

Received: 2013.04.04
Accepted: 2013.07.21
Published: 2013.11.26

Szlak sygnałowy Wnt i jego rola w regulacji metabolizmu komórki*

Wnt signaling pathway – its role in regulation of cell metabolism

Kamil Koziński, Agnieszka Dobrzyń

Pracownia Sygnałów Komórkowych i Zaburzeń Metabolicznych, Instytut Biologii Doświadczalnej im. M. Nenckiego, PAN, Warszawa

Streszczenie

Szlak sygnałowy Wnt odgrywa istotną rolę w regulacji takich procesów jak embriogeneza, różnicowanie, przeżywalność i proliferacja komórek. Aktywatory tego szlaku są białkami sekretoryjnymi działającymi zarówno auto-, para- jak i endokrynnie, a ich synteza, wydzielanie i transport są ściśle regulowane. Głównym receptorem klasycznej ścieżki sygnałowej Wnt jest kompleks receptorowy Frizzled/LRP, którego aktywacja prowadzi do translokacji β -kateniny z cytoplazmy do jądra komórkowego i zwiększenia aktywności czynnika transkrypcyjnego TCF. Zaburzenia w funkcjonowaniu szlaku Wnt stwierdzono w wielu stanach patologicznych, m.in. w różnych typach nowotworów oraz w chorobach neurodegeneracyjnych i metabolicznych. Najnowsze badania wykazały, że ścieżka sygnałowa Wnt odgrywa istotną rolę w utrzymaniu homeostazy węglowodanowej i lipidowej ustroju. Aktywacja szlaku Wnt prowadzi do zwiększenia aktywności receptorów jądrowych biorących udział w katabolizmie lipidów (PPAR δ , RAR, LXR) oraz do zahamowania adipogenezy. Szlak sygnałowy Wnt bierze także udział w regulacji glukoneogenezy i glikolizy. W obecnej pracy przedstawiono aktualny stan wiedzy na temat funkcjonowania i mechanizmów regulacji klasycznego szlaku Wnt oraz jego roli w regulacji metabolizmu komórki.

Słowa kluczowe: β -katenina • receptor Frizzled • metabolizm • TCF • Wnt

Summary

The Wnt signaling pathway plays an important role in morphogenesis, differentiation, cell survival and proliferation. Wnt activators are secreted proteins that work in an auto-, para- and endocrine manner and their synthesis, secretion and transport are tightly regulated. Frizzled/LRP is the main receptor complex in the canonical Wnt pathway. Its activation triggers β -catenin translocation to the nucleus and increases activity of TCF transcription factor. Disruption in Wnt signaling has been found in many pathophysiological states such as different types of cancer, neurodegenerative diseases and metabolic disorders. Recent studies revealed the important role of Wnt signaling in maintaining carbohydrate and lipid homeostasis. Activation of the Frizzled/LRP receptor complex leads to increase in the activity of transcription factors and nuclear receptors that regulate expression of genes involved in lipid utilization (PPAR δ , RAR, LXR) and inhibits adipogenesis. The Wnt signaling pathway is also involved in the regulation of gluconeogenesis and glycolysis. This review summarizes the current state of knowledge about mechanisms that regulate canonical Wnt signaling and its role in cell metabolism regulation.

Key words: β -catenin • Frizzled receptor • metabolism • TCF • Wnt

* Praca została przygotowana w ramach realizacji projektu TEAM/2010-5/2 finansowanego przez Fundację na Rzecz Nauki Polskiej.

Full-text PDF: <http://www.phmd.pl/fulltxt.php?CID=1077719>**Word count:** 3294**Tables:** –**Figures:** 2**References:** 138**Adres autorki:** prof. nadzw. dr hab. Agnieszka Dobrzyń, Pracownia Sygnałów Komórkowych i Zaburzeń Metabolicznych, Instytut Biologii Doświadczalnej im. M. Nenckiego PAN, ul. Pasteura 3, 02-093 Warszawa; e-mail: a.dobrzyn@nencki.gov.pl**Wykaz skrótów:** **APC** – białko gruczolakowatego polipa okrężnicy (Adenomatous Polyposis Coli), **Dkk** – białko hamujące drogę przekazu sygnału Wnt (Dickkopf-related protein), **Dvl** – białko odpowiedzialne za wiązanie aksyny do kompleksu receptorowego Frizzled/LRP (Dishevelled), **LRP** – białko związane z receptorem LDL (LDL-receptor-related protein), **sFRP** – białko sekrecyjne podobne do Frizzled (secreted Frizzled-related protein), **TCF** – czynnik transkrypcyjny komórek T (T-cell factor), **WIF** – czynnik hamujący Wnt (Wnt inhibitory factor), **Wls** – białko odpowiedzialne za transport i wydzielanie białek Wnt (Wntless).

WSTĘP

Ścieżka sygnałowa Wnt opisana została po raz pierwszy na przełomie lat 70 i 80 ubiegłego wieku przez dwie niezależne grupy badawcze [88,105]. Nazwa szlaku wywodzi się od nazw pierwszych odkrytych białek wchodzących w jego skład, tj. Wg (wingless) oraz Int (MMTV integration site). Późniejsze badania wykazały, że białka te są homologami [88]. Obecnie szlak Wnt dzielony jest na ścieżkę klasyczną (kanoniczną) oraz szereg ścieżek nieklasycznych, działających przeciwstawnie do szlaku klasycznego [61]. Ścieżka klasyczna zależna jest od białka zwanego β -kateniną. Reguluje ona działanie czynnika transkrypcyjnego komórek T (TCF) wpływając na procesy, takie jak embriogeneza, różnicowanie, przeżywalność i proliferacja komórek [77]. Dysfunkcję szlaku Wnt zaobserwowano w różnych typach nowotworów [32], chorobach neurodegeneracyjnych [77] oraz metabolicznych [104]. W odróżnieniu od ścieżki kanonicznej, ścieżki nieklasyczne działają niezależnie od β -kateniny oraz czynnika TCF. Ich rola, jak dotąd, jest słabo poznana, lecz niektóre doniesienia literaturowe wskazują na ich znaczenie w takich procesach jak rearanżacja cytoskieletu oraz migracja neuronów [60,103]. W pracy przedstawiono najnowsze dane dotyczące funkcjonowania oraz mechanizmów regulacji klasycznego szlaku Wnt i jego roli w regulacji metabolizmu komórki.

BIAŁKA WNT – SYNTEZA, SEKRECJA ORAZ TRANSPORT

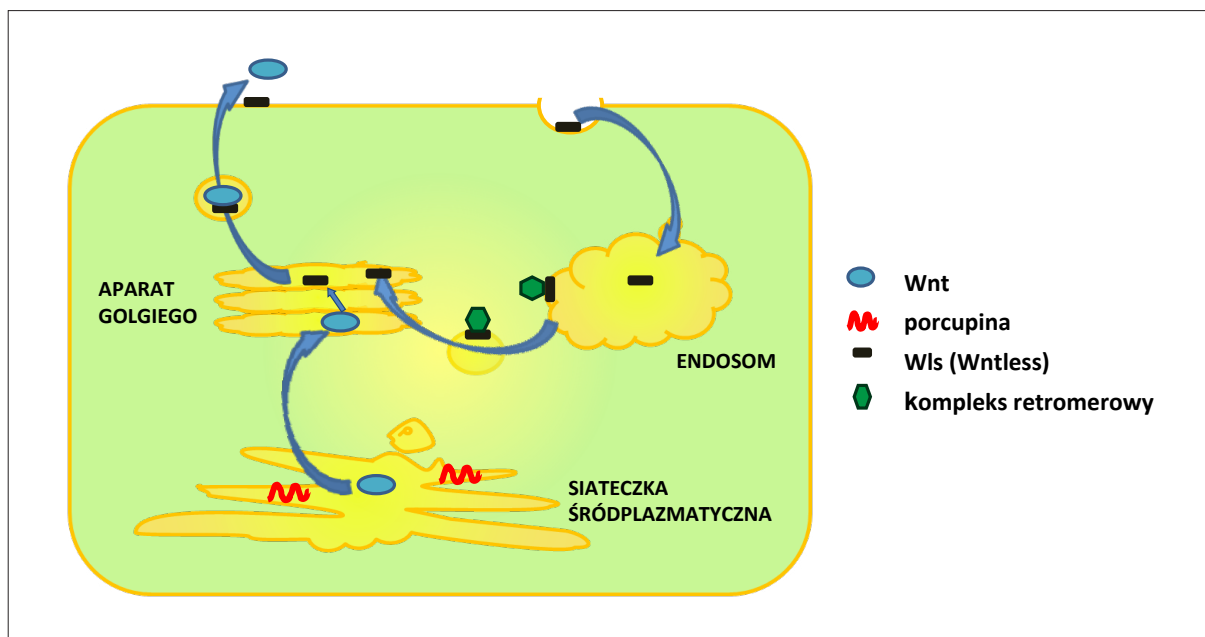
Białka Wnt są glikolipoproteinami odgrywającymi ważną rolę w procesach, takich jak morfogeneza, różnicowanie oraz polaryzacja komórek [77]. Dotychczas poznano 19 białek Wnt, które bardziej łączy homologia sekwencji kodującej, niż właściwości i funkcja. Wszystkie zawierają na N-końcu sekwencję sygnałową poprzedzoną wysoce konserwowaną domeną bogatą w cysteiny. W czasie dojrzewania białka, w obrębie domeny cysteinowej, dochodzi do przyłączenia reszty kwasu palmitynowego. Obecność tej grupy na wysoce zakonserwowanej cysteinie 77 (Cys77)

opisano m.in. w białku Wnt3a [124], Wnt1 [31] i Wnt5a [66] oraz Wg [136]. Odkryto również dodatkową modyfikację na serynie 209 (Ser209), do której przyłączany jest kwas palmitooleinowy [110]. Uważa się, że te modyfikacje odpowiedzialne są za właściwości hydrofobowe białek Wnt i ułatwiają ich przyłączanie do błon komórkowych [124]. Co ważniejsze, grupy acylowe są niezbędne w procesie wydzielania i regulacji aktywności białek Wnt. Analiza mutacyjna wykazała, że palmitoilacja cysteiny 77 (Cys77) jest niezbędna do prawidłowego pełnienia funkcji Wnt, gdyż zamiana cysteiny na alaninę doprowadziła do utraty zdolności białek Wnt3a i Wnt5a do wywołania odpowiedzi w komórkach docelowych [66,124]. Gdy podobną modyfikację zastosowano w pozycji seryny 209 (Ser209), białko Wnt3a zostało zatrzymane w siateczce śródplazmatycznej, tj. nie ulegało sekrecji [110]. Dodatkowo, palmitoilacja białek Wnt jest niezbędna w ich N-glikozylacji. Grupy acylowe prawdopodobnie uczestniczą w przytwierdzeniu białka do błony siateczki śródplazmatycznej w pobliżu kompleksu transferazy oligosacharydowej [54,115,136], enzymu katalizującego proces glikozylacji.

Enzymem uczestniczącym w dodawaniu grup acylowych do białek Wnt jest porcupina zwana również mom-1 [54]. Porcupina należy do rodziny błonowych O-acylotransferaz [45]. Wyciszenie genu kodującego porcupinę prowadzi do obniżenia wydzielania białek Wnt [120] oraz do ich akumulacji w obrębie siateczki śródplazmatycznej [54]. Dodatkowo, przy braku aktywności porcupiny, białka Wnt przestają wykazywać hydrofobowe właściwości [31,136], podczas gdy nadekspresja porcupiny powoduje zwiększenie acylacji białek Wnt [31].

Wydzielanie białek Wnt

Czynniki Wnt są białkami sekrecyjnymi działającymi zarówno auto- jak i parakrynnie. W procesie wydzielania białek Wnt główną rolę odgrywa białko Wntless (Wls) [6,8],



Ryc. 1. Wewnątrzkomórkowy transport i wydzielanie aktywatorów Wnt.

Aktywatory szlaku Wnt z udziałem acylotransferazy zwanej porcupiną ulegają palmitoilacji w siateczce śródplazmatycznej. Białka te następnie transportowane są do aparatu Golgiego, gdzie przyłączają się do białek Wntless (Wls) wspomagających wewnątrzkomórkowy transport i wydzielanie białek Wnt. Białka Wls ulegają recykulacji – z błony komórkowej w wyniku endocytozy zależnej od klatryny i są kierowane do endosomów, a następnie, z udziałem kompleksu retromerowego, transportowane do aparatu Golgiego i ponownie wykorzystywane.

które charakteryzuje się dużą specyficznością substratową i bierze udział w procesie sekrecji wyłącznie białek z rodziny Wnt [6,8,29,57]. Wls umiejscowione jest głównie w aparacie Golgiego, błonie komórkowej oraz endosomach, i najprawdopodobniej ulega recykulacji w tych kompartmentach [95]. Wyciszenie ekspresji genu *Wls* hamuje egzocytozę białek Wnt [6] oraz prowadzi do ich akumulacji w aparacie Golgiego [95]. Dane te sugerują, że Wls uczestniczy w wydzielaniu białek Wnt z aparatu Golgiego w stronę błony komórkowej (ryc. 1). Białko Wls ulega recykulacji w komórce dzięki oddziaływaniu z tzw. kompleksem retromerowym [9,89,95,133]. Wykazano, że mutacja w genie kodującym jeden ze składników tego kompleksu – białko *vps-35* powoduje obniżenie ekspresji genów docelowych Wnt oraz zmniejszenie ilości wydzielanych białek Wnt [24]. Wszystkie te dane sugerują, że kompleks retromerowy uczestniczy we wstecznym transporcie Wls z błony komórkowej do aparatu Golgiego (ryc. 1). Wykazano, że przy braku kompleksu retromerowego, Wls lokalizuje się w endosomach i ulega degradacji w czasie przekształcenia późnych endosomów w lizosomy [133].

Transport białek Wnt

Białka Wnt wykazują działanie endokryne [14,108], dlatego zaproponowano kilka mechanizmów ich transportu do komórek docelowych.

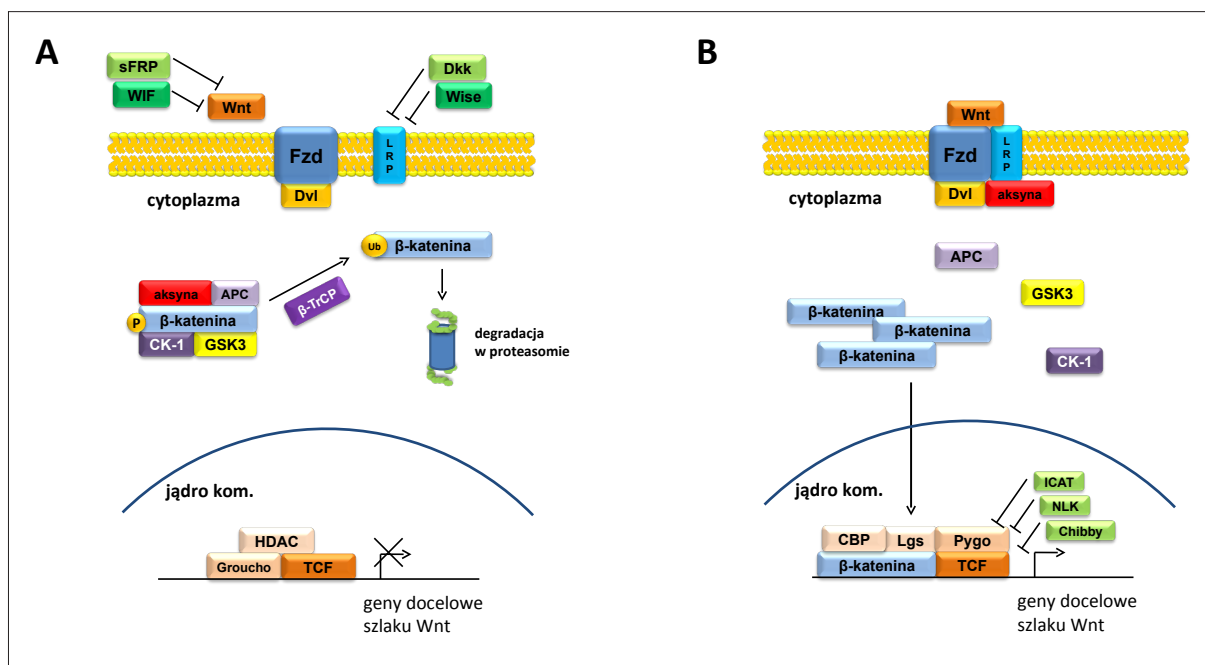
Jednym ze sposobów przemieszczania tych białek może być bezpośredni transport z komórki do komórki. Mechanizm dyfuzji bocznej zakłada udział β -glikanów (re-

ceptorów proteoglikanowych zawierających siarczyn heparanu) w wiązaniu białek Wnt na powierzchni komórki i przemieszczaniu ich wzdłuż błony komórkowej do komórek sąsiadujących [131]. Sugeruje się nawet, że białka sygnałowe Wnt mogą być transportowane z jednej komórki do drugiej z wykorzystaniem długich wypustek cytoplazmatycznych [47].

Innym mechanizmem brany pod uwagę w przypadku transportu białek Wnt jest przemieszczanie ich wewnątrz białkowych kompleksów zawierających w swym wnętrzu grupy hydrofobowe, co umożliwi swobodne przeniesienie białek Wnt w środowisku hydrofilowym. Na potwierdzenie tej tezy opisano już białko o wysokim powinowactwie do Wnt, które umożliwia im rozpuszczanie się w przestrzeni pozakomórkowej [87].

Ze względu na właściwości hydrofobowe białek Wnt, prawdopodobnie mogą być one transportowane również przez cząsteczki lipoproteinowe. Potwierdzeniem tego są badania, w których wykazano, że białko Wg oddziałuje bezpośrednio z apolipoproteiną II, wchodzącą w skład miceli lipoproteinowych [90].

Białka Wnt mogą przemieszczać się również na zasadzie egzosomalnego transportu pęcherzykowego. Zjawisko takie zaobserwowano w przestrzeni synaptycznej motoneuronu [62]. Białka Wnt wydzielane przez zakończenia aksonu komórki nerwowej transportowane były do komórki docelowej wewnątrz pęcherzyków zawierających białko Wntless odpowiedzialne tylko za transport białek Wnt.



Ryc. 2. Ścieżka sygnałowa Wnt. A - szlak nieaktywny: inhibitory szlaku Wnt, takie jak Dkk oraz Wise prowadząc do internalizacji koreceptora LRP uniemożliwiają powstanie aktywnego kompleksu receptorowego (Frizzled/LRP). Podczas braku zewnątrzkomórkowych sygnałów stymulujących powstanie aktywnego kompleksu receptorowego (Frizzled/LRP) lub gdy aktywatory Wnt są wychwytywane przez zewnątrzkomórkowe inhibitory, takie jak sFRP oraz WIF, β-katenina ulega fosforylacji pod wpływem działania kompleksu degradacyjnego (aksyna/GSK3/CK-1/APC), a następnie ubikwitynacji z udziałem ligazy β-TrCP i degradacji w proteosomie. Interakcja czynnika TCF z białkiem Groucho oraz deacetylazą histonów HDAC powoduje represję genów docelowych szlaku Wnt. B - szlak aktywny: przyłączenie białek Wnt do receptora Frizzled prowadzi do powstania aktywnego kompleksu receptorowego (Frizzled/LRP), który przyłączając aksynę powoduje rozpad kompleksu degradującego β-kateninę (aksyna/GSK3/CK-1/APC). W konsekwencji dochodzi do akumulacji aktywnej formy β-kateniny oraz jej translokacji do jądra komórkowego. Przyłączenie β-kateniny do czynnika transkrypcyjnego TCF aktywuje transkrypcję genów docelowych szlaku Wnt. Białka Legless (Lgs) i Pygopus (Pygo) wspierają wiązanie kompleksu β-katenina/TCF do chromatyny. Wewnątrzkomórkowe inhibitory szlaku Wnt, takie jak ICAT, Chibby oraz NLK mogą hamować aktywny kompleks β-katenina/TCF.

Nie wszystkie wydzielone białka Wnt docierają do komórek docelowych i aktywują ścieżkę Wnt, ponieważ w przestrzeni zewnątrzkomórkowej mogą one zostać zneutralizowane przez swoiste endogenne inhibitory ścieżki Wnt, tj. białka sFRP (secreted Frizzled-related protein) i czynnik hamujący WIF (Wnt inhibitory factor). Białka sFRP należą do rodziny białek wydzielniczych zawierających domenę wiążącą ligandy tożsamą z głównymi receptorami ścieżki Wnt – Frizzled [43], charakteryzującą się dużym powinowactwem do białek Wnt. Czynnik WIF wiąże się z białkami Wnt najprawdopodobniej rozpoznając ich reszty palmitoilowe [72]. WIF i sFRP uważane są za zewnątrzkomórkowe inhibitory szlaku Wnt działające na zasadzie blokowania dostępności białek Wnt [46].

RECEPTORY WNT

Białka Wnt po dotarciu do komórki docelowej łączą się ze specyficznymi receptorami błonowymi aktywując wewnątrzkomórkowe szlaki sygnałowe. Pierwszym opisanym receptorem szlaku Wnt jest receptor Frizzled uczestniczący w przekazywaniu sygnału według klasycznej ścieżki Wnt [10]. Obecnie opisano już 19 typów receptorów Frizzled. Każdy z nich to błonowe białko, które ma

na N-końcu dużą zewnątrzkomórkową domenę zawierającą zakonserwowany motyw dziesięciu reszt cysteinyowych tzw. CRD (Cysteine-Rich Domain). Domena ta ma duże powinowactwo do białek Wnt [127].

Aktywacja ścieżki sygnałowej szlaku Wnt wymaga, poza połączeniem białek Wnt z receptorem Frizzled, przyłączenia trzeciego białka tego kompleksu – koreceptora z rodziny LRP (low density lipoprotein receptor related protein) [93,113]. Wykazano, że białka Wnt wiążą się bezpośrednio zarówno z receptorem Frizzled jak i koreceptorem LRP tworząc trimeryczny kompleks zdolny do przekazywania sygnału wzdłuż klasycznej ścieżki Wnt [71]. LRP ma niewielką domenę wewnątrzkomórkową oraz dużą domenę zewnątrzkomórkową zawierającą wiele motywów wiązania białek [40]. Co ciekawe, koreceptor pozbawiony domeny zewnątrzkomórkowej powoduje ciągłą aktywację ścieżki Wnt [73], a LRP z brakującą domeną wewnątrzkomórkową działa hamująco na szlak Wnt [113]. Znane inhibitory ścieżki sygnałowej Wnt, takie jak Wise [50] oraz Dkk [33] mają zdolność wiązania do koreceptora LRP i białkiem Kremen promując tym samym internalizację koreceptora LRP uniemożliwiając powstanie aktywnego kompleksu receptorowego [81].

Domene CRD, charakteryzującą się wysokim powinowactwem do białek Wnt, zawierają również dwie inne klasy receptorów – Smo (Smoothened) oraz Ror. Mimo że receptory Smo są homologiczne do Frizzled, to nie są one zdolne do przyłączenia ligandów Wnt i przekazania sygnału wzdłuż ścieżki Wnt [96]. Natomiast receptory z rodziny Ror, strukturalnie odmienne od receptorów Frizzled, zaangażowane są w nieklasyczne ścieżki sygnałowe Wnt [83, 129]. Wykazano, że białko Wnt5a może aktywować lub hamować klasyczną ścieżkę sygnałową Wnt w zależności od tego czy przyłączy się ono do receptora Ror czy do kompleksu Frizzled/LRP [83].

Receptory Ryk (receptor tyrosine kinase) zawierają zewnątrzkomórkową domene WIF homologiczną do białek WIF będących inhibitorami szlaku Wnt [53]. Funkcja receptorów Ryk jest bardzo słabo poznana, ale prawdopodobnie uczestniczą one zarówno w przekazywaniu sygnału klasycznej [80] jak i alternatywnej [134] ścieżki sygnałowej Wnt.

KASKADA SYGNAŁOWA SZLAKU WNT

Aktywacja kompleksu receptorowego Frizzled/LRP prowadzi do zmian w cytoplazmie oraz jądrze komórkowym powodując ostatecznie wzrost ekspresji genów docelowych ścieżki Wnt. W C-końcowej cytoplazmatycznej części receptora Frizzled znajduje się 6-aminokwasowy motyw odpowiedzialny za bezpośrednie oddziaływanie z białkiem Dvl (Dishevelled) [20,119]. Również cytoplazmatyczna część koreceptora LRP jest zdolna do wiązania innego białka zaangażowanego w szlak Wnt – aksyny [82]. W chwili aktywacji kompleksu receptora i koreceptora dochodzi do heterodimeryzacji białek Dvl i aksyny po stronie cytoplazmatycznej [51]. Interakcja ta doprowadza do rekonfiguracji kompleksu odpowiedzialnego za regulację najważniejszego składnika szlaku, tj. β -kateniny i tym samym do przekazania sygnału.

Podczas braku zewnętrznego sygnału pobudzającego szlak Wnt, ilość β -kateniny utrzymywana jest na bardzo niskim poziomie dzięki aktywności tzw. kompleksu degradacyjnego (rys. 2A). W skład tego kompleksu wchodzi dwa białka strukturalne aksyna oraz APC (adenomatous polyposis coli) [38,59] oraz dwie kinazy serynowo-treoninowe – CK1 α [2] i GSK3 [135]. Kinazy te fosforylują β -kateninę, co pozwala na rozpoznanie jej przez ligazę β -TrCP (β -transducing repeat-containing protein), ubiquitynację i ostatecznie degradację w proteasomie [1,69]. Zmutowane formy β -kateniny, które nie mają miejsca fosforylacji, odpowiedzialnego za skierowanie tego białka do degradacji, wywołują ciągłą aktywację genów docelowych szlaku Wnt [85,135]. Tego typu mutacje prowadzące do stabilizacji β -kateniny wykazano w wielu typach nowotworów [32].

Przyłączenie aktywatora Wnt do receptora Frizzled powoduje związanie aksyny przez koreceptor LRP, heterodimeryzację z białkiem Dvl i tym samym rozpad kompleksu degradacyjnego (rys. 2 B) [23]. Zdarzenia te prowadzą do

akumulacji aktywnej formy β -kateniny w cytoplazmie. Również fosfatazy, takie jak PP2A mogą regulować ilość aktywnej β -kateniny poprzez defosforylację substratów kinazy GSK3 [132].

Jednym z głównych czynników transkrypcyjnych związanych ze ścieżką Wnt jest białko TCF. Podczas braku sygnałów aktywujących ścieżkę Wnt, TCF pełni rolę represora genów docelowych szlaku Wnt [13]. Hamujące działanie czynnika TCF wspomagane jest przez związanie białka Groucho [17] oraz deacetylazy histonów HDAC (histone deacetylase), której działanie sprzyja kondensacji chromatyny i zmniejsza aktywność transkrypcyjną w danym obszarze [19]. Aktywacja szlaku Wnt prowadzi do zwiększonego transportu β -kateniny do jądra komórkowego [28]. β -katenina wiążąc się z TCF, zmienia konformację tego białka, co prowadzi do odłączenia białka Groucho oraz deacetylazy histonów. Jednocześnie kompleks β -katenina/TCF inicjuje rekrutację acetylazy histonów CBP/p300 (CREB-Binding Protein), która wzmacnia aktywność transkrypcyjną w danym obszarze chromatyny [41,112].

Aktywność transkrypcyjna kompleksu β -katenina/TCF w jądrze jest regulowana przez wiele czynników, m.in. przez białka Legless oraz Pygopus wspierające wiązanie kompleksu do chromatyny (rys. 2 B) [64,91]. Mutacje w genach kodujących te białka prowadzą do fenotypu podobnego, jak w przypadku zahamowania szlaku Wnt [118]. Z drugiej strony, białka takie jak Chibby [111] oraz ICAT (inhibitor of beta-catenin and TCF-4) [109] powodują hamowanie aktywności β -kateniny, co prowadzi do rozpadu kompleksu β -katenina/TCF [25]. TCF może też być regulowany poprzez fosforylację przez kinazę NLK (nemo-like kinase) [49]. Uważa się, że fosforylacja TCF przez kinazę NLK powoduje utratę zdolności wiązania się tego białka do DNA i tym samym zaburza regulację genów docelowych Wnt [48].

Geny docelowe szlaku Wnt

Dotąd zidentyfikowano ponad 100 genów docelowych szlaku Wnt. Dokładną ich listę można znaleźć m.in. pod adresem: http://www.stanford.edu/group/nusselab/cgi-bin/wnt/target_genes. Wiele spośród nich to znane regulatory cyklu komórkowego, takie jak *cyklinaD1* i *c-myc* [39,117]. Inne odpowiadają m.in. za koordynację rozwoju embrionalnego [15], ale również za nowotworzenie, jak w przypadku *VEGF* [137] czy *FGF* [42,106]. Co ciekawe, wiele genów docelowych szlaku Wnt, to elementy ścieżki sygnałowej tego szlaku. Przykładowo w rejonie promotorowym genu kodującego aksynę 2, inhibitora szlaku Wnt wchodzącego w skład kompleksu degradacyjnego β -kateninę, znajduje się kilka miejsc wiązania czynnika TCF [52,70]. Pod wpływem aktywacji szlaku Wnt aksyna2 ulega wzmożonej ekspresji, jest to więc element regulacji ścieżki Wnt na zasadzie ujemnego sprzężenia zwrotnego [52]. Ekspresja genów kodujących receptory Frizzled [14,84,98,123] i koreceptor LRP [122] jest również negatywnie regulowana przez Wnt. Dzięki temu ob-

niżenie ekspresji genów kodujących receptory Frizzled, a co za tym idzie zmniejszanie liczby tych receptorów na powierzchni komórek wytwarzających aktywatory Wnt, daje możliwość ograniczenia autokrynnego działania oraz zwiększenia uwalniania tych cząstek sygnałowych do krwiobiegu [14].

ZNACZENIE SZLAKU WNT W METABOLIZMIE KOMÓRKI

Ścieżka sygnałowa Wnt pełni istotną funkcję w regulacji aktywności czynników transkrypcyjnych i głównych genów zaangażowanych w metabolizm komórki. Wykazano, że nadekspresja β -kateniny w wątrobie wywołuje wzrost ekspresji genów zaangażowanych w glukoneogenezę oraz metabolizm glutaminy, tj. syntetazy glutaminowej, aminotransferazy ornitynowej czy transportera glutaminianu GLT-1 [16,114]. Ponadto Schwartz i wsp. [102] wykazali, że wiele genów związanych z metabolizmem węglowodanów (m.in. *GAD1*, *UGCG*, *ALDH1*, *LGALS3*, *GPX2*, *ALDH10*, *QPCT*, *c-myc*) jest regulowanych bezpośrednio przez TCF [102,125]. Następnie, analizy proteomiczne wątroby myszy ze znokautowanym genem kodującym białko APC (składnik kompleksu degradacyjnego β -kateniny) wykazały zmiany w aktywności enzymów zaangażowanych w metabolizm glukozy oraz funkcjonowanie mitochondriów. Podwyższoną aktywność enzymatyczną wykazała m.in. dehydrogenaza mleczanowa, co przy jednoczesnym obniżeniu aktywności mitochondrialnych ATP-az wskazuje, że w wątrobie szlak Wnt zaangażowany jest w kierowanie metabolizmu glukozy na drogę glikolizy [12,16]. Ścieżka biosyntezy heksoaminy (HBP - hexoamine biosynthesis pathway) jest znanym szlakiem sygnałowym odpowiedzialnym za kierowanie metabolizmu glukozy na drogę glikozylacji białek. Anagnostou i Shepherd [3] wykazali, że wzrost dostępności glukozy wpływa na autokrynną aktywację ścieżki Wnt i proces ten jest zależny od szlaku HBP. Również ilość glikogenu w komórkach wpływa na aktywność szlaku Wnt. Badania przeprowadzone na myszach ze zmienioną genetycznie zawartością glikogenu w mięśniach (szczep MGSKO z wyciszonym genem syntazy glikogenu oraz szczep GSL30 z hiperakumulacją glikogenu) wykazały wiele zmian w ekspresji genów zaangażowanych w ścieżkę Wnt [92]. Dodatkowo aktywność, inhibitor szlaku Wnt, wpływa na metabolizm glikogenu w czasie rozwoju embrionalnego. Wyciszenie ekspresji aktywności na wczesnym etapie rozwoju larwy muszki owocowej doprowadziło do akumulacji glikogenu [130]. Należy dodać, że ścieżka Wnt ma wpływ na poziom ekspresji genów kodujących kluczowe enzymy glikolityczne, takich jak aldolaza, fosfofruktokinaza czy heksokinaza [104].

Aktywacja szlaku Wnt silnie hamuje adipogenezę [21,67]. Wykazano to na przykładzie myszy oraz szczurów z wprowadzoną transgenicznie nadekspresją Wnt10b. Zwierzęta te były odporne na otyłość wywołaną dietą bogatą w tłuszcz lub też spowodowaną czynnikami genetycznymi, co wyrażało się obniżoną zawartością tkanki tłuszczowej oraz większą wrażliwością na insulinę w porównaniu z osobnikami typu dzikiego [5,78,126]. Opisano wiele interakcji β -kateniny z czynnikami związanymi z metabolizmem lipidów, takimi jak: PPAR [74], RXR (retinoid X receptor) [128] czy RAR (reti-

noic acid receptor) [27]. Szczególnie interesujący jest wpływ szlaku Wnt na receptor jądrowy PPAR δ , którego gen ulega wzmożonej ekspresji w aktywnych metabolicznie tkankach, takich jak wątroba, serce, mięśnie czy tkanka tłuszczowa [36]. Wyniki dotychczasowych badań wskazują, że PPAR δ jest regulowany przez TCF, a nadekspresja genu kodującego PPAR δ wzmacnia wiązanie β -kateniny do czynnika TCF tworząc tym samym pozytywne sprzężenie zwrotne [36]. Poza tym, szlak Wnt wpływa na hamowanie lipogenezy i adipogenezy poprzez regulację aktywności czynnika PPAR γ [74]. Ponadto Fujino i wsp. wykazali, że koreceptor LRP5 jest niezbędny do zachowania homeostazy cholesterolu [30]. U myszy ze znokautowanym genem *Lrp5* zaobserwowano istotnie wyższe stężenie cholesterolu we krwi ze względu na zmniejszony proces wychwytu chylomikronów resztkowych w wątrobie [30].

Warto też podkreślić, że szlak Wnt jest zaangażowany w embrionalny rozwój trzustki [26] oraz w regulację proliferacji [97] i przeżywalności [76,107] komórek beta, a także w wydzielanie insuliny [100]. Nokaut genu kodującego koreceptor LRP5 zaburza wydzielanie insuliny oraz prowadzi do nietolerancji glukozy u myszy [30]. Jednak stymulacja szlaku Wnt powoduje wzrost sekrecji tego hormonu [100]. Jak wspomniano wyżej, ścieżka Wnt zaangażowana jest również w regulację przeżywalności komórek beta-trzustki. Wyciszenie ekspresji *TCF7L2* w ludzkich wyspach trzustkowych spowodowało wzrost tempa apoptozy oraz obniżenie poziomu ufosforylowanej postaci kinazy Akt – ważnego czynnika przycięwczego komórek beta [107]. Dodatkowo, nadekspresja *TCF7L2* w mysich oraz ludzkich wyspach trzustkowych wywołała obniżenie aktywności kaspazy 3 oraz poziomu apoptozy spowodowanej dużym stężeniem glukozy lub cytokin [107]. Aktywacja ścieżki Wnt w izolowanych mysich wyspach trzustkowych prowadzi do wzrostu tempa proliferacji poprzez zwiększenie ekspresji genów *cykliny D1*, *D2* oraz *CDK4* [97,100]. Z kolei, nadekspresja niefunkcjonalnej formy białka TCF w komórkach INS-1E spowodowała obniżenie potencjału mitotycznego [107]. Również nadekspresja aktywności, silnego inhibitora szlaku Wnt, powoduje spadek ekspresji genów *cykliny D2* i *pitx2* oraz prowadzi do zaburzenia proliferacji komórek beta podczas rozwoju trzustki [97].

SZLAK WNT: IMPLIKACJE KLINICZNE I TERAPEUTYCZNE

Zmiany w aktywności szlaku Wnt i związane z tym zaburzenia w ekspresji genów regulowanych przez tę ścieżkę sygnałową prowadzą do powstawania wielu patologii, np. nowotworów, chorób degeneracyjnych, osteoporozy, miażdżycy oraz wad rozwojowych (malformacji) [53]. Wykazano, że mutacje w genie kodującym koreceptor LRP5 prowadzą do obniżenia masy kości obserwowaną w osteoporozie [35]. Natomiast jeden z polimorfizmów pojedynczego nukleotydu w genie kodującym receptor Frizzled3 jest powiązany z wyższym współczynnikiem zachorowalności na osteoartretyzm wśród kobiet [79]. Wiele polimorfizmów genu Frizzled3 jest również skorelowanych ze zwiększonym prawdopodobieństwem zapadalności na schizofrenię [55]. Dodatkowo, u pacjentów cierpiących na schizofrenię stwierdzono także zmniejszoną aktywność kinazy GSK3

[63]. Ważną rolę szlaku Wnt w patogenezie chorób neurodegeneracyjnych potwierdza też to, że chlorek litu, który jest inhibitorem kinazy GSK3, a tym samym aktywatorem szlaku Wnt, stosowany jest od wielu lat w terapii choroby Alzheimera, schizofrenii oraz schorzeń dwubiegunowych [116].

Dotychczas najlepiej poznana jest rola białek Wnt w powstawaniu i rozwoju chorób nowotworowych [4,94]. Stwierdzono m.in., że mutacja w genie APC (Adenomatous Polyposis Coli) występuje w ponad 80% przypadków sporadycznych nowotworów jelita grubego, jak również w dziedzicznej postaci rodzinnej polipowatości gruczolaka (familial adenomatous polyposis), od którego wywodzi się nazwa APC [58]. Większość z tych mutacji uniemożliwia wiązanie APC z aksyną oraz β -kateniną [7,22]. W wielu przypadkach rodzinnej polipowatości gruczolaka oraz innych nowotworów (m.in. jelita, jajnika, endometrium, trzustki, prostaty, żołądka czy też głowy i szyi) wykazano również mutacje w genie kodującym β -kateninę [7,22,53]. Najczęściej dotyczą one miejsc fosforylacji β -kateniny przez CK1 α i GSK3 β . W wyniku tego typu mutacji β -katenina jest chroniona przed degradacją w proteasomach, co prowadzi do jej akumulacji w komórkach. To z kolei aktywuje transkrypcję genów odpowiedzialnych za proliferację oraz hamuje ekspresję genów proapoptotycznych w komórkach nowotworowych przyczyniając się do progresji choroby [56].

W związku z rosnącą liczbą doniesień wskazujących na istotne znaczenie poszczególnych elementów szlaku Wnt w patogenezie nowotworów wzrasta zainteresowanie możliwością ukierunkowania nowych terapii bezpośrednio na ten szlak. Wykazano, że zawartość zewnątrzkomórkowych inhibitorów szlaku Wnt, takich jak sFRP, WIF czy Dkk jest obniżona w wielu nowotworach [121], a nadekspresja Dkk3 w badaniach *in vitro* przeprowadzonych na komórkach mięsaka doprowadziła do znaczącego zmniejszenia inwazyjności tych komórek [44]. Z kolei wprowadzenie aksyny 1, silnego inhibitora szlaku Wnt, do komórek nowotworowych jelita grubego oraz wątroby spowodowała wzrost ich śmiertelności w wyniku apoptozy [99].

Obecnie nie istnieją jednak terapie farmakologiczne bezpośrednio skierowane na regulację aktywności ścieżki Wnt. Ponieważ szlak Wnt jest regulowany przez inne ścieżki sygnałowe, kilka aktualnie stosowanych leków pośrednio działa na ten szlak [68]. Należą do nich m.in.:

(1) imatinib (Gleevec[®]) - inhibitor kinaz tyrozynowych, hamujący także szlak Wnt [138], (2) niesteroidowe leki przeciwzapalne (np. aspiryna), które obniżają ryzyko rozwoju raka piersi i jelita grubego poprzez hamowanie transkrypcji zależnej od β -kateniny i Tcf [86], (3) exisulind (Aptosyn[®]) - należący do selektywnych leków antyneoplastycznych, indukujący ekspresję kinazy białkowej G (PKG), która powoduje fosforylację β -kateniny na C-końcu, co prowadzi do jej degradacji bez udziału APC i GSK3 β [34], (4) witamina A (retinoidy), która hamuje onkogenne działanie AP-1 oraz kompleksu β -kateniny i Tcf poprzez działanie na receptor retinoidowego X (RXR), który indukuje degradację tego kompleksu [128], (5) endostatyna oraz inne leki antyangiogeniczne wykazujące działanie hamujące na szlak Wnt, poprzez aktywację degradacji β -kateniny w proteasomach [37]. Poznanie znaczenia szlaku Wnt w różnych stanach patofizjologicznych otworzyło nowe możliwości terapeutyczne, jednak wykorzystanie bezpośrednich inhibitorów szlaku Wnt, jako skutecznych narzędzi w walce z nowotworami wymaga dalszych badań.

Badania ostatnich lat wykazały, że kaskada sygnałowa ścieżki Wnt jest zaangażowana w regulację morfogenezy, różnicowania oraz metabolizmu komórki. Szlak sygnałowy o tak dużym znaczeniu dla komórki jest ściśle regulowany na wielu poziomach, począwszy od biosyntezy, sekrecji i transportu białek Wnt, skończywszy na regulacji przekazywania sygnału na poziomie cytoplazmatycznym i jądrowym komórki docelowej. Nowe doniesienia na temat szlaku Wnt sugerują, że ścieżka ta jest łącznikiem pomiędzy zmianami w metabolizmie komórki, a procesami, takimi jak proliferacja, różnicowanie czy apoptoza, które uzależnione są od statusu metabolicznego komórki oraz dostępności składników odżywczych. Szlak Wnt zaangażowany jest w adaptację do zmian w podaży substancji odżywczych, takich jak glukoza, glikogen czy lipidy oraz reguluje metabolizm energetyczny komórki. Zmiany w aktywności szlaku Wnt mogą prowadzić do zaburzeń homeostazy obserwowanych w przypadku otyłości, cukrzycy, chorób sercowo-naczyniowych czy nowotworzenia [11,75,101]. Poznanie szczegółowych mechanizmów odpowiedzialnych za regulację oraz funkcję szlaku Wnt otwiera nowe możliwości tworzenia terapii skierowanych na modulację aktywności białek zaangażowanych w ścieżkę sygnałową Wnt w celu leczenia powyższych schorzeń.

PIŚMIENICTWO

[1] Aberle H., Bauer A., Stappert J., Kispert A., Kemler R.: β -catenin is a target for the ubiquitin-proteasome pathway. *EMBO J.*, 1997; 16: 3797-3804

[2] Amit S., Hatzubai A., Birman Y., Andersen J.S., Ben-Shushan E., Mann M., Ben-Neriah Y., Alkalay L.: Axin-mediated CKI phosphorylation of β -catenin at Ser 45: a molecular switch for the Wnt pathway. *Genes Dev.*, 2002; 16: 1066-1076

[3] Anagnostou S.H., Shepherd P.R.: Glucose induces an autocrine activation of the Wnt/ β -catenin pathway in macrophage cell lines. *Biochem. J.*, 2008; 416: 211-218

[4] Anastas J.N., Moon R.T.: WNT signalling pathways as therapeutic targets in cancer. *Nat. Rev. Cancer*, 2013; 13: 11-26

[5] Aslanidi G., Kroutov V., Philipsberg G., Lamb K., Campbell-Thompson M., Walter G.A., Kurenov S., Ignacio Aguirre J., Keller P., Hankenson K., Macdougald O.A., Zolotukhin S.: Ectopic expression of Wnt10b decreases adiposity and improves glucose homeostasis in obese rats. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, 2007; 293: E726-E736

[6] Bänziger C., Soldini D., Schütt C., Zipperlen P., Hausmann G., Basler K.: Wntless, a conserved membrane protein dedicated to the secretion of Wnt proteins from signaling cells. *Cell*, 2006; 125: 509-522

- [7] Barker N., Clevers H.: Mining the Wnt pathway for cancer therapeutics. *Nat. Rev. Drug Discov.*, 2006; 5: 997-1014
- [8] Bartscherer K., Pelte N., Ingelfinger D., Boutros M.: Secretion of Wnt ligands requires Evi, a conserved transmembrane protein. *Cell*, 2006; 125: 523-533
- [9] Belenkaya T.Y., Wu Y., Tang X., Zhou B., Cheng L., Sharma Y.V., Yan D., Selva E.M., Lin X.: The retromer complex influences Wnt secretion by recycling wntless from endosomes to the trans-Golgi network. *Dev. Cell*, 2008; 14: 120-131
- [10] Bhanot P., Brink M., Samos C.H., Hsieh J.C., Wang Y., Macke J.P., Andrew D., Nathans J., Nusse R.: A new member of the frizzled family from *Drosophila* functions as a Wingless receptor. *Nature*, 1996; 382: 225-230
- [11] Boj S.F., van Es J.H., Huch M., Li V.S., José A., Hatzis P., Mokry M., Haegebarth A., van den Born M., Chambon P., Voshol P., Dor Y., Cuppen E., Fillat C., Clevers H.: Diabetes risk gene and Wnt effector Tcf7l2/TCF4 controls hepatic response to perinatal and adult metabolic demand. *Cell*, 2012; 151: 1595-1607
- [12] Braeuning A.: Regulation of cytochrome P450 expression by Ras- and beta-catenin-dependent signaling. *Curr. Drug Metab.*, 2009; 10: 138-158
- [13] Brannon M., Gomperts M., Sumoy L., Moon R.T., Kimelman D.: A β -catenin/XTCF-3 complex binds to the siamois promoter to regulate dorsal axis specification in *Xenopus*. *Genes Dev.*, 1997; 11: 2359-2370
- [14] Cadigan K.M., Fish M.P., Rulifson E.J., Nusse R.: Wingless repression of *Drosophila* frizzled 2 expression shapes the Wingless morphogen gradient in the wing. *Cell*, 1998; 93: 767-777
- [15] Cadigan K.M., Nusse R.: Wnt signaling: a common theme in animal development. *Genes Dev.*, 1997; 11: 3286-3305
- [16] Cadoret A., Ovejero C., Terris B., Souil E., Lévy L., Lamers W.H., Kitajewski J., Kahn A., Perret C.: New targets of beta-catenin signaling in the liver are involved in the glutamine metabolism. *Oncogene*, 2002; 21: 8293-8301
- [17] Cavallo R.A., Cox R.T., Moline M.M., Roose J., Polevoy G.A., Clevers H., Peifer M., Bejsovec A.: *Drosophila* Tcf and Groucho interact to repress Wingless signalling activity. *Nature*, 1998; 395: 604-608
- [18] Chafey P., Finzi L., Boisgard R., Cauzac M., Clary G., Broussard C., Pegorier J.P., Guillonneau F., Mayeux P., Camoin L., Tavitian B., Colnot S., Perret C.: Proteomic analysis of β -catenin activation in mouse liver by DIGE analysis identifies glucose metabolism as a new target of the Wnt pathway. *Proteomics*, 2009; 9: 3889-3900
- [19] Chen C.M., Struhl G.: Wingless transduction by the Frizzled and Frizzled2 proteins of *Drosophila*. *Development*, 1999; 126: 5441-5452
- [20] Chen W., ten Berge D., Brown J., Ahn S., Hu L.A., Miller W.E., Caron M.G., Barak L.S., Nusse R., Lefkowitz R.J.: Dishevelled 2 recruits β -arrestin 2 to mediate Wnt5A-stimulated endocytosis of Frizzled 4. *Science*, 2003; 301: 1391-1394
- [21] Christodoulides C., Lagathu C., Sethi J.K., Vidal-Puig A.: Adipogenesis and WNT signalling. *Trends Endocrinol. Metab.*, 2009; 20: 16-24
- [22] Clevers H.: Wnt/ β -catenin signaling in development and disease. *Cell*, 2006; 127: 469-80
- [23] Cliffe A., Hamada F., Bienz M.: A role of Dishevelled in relocating Axin to the plasma membrane during wingless signaling. *Curr. Biol.*, 2003; 13: 960-966
- [24] Coudreuse D.Y., Roël G., Betist M.C., Destrée O., Korswagen H.C.: Wnt gradient formation requires retromer function in Wnt-producing cells. *Science*, 2006; 312: 921-924
- [25] Daniels D.L., Weis W.I.: ICAT inhibits β -catenin binding to Tcf/Lef-family transcription factors and the general coactivator p300 using independent structural modules. *Mol. Cell*, 2002; 10: 573-584
- [26] Dessimoz J., Bonnard C., Huelsken J., Grapin-Botton A.: Pancreas-specific deletion of β -catenin reveals Wnt-dependent and Wnt-independent functions during development. *Curr. Biol.*, 2005; 15: 1677-1683
- [27] Easwaran V., Pishvaian M., Salimuddin, Byers S.: Cross-regulation of β -catenin-LEF/TCF and retinoid signaling pathways. *Curr. Biol.*, 1999; 9: 1415-1418
- [28] Fagotto F., Glück U., Gumbiner B.M.: Nuclear localization signal-independent and importin/karyopherin-independent nuclear import of β -catenin. *Curr. Biol.*, 1998; 8: 181-190
- [29] Fu J., Jiang M., Mirando A.J., Yu H.M., Hsu W.: Reciprocal regulation of Wnt and Gpr177/mouse Wntless is required for embryonic axis formation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2009; 106: 18598-18603
- [30] Fujino T., Asaba H., Kang M.J., Ikeda Y., Sone H., Takada S., Kim D.H., Ioka R.X., Ono M., Tomoyori H., Okubo M., Murase T., Kamataki A., Yamamoto J., Magoori K. i wsp.: Low-density lipoprotein receptor-related protein 5 (LRP5) is essential for normal cholesterol metabolism and glucose-induced insulin secretion. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2003; 100: 229-234
- [31] Galli L.M., Barnes T.L., Secret S.S., Kadowaki T., Burrus L.W.: Porcupine-mediated lipid-modification regulates the activity and distribution of Wnt proteins in the chick neural tube. *Development*, 2007; 134: 3339-3348
- [32] Giles R.H., van Es J.H., Clevers H.: Caught up in a Wnt storm: Wnt signaling in cancer. *Biochim. Biophys. Acta*, 2003; 1653: 1-24
- [33] Glinka A., Wu W., Delius H., Monaghan A.P., Blumenstock C., Niehrs C.: Dickkopf-1 is a member of a new family of secreted proteins and functions in head induction. *Nature*, 1998; 391: 357-362
- [34] Goluboff E.T.: Exisulind, a selective apoptotic antineoplastic drug. *Expert Opin. Investig. Drugs*, 2001; 10: 1875-1882
- [35] Gong Y., Slee R.B., Fukai N., Rawadi G., Roman-Roman S., Reginato A.M., Wang H., Cundy T., Glorieux F.H., Lev D., Zacharin M., Oexle K., Marcelino J., Suwairi W., Heeger S. i wsp.: LDL receptor-related protein 5 (LRP5) affects bone accrual and eye development. *Cell*, 2001; 107: 513-523
- [36] Han C., Lim K., Xu L., Li G., Wu T., Regulation of Wnt/ β -catenin pathway by cPLA2 α and PPAR δ . *J. Cell. Biochem.*, 2008; 105: 534-545
- [37] Hanai J., Gloy J., Karumanchi S.A., Kale S., Tang J., Hu G., Chan B., Ramchandran R., Jha V., Sukhatme V.P., Sokol S.: Endostatin is a potential inhibitor of Wnt signaling. *J. Cell Biol.*, 2002; 158: 529-539
- [38] Hart M.J., de los Santos R., Albert I.N., Rubinfeld B., Polakis P.: Downregulation of β -catenin by human Axin and its association with the APC tumor suppressor, β -catenin and GSK3 β . *Curr. Biol.*, 1998; 8: 573-581
- [39] He T.C., Sparks A.B., Rago C., Hermeking H., Zawel L., da Costa L.T., Morin P.J., Vogelstein B., Kinzler K.W.: Identification of c-MYC as a target of the APC pathway. *Science*, 1998; 281: 1509-1512
- [40] He X., Semenov M., Tamai K., Zeng X.: LDL receptor-related proteins 5 and 6 in Wnt/ β -catenin signaling: arrows point the way. *Development*, 2004; 131: 1663-1677
- [41] Hecht A., Vlemminckx K., Stemmler M.P., van Roy F., Kemler R.: The p300/CBP acetyltransferases function as transcriptional coactivators of β -catenin in vertebrates. *EMBO J.*, 2000; 19: 1839-1850
- [42] Hendrix N.D., Wu R., Kuick R., Schwartz D.R., Fearon E.R., Cho K.R.: Fibroblast growth factor 9 has oncogenic activity and is a downstream target of Wnt signaling in ovarian endometrioid adenocarcinomas. *Cancer Res.*, 2006; 66: 1354-1362
- [43] Hoang B., Moos M.Jr., Vukicevic S., Luyten F.P.: Primary structure and tissue distribution of FRZB, a novel protein related to *Drosophila* frizzled, suggest a role in skeletal morphogenesis. *J. Biol. Chem.*, 1996; 271: 26131-26137
- [44] Hoang B.H., Kubo T., Healey J.H., Yang R., Nathan S.S., Kolb E.A.,

- Mazza B., Meyers P.A., Gorlick R.: Dickkopf 3 inhibits invasion and motility of Saos-2 osteosarcoma cells by modulating the Wnt- β -catenin pathway. *Cancer Res.*, 2004; 64: 2734-2739
- [45] Hofmann K.: A superfamily of membrane-bound O-acyltransferases with implications for wnt signaling. *Trends Biochem. Sci.*, 2000; 25: 111-112
- [46] Hsieh J.C., Kodjabachian L., Rebbert M.L., Rattner A., Smallwood P.M., Samos C.H., Nusse R., Dawid I.B., Nathans J.: A new secreted protein that binds to Wnt proteins and inhibits their activities. *Nature*, 1999; 398: 431-436
- [47] Hsiung F., Ramirez-Weber F.A., Iwaki D.D., Kornberg T.B.: Dependence of *Drosophila* wing imaginal disc cytonemes on Decapentaplegic. *Nature*, 2005; 437: 560-563
- [48] Ishitani T., Ninomiya-Tsuji J., Matsumoto K.: Regulation of lymphoid enhancer factor 1/T-cell factor by mitogen-activated protein kinase-related Nemo-like kinase-dependent phosphorylation in Wnt/ β -catenin signaling. *Mol. Cell. Biol.*, 2003; 23: 1379-1389
- [49] Ishitani T., Ninomiya-Tsuji J., Nagai S., Nishita M., Meneghini M., Barker N., Waterman M., Bowerman B., Clevers H., Shibuya H., Matsumoto K.: The TAK1-NLK-MAPK-related pathway antagonizes signalling between β -catenin and transcription factor TCF. *Nature*, 1999; 399: 798-802
- [50] Itasaki N., Jones C.M., Mercurio S., Rowe A., Domingos P.M., Smith J.C., Krumlauf R.: Wise, a context-dependent activator and inhibitor of Wnt signalling. *Development*, 2003; 130: 4295-4305
- [51] Itoh K., Antipova A., Ratcliffe M.J., Sokol S.: Interaction of dishevelled and *Xenopus* axin-related protein is required for wnt signal transduction. *Mol. Cell. Biol.*, 2000; 20: 2228-2238
- [52] Jho E.H., Zhang T., Domon C., Joo C.K., Freund J.N., Costantini F.: Wnt/ β -catenin/Tcf signaling induces the transcription of Axin2, a negative regulator of the signaling pathway. *Mol. Cell. Biol.*, 2002; 22: 1172-1183
- [53] Johnson M.L., Rajamannan N.: Diseases of Wnt signaling. *Rev. Endocr. Metab. Disord.*, 2006; 7: 41-49
- [54] Kadowaki T., Wilder E., Klingensmith J., Zachary K., Perrimon N.: The segment polarity gene *porcupine* encodes a putative transmembrane protein involved in Wingless processing. *Genes Dev.*, 1996; 10: 3116-3128
- [55] Katsu T., Ujike H., Nakano T., Tanaka Y., Nomura A., Nakata K., Takaki M., Sakai A., Uchida N., Imamura T., Kuroda S.: The human frizzled-3 (FZD3) gene on chromosome 8p21, a receptor gene for Wnt ligands, is associated with the susceptibility to schizophrenia. *Neurosci. Lett.*, 2003; 353: 53-56
- [56] Kikuchi A.: Tumor formation by genetic mutations in the components of the Wnt signaling pathway. *Cancer Sci.*, 2003; 94: 225-229
- [57] Kim H., Cheong S.M., Ryu J., Jung H.J., Jho E.H., Han J.K.: *Xenopus* Wntless and the retromer complex cooperate to regulate XWnt4 secretion. *Mol. Cell. Biol.*, 2009; 29: 2118-2128
- [58] Kinzler K.W., Vogelstein B.: Lessons from hereditary colorectal cancer. *Cell*, 1996; 87: 159-170
- [59] Kishida S., Yamamoto H., Ikeda S., Kishida M., Sakamoto I., Koyama S., Kikuchi A.: Axin, a negative regulator of the wnt signaling pathway, directly interacts with adenomatous polyposis coli and regulates the stabilization of β -catenin. *J. Biol. Chem.*, 1998; 273: 10823-10826
- [60] Kohn A.D., Moon R.T.: Wnt and calcium signaling: β -catenin-independent pathways. *Cell Calcium*, 2005; 38: 439-446
- [61] Komiya Y., Habas R.: Wnt signal transduction pathways. *Organogenesis*, 2008; 4: 68-75
- [62] Korkut C., Ataman B., Ramachandran P., Ashley J., Barria R., Gherbesi N., Budnik V.: Trans-synaptic transmission of vesicular Wnt signals through Evi/Wntless. *Cell*, 2009; 139: 393-404
- [63] Kozlovsky N., Belmaker R.H., Agam G.: GSK-3 and the neurodevelopmental hypothesis of schizophrenia. *Eur. Neuropsychopharmacol.*, 2002; 12: 13-25
- [64] Kramps T., Peter O., Brunner E., Nellen D., Froesch B., Chatterjee S., Murone M., Züllig S., Basler K.: Wnt/wingless signaling requires BCL9/legless-mediated recruitment of pygopus to the nuclear β -catenin-TCF complex. *Cell*, 2002; 109: 47-60
- [65] Kroiher M., Miller M.A., Steele R.E.: Deceiving appearances: signaling by „dead” and „fractured” receptor protein-tyrosine kinases. *Bioessays*, 2001; 23: 69-76
- [66] Kurayoshi M., Yamamoto H., Izumi S., Kikuchi A.: Post-translational palmitoylation and glycosylation of Wnt-5a are necessary for its signalling. *Biochem. J.*, 2007; 402: 515-523
- [67] Lagathu C., Christodoulides C., Virtue S., Cawthorn W.P., Franzin C., Kimber W.A., Nora E.D., Campbell M., Medina-Gomez G., Cheyette B.N., Vidal-Puig A.J., Sethi J.K.: Dact1, a nutritionally regulated preadipocyte gene, controls adipogenesis by coordinating the Wnt/ β -catenin signaling network. *Diabetes*, 2009; 58: 609-619
- [68] Lamparska-Przybysz M., Wiczorek M., Majorek M., Guzenda P.: Rola szlaku Wnt/ β -katenina w molekularnym mechanizmie procesów nowotworowych. *Współcz. Onkol.*, 2006; 10: 497-501
- [69] Latres E., Chiaur D.S., Pagano M.: The human F box protein β -Trcp associates with the Cul1/Skp1 complex and regulates the stability of β -catenin. *Oncogene*, 1999; 18: 849-854
- [70] Leung J.Y., Kolligs F.T., Wu R., Zhai Y., Kuick R., Hanash S., Cho K.R., Fearon E.R.: Activation of AXIN2 expression by β -catenin-T cell factor. A feedback repressor pathway regulating Wnt signaling. *J. Biol. Chem.*, 2002; 277: 21657-21665
- [71] Li Y., Bu G.: LRP5/6 in Wnt signaling and tumorigenesis. *Future Oncol.*, 2005; 1: 673-681
- [72] Liepinsh E., Banyai L., Patthy L., Otting G.: NMR structure of the WIF domain of the human Wnt-inhibitory factor-1. *J. Mol. Biol.*, 2006; 357: 942-950
- [73] Liu G., Bafico A., Harris V.K., Aaronson S.A.: A novel mechanism for Wnt activation of canonical signaling through the LRP6 receptor. *Mol. Cell. Biol.*, 2003; 23: 5825-5835
- [74] Liu X., Jefcoate C.: 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin and epidermal growth factor cooperatively suppress peroxisome proliferator-activated receptor- γ 1 stimulation and restore focal adhesion complexes during adipogenesis: selective contributions of Src, Rho, and Erk distinguish these overlapping processes in C3H10T1/2 cells. *Mol. Pharmacol.*, 2006; 70: 1902-1915
- [75] Liu Z., Brooks R.S., Ciappio E.D., Kim S.J., Crott J.W., Bennett G., Greenberg A.S., Mason J.B.: Diet-induced obesity elevates colonic TNF- α in mice and is accompanied by an activation of Wnt signaling: a mechanism for obesity-associated colorectal cancer. *J. Nutr. Biochem.*, 2012; 23: 1207-1213
- [76] Liu Z., Habener J.F.: Stromal cell-derived factor-1 promotes survival of pancreatic beta cells by the stabilisation of beta-catenin and activation of transcription factor 7-like 2 (TCF7L2). *Diabetologia*, 2009; 52: 1589-1598
- [77] Logan C.Y., Nusse R.: The Wnt signaling pathway in development and disease. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.*, 2004; 20: 781-810
- [78] Longo K.A., Wright W.S., Kang S., Gerin I., Chiang S.H., Lucas P.C., Opp M.R., MacDougald O.A.: Wnt10b inhibits development of white and brown adipose tissues. *J. Biol. Chem.*, 2004; 279: 35503-35509
- [79] Loughlin J., Dowling B., Chapman K., Marcelline L., Mustafa Z., Southam L., Ferreira A., Ciesielski C., Carson D.A., Corr M.: Functional variants within the secreted frizzled-related protein 3 gene are associated with hip osteoarthritis in females. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2004; 101: 9757-9762
- [80] Lu W., Yamamoto V., Ortega B., Baltimore D.: Mammalian Ryk is a Wnt coreceptor required for stimulation of neurite outgrowth. *Cell*, 2004; 119: 97-108

- [81] Mao B., Niehrs C.: Kremen2 modulates Dickkopf2 activity during Wnt/LRP6 signaling. *Gene*, 2003; 302: 179-183
- [82] Mao J., Wang J., Liu B., Pan W., Farr G.H.3rd, Flynn C., Yuan H., Takada S., Kimelman D., Li L., Wu D.: Low-density lipoprotein receptor-related protein-5 binds to Axin and regulates the canonical Wnt signaling pathway. *Mol. Cell*, 2001; 7: 801-809
- [83] Mikels A.J., Nusse R.: Purified Wnt5a protein activates or inhibits β -catenin-TCF signaling depending on receptor context. *PLoS Biol.*, 2006; 4: e115
- [84] Müller H.A., Samanta R., Wieschaus E.: Wingless signaling in the *Drosophila* embryo: zygotic requirements and the role of the frizzled genes. *Development*, 1999; 126: 577-586
- [85] Munemitsu S., Albert I., Rubinfeld B., Polakis P.: Deletion of an amino-terminal sequence beta-catenin in vivo and promotes hyperphosphorylation of the adenomatous polyposis coli tumor suppressor protein. *Mol. Cell. Biol.*, 1996; 16: 4088-4094
- [86] Nath N., Kashfi K., Chen J., Rigas B.: Nitric oxide-donating aspirin inhibits β -catenin/T cell factor (TCF) signaling in SW480 colon cancer cells by disrupting the nuclear β -catenin-TCF association. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2003; 100: 12584-12589
- [87] Nusse R., Fuerer C., Ching W., Harnish K., Logan C., Zeng A., ten Berge D., Kalani Y.: Wnt signaling and stem cell control. *Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol.*, 2008; 73: 59-66
- [88] Nusse R., van Ooyen A., Cox D., Fung Y.K., Varmus H.: Mode of proviral activation of a putative mammary oncogene (int-1) on mouse chromosome 15. *Nature*, 1984; 307: 131-136
- [89] Pan C.L., Baum P.D., Gu M., Jorgensen E.M., Clark S.G., Garriga G.: *C. elegans* AP-2 and retromer control Wnt signaling by regulating mig-14/Wntless. *Dev. Cell*, 2008; 14: 132-139
- [90] Panáková D., Sprong H., Marois E., Thiele C., Eaton S.: Lipoprotein particles are required for Hedgehog and Wingless signalling. *Nature*, 2005; 435: 58-65
- [91] Parker D.S., Jemison J., Cadigan K.M.: Pygopus, a nuclear PHD-finger protein required for Wingless signaling in *Drosophila*. *Development*, 2002; 129: 2565-2576
- [92] Parker G.E., Pederson B.A., Obayashi M., Schroeder J.M., Harris R.A., Roach P.J.: Gene expression profiling of mice with genetically modified muscle glycogen content. *Biochem. J.*, 2006; 395: 137-145
- [93] Pinson K.I., Brennan J., Monkley S., Avery B.J., Skarnes W.C.: An LDL-receptor-related protein mediates Wnt signalling in mice. *Nature*, 2000; 407: 535-538
- [94] Polakis P.: Wnt signaling in cancer. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.*, 2012; 4: a008052
- [95] Port F., Kuster M., Herr P., Furger E., Bänziger C., Hausmann G., Basler K.: Wingless secretion promotes and requires retromer-dependent cycling of Wntless. *Nat. Cell Biol.*, 2008; 10: 178-185
- [96] Povelones M., Nusse R.: The role of the cysteine-rich domain of Frizzled in Wingless-Armadillo signaling. *EMBO J.*, 2005; 24: 3493-3503
- [97] Rulifson I.C., Karnik S.K., Heiser P.W., ten Berge D., Chen H., Gu X., Taketo M.M., Nusse R., Hebrok M., Kim S.K.: Wnt signaling regulates pancreatic β cell proliferation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2007; 104: 6247-6252
- [98] Sato A., Kojima T., Ui-Tei K., Miyata Y., Saigo K.: Dfrizzled-3, a new *Drosophila* Wnt receptor, acting as an attenuator of Wingless signaling in wingless hypomorphic mutants. *Development*, 1999; 126: 4421-4430
- [99] Satoh S., Daigo Y., Furukawa Y., Kato T., Miwa N., Nishiwaki T., Kawasoe T., Ishiguro H., Fujita M., Tokino T., Sasaki Y., Imaoka S., Murata M., Shimano T., Yamaoka Y., Nakamura Y.: AXIN1 mutations in hepatocellular carcinomas, and growth suppression in cancer cells by virus-mediated transfer of AXIN1. *Nat. Genet.*, 2000; 24: 245-250
- [100] Schinner S., Ulgen F., Papewalis C., Schott M., Woelk A., Vidal-Puig A., Scherbaum W.A.: Regulation of insulin secretion, glucokinase gene transcription and beta cell proliferation by adipocyte-derived Wnt signalling molecules. *Diabetologia*, 2008; 51: 147-154
- [101] Schulte D.M., Müller N., Neumann K., Oberhäuser F., Faust M., Güdelhöfer H., Brandt B., Krone W., Laudes M.: Pro-inflammatory wnt5a and anti-inflammatory sFRP5 are differentially regulated by nutritional factors in obese human subjects. *PLoS One*, 2012; 7: e32437
- [102] Schwartz D.R., Wu R., Kardia S.L., Levin A.M., Huang C.C., Shedden K.A., Quick R., Mizek D.E., Hanash S.M., Taylor J.M., Reed H., Hendrix N., Zhai Y., Fearon E.R., Cho K.R.: Novel candidate targets of beta-catenin/T-cell factor signaling identified by gene expression profiling of ovarian endometrioid adenocarcinomas. *Cancer Res.*, 2003; 63: 2913-2922
- [103] Seifert J.R., Mlodzik M.: Frizzled/PCP signalling: a conserved mechanism regulating cell polarity and directed motility. *Nat. Rev. Genet.*, 2007; 8: 126-138
- [104] Sethi J.K., Vidal-Puig A.: Wnt signalling and the control of cellular metabolism. *Biochem. J.*, 2010; 427: 1-17
- [105] Sharma R.P., Chopra V.L.: Effect of the Wingless (wg1) mutation on wing and haltere development in *Drosophila melanogaster*. *Dev. Biol.*, 1976; 48: 461-465
- [106] Shimokawa T., Furukawa Y., Sakai M., Li M., Miwa N., Lin Y.M., Nakamura Y.: Involvement of the FGF18 gene in colorectal carcinogenesis, as a novel downstream target of the β -catenin/T-cell factor complex. *Cancer Res.*, 2003; 63: 6116-6120
- [107] Shu L., Sauter N.S., Schulthess F.T., Matveyenko A.V., Oberholzer J., Maedler K.: Transcription factor 7-like 2 regulates β -cell survival and function in human pancreatic islets. *Diabetes*, 2008; 57: 645-653
- [108] Strigini M., Cohen S.M.: Wingless gradient formation in the *Drosophila* wing. *Curr. Biol.*, 2000; 10: 293-300
- [109] Tago K., Nakamura T., Nishita M., Hyodo J., Nagai S., Murata Y., Adachi S., Ohwada S., Morishita Y., Shibuya H., Akiyama T.: Inhibition of Wnt signaling by ICAT, a novel β -catenin-interacting protein. *Genes Dev.*, 2000; 14: 1741-1749
- [110] Takada R., Satomi Y., Kurata T., Ueno N., Norioka S., Kondoh H., Takao T., Takada S.: Monounsaturated fatty acid modification of Wnt protein: its role in Wnt secretion. *Dev. Cell*, 2006; 11: 791-801
- [111] Takemaru K., Yamaguchi S., Lee Y.S., Zhang Y., Carthew R.W., Moon R.T.: Chibby, a nuclear β -catenin-associated antagonist of the Wnt/Wingless pathway. *Nature*, 2003; 422: 905-909
- [112] Takemaru K.I., Moon R.T.: The transcriptional coactivator CBP interacts with β -catenin to activate gene expression. *J. Cell Biol.*, 2000; 149: 249-254
- [113] Tamai K., Semenov M., Kato Y., Spokony R., Liu C., Katsuyama Y., Hess F., Saint-Jeannet J.P., He X.: LDL-receptor-related proteins in Wnt signal transduction. *Nature*, 2000; 407: 530-535
- [114] Tan X., Apte U., Micsenyi A., Kotsagrelis E., Luo J.H., Ranganathan S., Monga D.K., Bell A., Michalopoulos G.K., Monga S.P.: Epidermal growth factor receptor: a novel target of the Wnt/ β -catenin pathway in liver. *Gastroenterology*, 2005; 129: 285-302
- [115] Tanaka K., Kitagawa Y., Kadowaki T.: *Drosophila* segment polarity gene product porcupine stimulates the posttranslational N-glycosylation of wingless in the endoplasmic reticulum. *J. Biol. Chem.*, 2002; 277: 12816-12823
- [116] Terstappen G.C., Gaviraghi G., Caricasole A.: The Wnt signaling pathway as a target for the treatment of neurodegenerative disorders. *IDrugs*, 2006; 9: 35-38
- [117] Tetsu O., McCormick F.: β -catenin regulates expression of cyclin D1 in colon carcinoma cells. *Nature*, 1999; 398: 422-426
- [118] Thompson B., Townsley F., Rosin-Arbesfeld R., Musisi H., Bienz

- M.: A new nuclear component of the Wnt signalling pathway. *Nat. Cell Biol.*, 2002; 4: 367-373
- [119] Umbhauer M., Djiane A., Goisset C., Penzo-Mendez A., Riou J.F., Boucaut J.C., Shi D.L.: The C-terminal cytoplasmic Lys-thr-X-X-X-Trp motif in frizzled receptors mediates Wnt/ β -catenin signalling. *EMBO J.*, 2000; 19: 4944-4954
- [120] van den Heuvel M., Harryman-Samos C., Klingensmith J., Perimon N., Nusse R.: Mutations in the segment polarity genes *wingless* and *porcupine* impair secretion of the wingless protein. *EMBO J.*, 1993; 12: 5293-5302
- [121] Verkaar F., Zaman G.J.: New avenues to target Wnt/ β -catenin signaling. *Drug Discov. Today*, 2011; 16: 35-41
- [122] Wehrli M., Dougan S.T., Caldwell K., O'Keefe L., Schwartz S., Vavizel-Ohayon D., Schejter E., Tomlinson A., DiNardo S.: Arrow encodes an LDL-receptor-related protein essential for *Wingless* signalling. *Nature*, 2000; 407: 527-530
- [123] Willert J., Epping M., Pollack J.R., Brown P.O., Nusse R.: A transcriptional response to Wnt protein in human embryonic carcinoma cells. *BMC Dev. Biol.*, 2002; 2: 8
- [124] Willert K., Brown J.D., Danenberg E., Duncan A.W., Weissman I.L., Reya T., Yates J.R.3rd, Nusse R.: Wnt proteins are lipid-modified and can act as stem cell growth factors. *Nature*, 2003; 423: 448-452
- [125] Wise D.R., DeBerardinis R.J., Mancuso A., Sayed N., Zhang X.Y., Pfeiffer H.K., Nissim I., Daikhin E., Yudkoff M., McMahon S.B., Thompson C.B.: Myc regulates a transcriptional program that stimulates mitochondrial glutaminolysis and leads to glutamine addiction. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2008; 105: 18782-18787
- [126] Wright W.S., Longo K.A., Dolinsky V.W., Gerin I., Kang S., Bennett C.N., Chiang S.H., Prestwich T.C., Gress C., Burant C.F., Susulic V.S., MacDougald O.A.: Wnt10b inhibits obesity in *ob/ob* and *agouti* mice. *Diabetes*, 2007; 56: 295-303
- [127] Wu C.H., Nusse R.: Ligand receptor interactions in the Wnt signaling pathway in *Drosophila*. *J. Biol. Chem.*, 2002; 277: 41762-41769
- [128] Xiao J.H., Ghosn C., Hinchman C., Forbes C., Wang J., Snider N., Cordrey A., Zhao Y., Chandraratna R.A.: Adenomatous polyposis coli (APC)-independent regulation of beta-catenin degradation via a retinoid X receptor-mediated pathway. *J. Biol. Chem.*, 2003; 278: 29954-29962
- [129] Xu Y.K., Nusse R.: The Frizzled CRD domain is conserved in diverse proteins including several receptor tyrosine kinases. *Curr. Biol.*, 1998; 8: R405-R406
- [130] Yamazaki H., Yanagawa S.I.: Axin and the Axin/Arrow-binding protein DCAP mediate glucose-glycogen metabolism. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2003; 304: 229-235
- [131] Yan D., Lin X.: Shaping morphogen gradients by proteoglycans. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.*, 2009; 1: a002493
- [132] Yang J., Wu J., Tan C., Klein P.S.: PP2A:B56 ϵ is required for Wnt/ β -catenin signaling during embryonic development. *Development*, 2003; 130: 5569-5578
- [133] Yang P.T., Lorenowicz M.J., Silhankova M., Coudreuse D.Y., Be-tist M.C., Korswagen H.C.: Wnt signaling requires retromer-dependent recycling of MIG-14/Wntless in Wnt-producing cells. *Dev. Cell*, 2008; 14: 140-147
- [134] Yoshikawa S., McKinnon R.D., Kokel M., Thomas J.B.: Wnt-mediated axon guidance via the *Drosophila* Derailed receptor. *Nature*, 2003; 422: 583-588
- [135] Yost C., Torres M., Miller J.R., Huang E., Kimelman D., Moon R.T.: The axis-inducing activity, stability, and subcellular distribution of β -catenin is regulated in *Xenopus* embryos by glycogen synthase kinase 3. *Genes Dev.*, 1996; 10: 1443-1454
- [136] Zhai L., Chaturvedi D., Cumberledge S.: *Drosophila* wnt-1 undergoes a hydrophobic modification and is targeted to lipid rafts, a process that requires porcupine. *J. Biol. Chem.*, 2004; 279: 33220-33227
- [137] Zhang X., Gaspard J.P., Chung D.C.: Regulation of vascular endothelial growth factor by the Wnt and K-ras pathways in colonic neoplasia. *Cancer Res.*, 2001; 61: 6050-6054
- [138] Zhou L., An N., Haydon R.C., Zhou Q., Cheng H., Peng Y., Jiang W., Luu H.H., Vanichakarn P., Szatkowski J.P., Park J.Y., Breyer B., He T.C.: Tyrosine kinase inhibitor STI-571/Gleevec down-regulates the β -catenin signaling activity. *Cancer Lett.*, 2003; 193: 161-170

Autorzy deklaruja brak potencjalnych konfliktow interesow.