang. *c-Jun N-terminal protein kinase*) odrywające rolę w polaryzacji komórek [2,9].

Duże znaczenie w regulacji sygnalizacji Wnt ma oś ZNRF3/RNF43/R-spondin/LGR. ZNRF3 i RNF43 jako ligazy ubikwitynowe (E3) oddziałują z Fzd sprzyjając jego internalizacji. Jednakże związanie liganda R-spondyny (RSPO) z LGR oraz ZNRF3/RNF43 antagonizuje to działanie poprzez stabilizację Fzd w błonie komórkowej warunkując nasilenie aktywacji sygnalizacji Wnt, zaś powstały kompleks ZNRF3/RNF43/R-spondin/LGR kierowany jest do wnętrza komórki [10]. Negatywnym regulatorem LRP5/6 jest DKK (Dickkopf), który kompetycyjnie wiąże się z tym ko-receptorem ograniczając aktywację ścieżki [11]. Istotne znaczenie regulacyjne wykazuje również enzym CYLD, który destabilizuje białko DVL poprzez usuwanie łańcuchów poliubikwitynowych, co zapobiega jego polimeryzacji, a w konsekwencji nasilonej aktywacji ścieżki Wnt [12]. Obecność zewnątrzkomórkowych inhibitorów ligandów Wnt, do których należą m.in. białka sFRP (ang. *secreted Frizzled-related protein*) oraz WIF-1 (ang. *Wnt inhibitory factor 1*), również negatywnie reguluje aktywność ścieżki Wnt. Domena cysteinowa zawarta w sFRP oraz domena rozpoznająca reszty kwasu palmitooleinowego w WIF warunkują ich wysokie powinowactwo do ligandów Wnt ograniczając wiązanie z kompleksem receptorowym Fzd-LRP5/6 [7].

### Szlak Wnt jako punkt uchwytu dla leków

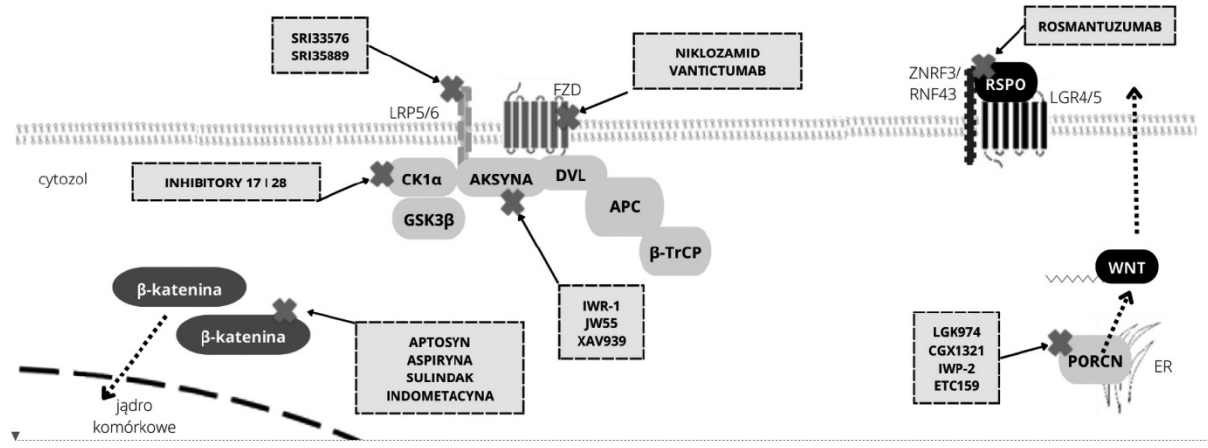
Nadmierna, onkogenna aktywacja kanonicznej ścieżki Wnt opisana została w wielu typach nowotworów. Co ciekawe, istnieje kilka mechanizmów wywołujących

nadmierną aktywację kanonicznego szlaku Wnt. Przykładowo, w raku jelita grubego hiperaktywacja szlaku Wnt ma miejsce wskutek mutacji inaktywujących w genie *APC*, występującej w ponad 80% wszystkich przypadków tego nowotworu [13]. Nadmierna aktywność ścieżki sygnalizacyjnej Wnt obserwowana jest także w raku żołądka, piersi, w białaczkach, jak również w glejaku wielopostaciowym (GBM) [14,15]. Co ciekawe, w GBM mutacje genetyczne w genach kodujących białka uczestniczące w przekaźnictwie tą ścieżką, tj. w *APC*, *CTNNB1*, czy *TCF4* są rzadkością [16,17]. Obecne wyniki badań wskazują, że to nie mutacje genetyczne, a raczej zmiany epigenetyczne wpływają na nadmierną aktywację szlaku Wnt w komórkach GBM [17,18]. Wykryto bowiem częstą metylację w promotorach genów kodujących białka antagonistyczne ścieżki Wnt, tj. w *SFRP1*, *SFRP2*, *SOX17* oraz *PPP2R2B* [19].

Z uwagi na dobrze udokumentowaną aktywność promującą nowotworzenie przez szlak Wnt, kilka molekularnych składników tej sygnalizacji zostało zaproponowanych jako innowacyjne cele w terapii onkologicznej [20]. Na rycinie 2 zamieszczono szereg potencjalnych możliwości interwencji takich jak: inhibitory PORCN, inhibitory tankyrazy, inhibitory  $\beta$ -kateniny, inhibitory receptorów Frizzled, inhibitory LRP oraz inhibitory kinazy kazeiny. Z kolei w tabeli 1 przedstawiono przykładowe cząsteczki lub leki będące w fazie badań w odniesieniu do terapii konkretnych typów nowotworów.

### Inhibitory porcupiny

Porcupina (PORCN) to błonowa O-acylotransferaza (MBOAT), która jest niezbędna do sekrecji ligandów Wnt. PORCN dostarcza reszty kwasu palmitynowego lub kwasu palmitooleinowego do białek Wnt. Te lipidowe modyfikacje białek Wnt w obrębie Cys77 lub Ser209 ułatwiają ich transport z aparatu Golgiego na powierzchnię błony komórkowej. W ostatnich latach poddano badaniom szereg małowcząsteczkowych inhibitorów MBOAT/PORCN [7]. Spośród ostatnio opisanych, szczególną uwagę zwracają małowcząsteczkowe inhibitory takie jak LGK974, IWP-2, CGX1321 czy ETC159. Jako jeden z pierwszych został opisany związek IWP [30]. Należące do tej grupy małowcząsteczkowych inhibitorów IWP-1 i IWP-2 wykazywały stabilność w ludzkim osoczu [22]. Kolejnym przykładem jest ETC159, który hamował rozmiar guza poprzez zmniejszenie ekspresji  $\beta$ -kateniny oraz genów docelowych szlaku Wnt takich jak *Axin-2*, *TCF-7* i *c-MYC*.



Rycina 2. Potencjalne strategie terapeutyczne celowane w ścieżkę sygnałową Wnt  
 Figure 2. Potential therapeutic strategies targeting Wnt signaling pathway

Tabela I. Przykłady cząsteczek lub leków testowanych jako inhibitory szlaku Wnt  
 Table I. The examples of molecules or drugs tested as Wnt pathway inhibitors

Mechanizm działania	Cząsteczka badana/lek	Tkanka nowotworowa	Literatura
Inhibitory PORCN	LGK974	Jelito grube, jajniki, płuco, mózg	[21,22]
	CGX1321	Żołądek, trzustka, jelito grube	[5]
	IWP-2	Żołądek	[22]
	ETC159	Jelito grube	[22]
Inhibitory tankyrazy	IWR-1	Krew, kość	[11]
	JW55	Jelito grube, kość	[11]
	XAV939	Jelito grube	[23]
Inhibitory β-kateniny	Aptosyn®	Jelito grube	[24]
	Aspiryna, Sulindak, Indometacyna	Jelito grube, pierś	[25,26]
Inhibitory receptorów Frizzled	Niklozamid	Jelito grube	[27]
Inhibitory RSPO3	OMP-18R5 (vantictumab)	Pierś	[28]
	OMP-131R10 (rosmantuzumab)	Jelito grube	[9]
Inhibitory LRP	SRI33576, SRI35889	Pierś	[7]
Inhibitory kinazy kazeiny	Inhibitory 17 i 28	Pierś	[29]

ETC159 jest obecnie w I fazie badań klinicznych [22]. Jednak największy potencjał wśród wymienionych inhibitorów PORCN ma LGK974, który wszedł w II fazę badań klinicznych. LGK974 skutecznie hamuje fosforylację receptora LRP6 jak również ekspresję genów docelowych szlaku Wnt (m.in. *Axin-2*) [21].

### Inhibitory tankyrazy

Tankyrazy należą do polimeraz poli(ADP-rybozy), regulujących stabilność aksyny poprzez nakierowywanie na jej ubikwitynację i degradację. Występują one w komórce w dwóch izoformach jako TNKS1 lub TNKS2. Wykazano, że hamowanie tankyrazy prowa-

dzi do stabilizacji aksyny, a tym samym do zwiększonej degradacji  $\beta$ -kateniny. Do tej pory opisano przede wszystkim małowcząsteczkowe inhibitory tankyrazy takie jak IWR-1, JW55 czy XAVV939. IWR-1 hamuje TNKS1 i TNKS2, prowadząc do zmniejszenia transportu  $\beta$ -kateniny [11]. Z kolei XAVV939 to małowcząsteczkowy inhibitor, który hamuje TNKS1 i TNKS2, a tym samym odpowiada za wzrost ekspresji aksyny 1 i 2, oraz  $\beta$ -kateniny [23].

### Inhibitory $\beta$ -kateniny

$\beta$ -katenina należy do rodziny katenin i zwykle połączona jest z E-kadherynami zapewniając odpowiednie przyleganie komórek.  $\beta$ -katenina może występować w dwóch formach: monomerycznej – uczestniczącej w transdukcji sygnału lub dimerycznej związanej z E-kadheryną. Nadekspresja kadheryn może hamować kanoniczny szlak Wnt poprzez relokalizację  $\beta$ -kateniny do błony komórkowej [31]. W literaturze opisano wiele przykładów inhibitorów translokacji  $\beta$ -kateniny oraz substancji nasilających jej degradację.

Wykazano, że powszechnie stosowane niesteroidowe leki przeciwzapalne (NLPZ) takie jak kwas acetylosalicylowy, sulindak i indometacyna obniżają ryzyko rozwoju raka piersi i jelita grubego, zwłaszcza u pacjentów z mutacją białka APC, m.in. poprzez hamowanie transkrypcji zależnej od  $\beta$ -kateniny i TCF poprzez fosforylację  $\beta$ -kateniny [26]. Z kolei w badaniach Steinert'a i wsp. (2011) siarczan sulindaku ograniczał ekspresję  $\beta$  i  $\gamma$ -kateniny oraz obniżał żywotność hematopoetycznych komórek progenitorowych posiadających gen fuzyjny *X-RAR $\alpha$*  [32]. Eksisulind (Aptosyn®) jest pochodną NLPZ, który jako inhibitor cyklicznej fosfodiesterazy nukleotydowej, powoduje w komórce nowotworowej nagromadzenie się w cytozolu cyklicznego GMP, co indukuje kinazę białkową G, która powoduje fosforylację  $\beta$ -kateniny na C-końcu i jej degradację (rycina 1). Dodatkowo, eksisulind prowadzi również do inaktywacji GSK3 $\beta$ , promując fosforylację seryny w pozycji 9. Badania prowadzone na komórkach gruczolakoraka okrężnicy SW480 wykazały, że eksisulind oraz jego nowsze analogi, znane pod komercyjnymi nazwami jako CP461 oraz CP248, powodowały spadek ekspresji  $\beta$ -kateniny na poziomie mRNA [25].

### Inhibitory receptorów Frizzled

Niklozamid to lek przeciwpasożytniczy, który w badaniach Osada i wsp. wykazywał również działanie przeciwnowotworowe w odniesieniu do raka jelita

grubego [27,33]. Co istotne, obserwowane działanie antyproliferacyjne niklozamid było niezależne od obecności lub braku obecności mutacji genu *APC*. Mechanizm działania przeciwnowotworowego niklozamid opiera się na inhibicji receptorów Fzd, poprzez stymulację ich internalizacji. Wykazano również, że niklozamid hamował ekspresję *DVL-2*, wpływał na stabilizację  $\beta$ -kateniny oraz poziom ekspresji *TCF/LEF*. Obecnie trwają badania nad wykorzystaniem niklozamid wraz z enzalutamidem w leczeniu raka prostaty (NCT03123978). Zakończono również I fazę badań klinicznych z wykorzystaniem niklozamid w leczeniu raka okrężnicy (NCT02687009) [33].

Inną strategią terapeutyczną jest zastosowanie przeciwciał monoklonalnych skierowanych przeciwko receptorom Fzd. W 2012 roku firma OncoMed Pharmaceuticals doniosła o skuteczności przeciwnowotworowej przeciwciała monoklonalnego *OMP-18R5* [28]. Przeciwciało to wiąże się do pięciu różnych receptorów Fzd, tj. Fzd 1, 2, 5, 7 oraz 8, hamując tym samym ścieżkę Wnt [34]. Efektem tego hamowania jest inhibicja wzrostu komórek raka piersi, trzustki, okrężnicy oraz płuc. Co ciekawe, zaobserwowano również synergizm działania *OMP-18R5* ze standardowymi lekami przeciwnowotworowymi, takimi jak paklitaksel, irinotekan oraz gemcytabina [28]. Przeciwciało *OMP-18R5*, pod nazwą vanttictumab doczekało się szeregu badań klinicznych u ludzi. W badaniu klinicznym NCT01973309 testowano bezpieczeństwo stosowania oraz skuteczność łącznego podania paklitakselu oraz vanttictumabu u pacjentek ze wznową lub przerzutami HER-2 negatywnego raka piersi [35]. Kombinacja paklitakselu i vanttictumabu była generalnie dobrze tolerowana i skuteczna, niemniej jednak zaobserwowano częste występowanie złamań kości u leczonych pacjentek. Z kolei w badaniu NCT01345201 określano maksymalną tolerowaną dawkę u pacjentów z nowotworami litymi. Stwierdzono również, że negatywny wpływ na kość vanttictumabu jest odwracalny [34]. Innym przeciwciałem monoklonalnym wpływającym na destabilizację receptorów Fzd jest rosmantuzumab (*OMP-131R10*) skierowany przeciwko R-spondynie 3 (*RSPO3*), co wykazano w badaniu I fazy w przypadku raka jelita grubego [9].

### Inhibitory LRP

Do aktywacji kanonicznej ścieżki sygnałowej Wnt poza interakcją Wnt-Fzd niezbędny jest również udział ko-receptorów LRP5/6, które wspólnie z Wnt i Fzd tworzą trimeryczny kompleks aktywujący przekaz-

nictwo sygnału [7]. Wykazano, że niklozamid, oprócz wymienionych wcześniej mechanizmów hamuje przekaznictwo kanoniczną ścieżką Wnt również poprzez hamowanie ekspresji i fosforylacji ko-receptora LRP6 oraz indukcję jego degradacji [36]. Efekt ten potwierdzony został w zarodkowej linii komórek nerki HEK293, w linii komórkowej wyprowadzonej z przerzutów do kości gruczolakoraka prostaty PC-3 oraz w linii gruczolakoraka piersi MDA-MB-231 [36]. Hamowanie LRP6 w potrójnie negatywnym raku piersi obserwowane było również pod wpływem związków określanych jako SRI33576 oraz SRI35889, będących pochodnymi niklozamidu [37]. Podsumowując, LRP5/6 wskazywane jest jako dobry cel terapeutyczny w leczeniu nowotworów, choć jego zaangażowanie w liczne ścieżki sygnalizacyjne, w tym poza kanoniczną ścieżką Wnt, także ścieżkę niekanoniczną, szlak Hippo oraz procesy związane z regulacją procesów kościotwórczych sprawia, że jest to cel trudny i wymagający dalszych badań [38].

### Inhibitory kinazy kazeiny

Kolejnym celem molekularnym są kinazy kazeiny (CK), które poprzez fosforylację docelowych białek wpływają na przekaznictwo kanoniczną ścieżką Wnt. Zaobserwowano, że hamowanie CK wycisza szlak Wnt i działa antyproliferacyjnie w odniesieniu do komórek raka piersi [39]. Rosenberg i wsp. (2015) wykazali, że nowotwory piersi, w których dochodzi do nadekspresji CK1δ, mają również wysoce aktywny szlak Wnt, zaś inhibicja CK1δ zmniejsza poziom jądrowej β-keniny oraz aktywność czynnika transkrypcyjnego TCF. Hamowanie CK1δ uznane zostało zatem za obiecującą strategię w leczeniu raka piersi z nadaktywną ścieżką Wnt. W kolejnych badaniach wyłoniono dwa związki, mianowicie SR-653234 oraz SR-1277 będące selektywnymi inhibitorami CK1δ/ε. Inna grupa badawcza wyłoniła również kolejne związki będące

inhibitorami CK1δ/ε określane jako inhibitory 17 i 28, które już w nanomolowych stężeniach w modelu *in vitro* hamują wzrost potrójnie negatywnego raka piersi [29]. Wykazano również, że cechują się one dobrymi parametrami farmakokinetycznymi, zatem planowane są dalsze ich badania z użyciem modeli zwierzęcych.

### Podsumowanie

Badania ostatnich lat wykazały, że szlak Wnt odgrywa istotną rolę w kancerogenezie, sterując takimi procesami jak proliferacja, różnicowanie czy apoptoza. Dlatego zaburzenia szlaku związane z nieprawidłową ekspresją białek biorących w nim udział są istotnym czynnikiem patogennym wielu chorób nowotworowych. Do tej pory wiele badań wykazało, że inhibicja szlaku Wnt ma znaczący potencjał terapeutyczny. Pomimo zaawansowanych badań klinicznych nie ma jeszcze zatwierdzonych leków celujących w sygnalizację Wnt, co jest wynikiem katastrofalnych skutków dla homeostazy i regeneracji tkanek pozostających pod kontrolą tego szlaku. Z drugiej strony ogromny potencjał wynikający z hamowania zarówno kanonicznej, jak i niekanonicznej ścieżki Wnt nieustannie stymuluje naukowców do kontynuacji badań nad inhibitorami szlaku Wnt.

Konflikt interesów / Conflict of interest

Brak/None

Adres do korespondencji / Correspondence address

✉ Violetta Krajka-Kuźniak

Katedra i Zakład Biochemii Farmaceutycznej

Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

ul. Święcickiego 4; 60-781 Poznań

☎ (+48 61) 854 66 20

✉ vkrajka@ump.edu.pl

### Piśmiennictwo/References

1. 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.
2. McCord M, Mukoyama Y, Gilbert MR, et al. Targeting WNT Signaling for Multifaceted Glioblastoma Therapy. *Front Cell Neurosci*. 2017;11:318.
3. Baarsma HA, Königshoff M, Gosens R. The WNT signaling pathway from ligand secretion to gene transcription: Molecular mechanisms and pharmacological targets. *Pharmacol Ther*. 2013;138(1):66-83.

4. Takahashi-Yanaga F, Sasaguri T. The Wnt/ $\beta$ -Catenin Signaling Pathway as a Target in Drug Discovery. *J Pharmacol Sci.* 2007;104(4):293-302.
5. Jung Y-S, Park J-I. Wnt signaling in cancer: therapeutic targeting of Wnt signaling beyond  $\beta$ -catenin and the destruction complex. *Exp Mol Med.* 2020;52(2):183-91.
6. Chatterjee A, Paul S, Bisht B, et al. Advances in targeting the WNT/ $\beta$ -catenin signaling pathway in cancer. *Drug Discov Today.* 2022;27(1):82-101.
7. Kleszcz R. Kanoniczna ścieżka sygnałowa Wnt: Kanoniczna ścieżka sygnałowa Wnt a funkcjonalna struktura oraz znaczenie w płaskonabłonkowych nowotworach głowy i szyi. *Postępy Biochem.* 2019;65(3):183-92.
8. van Anel H, Kocemba KA, Spaargaren M, et al. Aberrant Wnt signaling in multiple myeloma: molecular mechanisms and targeting options. *Leukemia.* 2019;33(5):1063-75.
9. Kim MJ, Huang Y, Park J-I. Targeting Wnt Signaling for Gastrointestinal Cancer Therapy: Present and Evolving Views. *Cancers.* 2020;12(12):3638.
10. ter Steege EJ, Bakker ERM. The role of R-spondin proteins in cancer biology. *Oncogene.* 2021;40(47):6469-78.
11. Zhang Y, Wang X. Targeting the Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway in cancer. *J Hematol Oncol/J Hematol Oncol.* 2020;13(1):165.
12. van Anel H, Kocemba KA, de Haan-Kramer A, et al. Loss of CYLD expression unleashes Wnt signaling in multiple myeloma and is associated with aggressive disease. *Oncogene.* 2017;36(15):2105-15.
13. Parsons MJ, Tammela T, Dow LE. WNT as a driver and dependency in cancer. *Cancer Discov.* 2021;11(10):2413-29.
14. Zhan T, Rindtorff N, Boutros M. Wnt signaling in cancer. *Oncogene.* 2017;36(11):1461-73.
15. Lee Y, Lee J-K, Ahn SH, et al. WNT signaling in glioblastoma and therapeutic opportunities. *Lab Invest.* 2016;96(2):137-50.
16. Guan R, Zhang X, Guo M. Glioblastoma stem cells and Wnt signaling pathway: molecular mechanisms and therapeutic targets. *Chin Neurosurg J.* 2020;6(1):25.
17. Arnés M, Casas Tintó S. Aberrant Wnt signaling: a special focus in CNS diseases. *J Neurogenet.* 2017;31(4):216-22.
18. Zuccarini M, Giuliani P, Ziberi S, et al. The Role of Wnt Signal in Glioblastoma Development and Progression: A Possible New Pharmacological Target for the Therapy of This Tumor. *Genes.* 2018;9(2):105.
19. Majchrzak-Celińska A, Słocińska M, Barciszewska A-M, et al. Wnt pathway antagonists, SFRP1, SFRP2, SOX17, and PPP2R2B, are methylated in gliomas and SFRP1 methylation predicts shorter survival. *J Appl Genet.* 2016;57(2):189-97.
20. Serafino A, Sferrazza G, Colini Baldeschi A, et al. Developing drugs that target the Wnt pathway: recent approaches in cancer and neurodegenerative diseases. *Expert Opin Drug Discov.* 2017;12(2):169-86.
21. Liu J, Pan S, Hsieh MH, et al. Targeting Wnt-driven cancer through the inhibition of Porcupine by LGK974. *Proc Natl Acad Sci.* 2013;110(50):20224-9.
22. Liu C, Takada K, Zhu D. Targeting Wnt/ $\beta$ -Catenin Pathway for Drug Therapy. *Med Drug Discov.* 2020;8:100066.
23. Huang S-MA, Mishina YM, Liu S, et al. Tankyrase inhibition stabilizes axin and antagonizes Wnt signalling. *Nature.* 2009;461(7264):614-20.
24. Goluboff ET. Exisulind, a selective apoptotic antineoplastic drug. *Expert Opin Investig Drugs.* 2001;10(10):1875-82.
25. Tinsley HN, Gary BD, Keeton AB, et al. Sulindac sulfide selectively inhibits growth and induces apoptosis of human breast tumor cells by PDE5 inhibition, elevation of cGMP, and activation of PKG. *Mol Cancer Ther.* 2009;8(12):3331-40.
26. Tinsley HN, Grizzle WE, Abadi A, et al. New NSAID Targets and Derivatives for Colorectal Cancer Chemoprevention. *Recent Results Cancer Res.* 2013;191:105-20.
27. Osada T, Chen M, Yang XY, et al. Anti-helminth compound niclosamide downregulates Wnt Signaling and elicits antitumor responses in tumors with activating APC mutations. *Cancer Res.* 2011;71(12):4172-82.
28. Gurney A, Axelrod F, Bond CJ, et al. Wnt pathway inhibition via the targeting of Frizzled receptors results in decreased growth and tumorigenicity of human tumors. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2012;109(29):11717-22.
29. Monastyrskyi A, Nilchan N, Quereda V, et al. Development of dual casein kinase 1 $\delta$ /1 $\epsilon$  (CK1 $\delta$ / $\epsilon$ ) inhibitors for treatment of breast cancer. *Bioorg Med Chem.* 2018;26(3):590-602.
30. Wang X, Moon J, Dodge ME, Pan X, Zhang L, Hanson JM, et al. The Development of Highly Potent Inhibitors for Porcupine. *J Med Chem.* 2013;56(6):2700-4.
31. Gottardi CJ, Wong E, Gumbiner BM. E-Cadherin Suppresses Cellular Transformation by Inhibiting  $\beta$ -Catenin Signaling in an Adhesion-Independent Manner. *J Cell Biol.* 2001;153(5):1049-60.
32. Steinert G, Oancea C, Roos J, et al. Sulindac Sulfide Reverses Aberrant Self-Renewal of Progenitor Cells Induced by the AML-Associated Fusion Proteins PML/RAR $\alpha$  and PLZF/RAR $\alpha$ . *PLoS ONE.* 2011;6(7):e22540.
33. Morris A, Pagare PP, Li J, et al. Drug discovery efforts toward inhibitors of canonical Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway in the treatment of cancer: A composition-of-matter review (2010–2020). *Drug Discov Today.* 2022;27(4):1115-27.
34. Smith DC, Rosen LS, Chugh R, et al. First-in-human evaluation of the human monoclonal antibody vantictumab (OMP-18R5; anti-Frizzled) targeting the WNT pathway in a phase I study for patients with advanced solid tumors. *J Clin Oncol.* 2013;31(15\_suppl):2540-2540.
35. Diamond JR, Becerra C, Richards D, et al. Phase Ib clinical trial of the anti-frizzled antibody vantictumab (OMP-18R5) plus paclitaxel in patients with locally advanced or metastatic HER2-negative breast cancer. *Breast Cancer Res Treat.* 2020;184(1):53-62.

36. Lu W, Lin C, Roberts MJ, et al. Niclosamide Suppresses Cancer Cell Growth By Inducing Wnt Co-Receptor LRP6 Degradation and Inhibiting the Wnt/ $\beta$ -Catenin Pathway. *PLoS ONE*. 2011;6(12):e29290.
37. Gangrade A, Pathak V, Augelli-Szafran CE, et al. Preferential Inhibition of Wnt/ $\beta$ -Catenin Signaling by Novel Benzimidazole Compounds in Triple-Negative Breast Cancer. *Int J Mol Sci*. 2018;19(5):1524.
38. Jeong W, Jho E. Regulation of the Low-Density Lipoprotein Receptor-Related Protein LRP6 and Its Association With Disease: Wnt/ $\beta$ -Catenin Signaling and Beyond. *Front Cell Dev Biol*. 2021;9:714330.
39. Rosenberg LH, Lafitte M, Quereda V, et al. Therapeutic targeting of casein kinase 1 $\delta$  in breast cancer. *Sci Transl Med*. 2015;7(318):318ra202.