

白血病細胞における Wnt/ $\beta$ -カテニンシグナル伝達経路と薬剤耐性

東京女子医科大学医学部血液内科学

オウ エンカ モトジトシコ  
王 艶華・泉二登志子

(受理 平成25年2月4日)

Wnt/ $\beta$ -catenin Signaling Pathway and Multidrug Resistance in Leukemic Cells

Yan-Hua WANG and Toshiko MOTOJI

Department of Hematology, Tokyo Women's Medical University School of Medicine

Wnt signaling plays a crucial role in embryonic development, regulation of cell fate, self-renewal of stem cells, and carcinogenesis in humans.  $\beta$ -catenin is a key molecule in this pathway, and its protein levels are mediated by the effects of the Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway. Once Wnt proteins bind to their receptors, non-phosphorylated  $\beta$ -catenin accumulates within the cytoplasm and migrates to the nucleus, where it up-regulates the expression of target genes, including genes involved in cell proliferation and differentiation, by binding to the T-cell factor/lymphoid enhancer factor complex. The constitutive activation of  $\beta$ -catenin has been suggested to be essential for the self-renewal and differentiation of hematopoietic stem and progenitor cells, as well as for the development and chemoresistance of leukemia stem cells. Abnormalities and overexpression of genes involved in the Wnt/ $\beta$ -catenin pathway have been detected in various hematologic malignancies, including leukemia. Recently, the Wnt receptor Frizzled 1 (FZD1) was found to be associated with the transcriptional activation of the multidrug resistance 1 gene (MDR1) through the Wnt/ $\beta$ -catenin pathway. In the present study, we provide an overview about the role of the Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway in leukemic cells, and clarify its relationship with multidrug resistance.

**Key Words:** Wnt signaling pathway,  $\beta$ -catenin, leukemia, multidrug resistance, FZD1

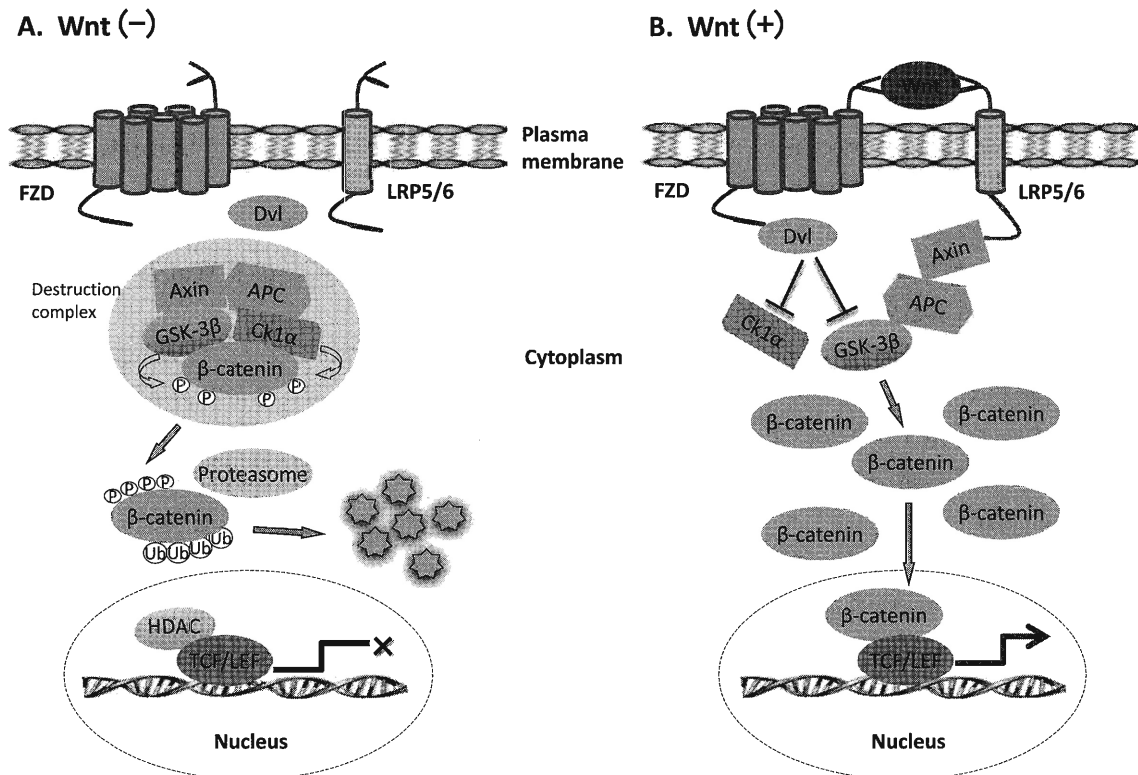
## はじめに

Wnt は細胞間情報伝達分子、システインが豊富な細胞外分泌性糖タンパク質である。哺乳類動物において少なくとも19種類のWntファミリー(wingless-type MMTV integration site family)が存在し、生物学的活性によって分類される<sup>1)</sup>。Wntシグナルは哺乳類を含め生命の胚期発生から形態形成まで、また出生後細胞運命の調節、幹細胞や前駆細胞の増殖・分化・維持、糖尿病、精神疾患などの発症、発がんなどにも関わっている重要なシグナル伝達経路である<sup>2)</sup>。過去20年間、さまざまな領域で研究が進み、近年その活性制御に関することが少しずつ明らかになってきた。Wntシグナル伝達経路では、Wntリガンドと細胞表面の受容体の組み合わせにより細胞内シグナル伝達の特異性が決定される<sup>3)</sup>。Wntシ

グナル伝達経路には、調節の鍵となる $\beta$ -カテニン( $\beta$ -catenin)によって大きく二つに分類される。一つは $\beta$ -カテニンがTCF (T-cell factor)/LEF (lymphoid enhancer factor) 転写因子を介して標的遺伝子の発現を制御する $\beta$ -カテニン経路、もう一つは細胞の極性、運動や接着などを制御する $\beta$ -カテニン非依存性経路である<sup>1)</sup>。本稿では、Wnt/ $\beta$ -カテニン伝達経路についてシグナル伝達の経路を解説すると共に、主に白血病細胞におけるWnt/ $\beta$ -カテニン伝達経路と抗がん薬への薬剤耐性との関連について、報告された研究をもとに簡単に紹介したい。

1. Wnt/ $\beta$ -カテニンシグナル経路の概要

$\beta$ -カテニンは二つのまったく異なる機能を持つ細胞内分子で、一つは細胞表面膜にある細胞間接着分子、カドヘリンの細胞質ドメインとアクチンフィ



**Figure** Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway

In the absence of Wnt proteins,  $\beta$ -catenin binds to GSK-3 $\beta$ , CK1 $\alpha$ , Axin, and APC proteins to form a “destruction complex” in the cytoplasm.  $\beta$ -catenin is phosphorylated by GSK-3 $\beta$  and CK1 $\alpha$  at the N-terminal regions, and is then ubiquitinated and degraded by a proteasome (A). When Wnt proteins bind to FZD receptors and an LRP co-receptor, the “ternary complex” transduces a signal to intracellular Dvl, which inhibits the activity of GSK-3 $\beta$ . As a result, accumulated  $\beta$ -catenin is stabilized, and it migrates to the nucleus, where it forms a complex with the TCF/LEF factor to activate the transcription of the downstream target genes (B).

FZD: Frizzled, LRP: low-density lipoprotein receptor-related protein, Dvl: Dishevelled, APC: adenomatous polyposis coli, GSK-3 $\beta$ : glycogen synthase kinase-3 $\beta$ , CK1 $\alpha$ : casein kinase 1 $\alpha$ , TCF: T-cell factor, LEF: lymphoid enhancer factor, HDAC: Histone deacetylase, Ub: ubiquitin.

ラメントをつなげる。もう一つは、細胞核内転写因子と結合して標的遺伝子の転写を活性化する働きである<sup>4)</sup>。Canonical 経路とも呼ばれている Wnt/ $\beta$ -カテニンシグナル経路は、細胞質内の  $\beta$ -カテニンのタンパク量を調節することによって、細胞の増殖や分化、生存のバランスなどを決定する<sup>24)</sup>。

Wnt 受容体は、細胞膜に存在する 7 回膜貫通型 Frizzled (FZD) 受容体と 1 回膜貫通型の LRP5/6 (low-density lipoprotein receptor-related protein) 共同受容体で構成される。FZD は N 末端細胞外領域において、Wnt に結合が豊富なシステインドメインを有する。また、FZD の C-末端は Ser/Thr-XXX-Val のモチーフから構成されている。シークエンス配列により 10 種類 (FZD1~FZD10) に分けられ

る<sup>5)</sup>。通常 Wnt が存在しない時には、 $\beta$ -カテニンは細胞質内の Axin (足場タンパク質)、APC (adenomatous polyposis coli: 癌抑制遺伝子産物)、GSK-3 $\beta$  (glycogen synthase kinase-3 $\beta$ ) と CK1 $\alpha$  (casein kinase 1 $\alpha$ ) などの主要構成分子に結合し “destruction complex” を形成し、 $\beta$ -カテニンの N 末端領域は GSK-3 $\beta$  と CK1 $\alpha$  によってリン酸化され、ユビキチン化後にプロテアソームで分解される (Figure A)。このように細胞質内  $\beta$ -カテニンのタンパク量を低く保つことによって、Wnt/ $\beta$ -カテニンシグナルの標的遺伝子の転写を制御している<sup>6)</sup>。一方、細胞外からの刺激で Wnt が受容体 FZD と LRP5/6 に結合すると、シグナルは細胞内 Dvl (Dishevelled: Axin 結合分子) へと伝達され、GSK-3 $\beta$  の活性を抑制すること

によって $\beta$ -カテニンがリン酸化を免れる。その結果、細胞質中に蓄積された $\beta$ -カテニンは核内に移行し、TCF/LEF転写因子と結合後、cyclin D1, c-myc および multidrug resistance 1 (MDR1) などの標的遺伝子の発現を促進することにより、細胞の増殖や分化およびアポトーシスを制御する<sup>4)</sup>(Figure B)。

最近では新たなメカニズムとして、FZDとLRP受容体の近傍にあるR-spondinリガンドとLGR5(leucine-rich repeat-containing G-protein coupled receptor 5: 幹細胞マーカー)などがWnt receptors複合体FZD/LRPに作用することによって、Wnt/ $\beta$ -カテニンシグナル伝達経路をさらに活性化させるという報告がみられる<sup>78)</sup>。

大腸、肺、肝臓、乳房、皮膚、前立腺など様々な組織の悪性疾患では、Wnt/ $\beta$ -カテニンシグナル伝達経路が、発現調節機構の異常により恒常的に活性化していること、また、 $\beta$ -カテニンと構成分子そのものの変異が、これら悪性腫瘍の原因と関連することが報告されている<sup>29)</sup>。造血器腫瘍においても、この経路の異常と白血病、リンパ腫や多発性骨髄腫などの発症の原因との関連が報告され<sup>10)</sup>、さらに腫瘍の進展への関与も示唆されている<sup>11)</sup>。

## 2. 造血幹細胞におけるWnt/ $\beta$ -カテニンシグナル経路

Wnt/ $\beta$ -カテニンシグナル経路は、正常な造血幹細胞の増殖・分化、自己再生能の刺激、遺伝子の転写などに重要な役割を果たし、その恒常性維持に不可欠とされる<sup>6)12)~16)</sup>。Wntファミリーの遺伝子産物は、造血細胞の成長因子として前駆細胞に必須であり、正常者骨髄ではWnt3, Wnt10a, FZD3, FZD7 およびsFRP1 (secreted Frizzled-related protein genes: Wntを抑制する分泌タンパク)が恒常的に発現している<sup>17)</sup>。正常者のリンパ球にはWnt7a, Wnt9b, FZD6とFZD7の発現がみられ、未熟な胸腺細胞はWnt3aの刺激によって増殖し、Wnt3aの減少は自己再生能の低下を引き起こし、分化を抑制する<sup>15)18)</sup>。

$\beta$ -カテニンは正常のCD34+前駆細胞では検出できるが、分化したCD33+CD34-CD11b+細胞になると検出できなくなる。さらに、 $\beta$ -カテニンの活性化を引き起こすとCD34+前駆細胞のアポトーシスが抑制される<sup>19)</sup>。造血幹細胞における $\beta$ -カテニンの恒常的活性化が、多能性造血幹細胞の自己再生能を低下させ、初期段階B細胞や骨髄系幹細胞の分化をブロックすることが示されている<sup>15)</sup>。しかしながら、 $\beta$ -カテニンを低下させても、幹細胞自身の長期生存

と維持には影響がないという報告<sup>16)</sup>があることから、造血幹細胞の維持と各分化段階の細胞には異なるレベルの $\beta$ -カテニンが必要と考えられる。つまり、Wnt/ $\beta$ -カテニンシグナル伝達経路上に異常がある場合には、正常造血細胞の生存、増殖や分化に影響を及ぼす可能性がある。

## 3. 白血病細胞におけるWnt/ $\beta$ -カテニンシグナル経路

Wnt/ $\beta$ -カテニンシグナル伝達経路における、Wntタンパク、 $\beta$ -カテニンや転写因子の過剰発現などが白血病の発症に関与していることが、多くの研究から示唆されている。白血病幹細胞の自己再生能や増殖に $\beta$ -カテニンの活性化は必要で<sup>19)~21)</sup>、AML(acute myeloid leukemia)細胞では、 $\beta$ -カテニンタンパクが検出され、多くの症例でWnt1, Wnt2b およびLEF1が異常に発現している<sup>19)</sup>。正常核型のAML症例では、細胞核内非リン酸化 $\beta$ -カテニンが多く、LEF1遺伝子発現の高い症例が寛解に入りやすく、予後不良であることが報告されている<sup>22)23)</sup>。また、AML融合遺伝子産物が $\beta$ -カテニンの発現を増強させ、ターゲット遺伝子であるcyclin D1, c-mycの発現も高くなる<sup>24)</sup>。

ALL (acute lymphoblastic leukemia) 細胞では、t(1;19)由来の細胞株にWnt16の活性を抑制すると、アポトーシスが誘導された<sup>25)</sup>。B-ALLでは $\beta$ -カテニン活性化に伴うGSK-3 $\beta$ の不活性化が示され、Wnt3aの刺激によって核内 $\beta$ -カテニンが多く蓄積され、TCF/LEF1のプロモーターも活性化されている<sup>26)</sup>。LEF1遺伝子の過剰発現はB-ALLにおいても予後不良因子とされる<sup>27)</sup>。

Wnt/ $\beta$ -カテニンシグナル経路はエピジェネティックのメチル化によっても制御される。ALLやAML症例では、Wnts阻害作用を有するsFRPsのプロモーターの高メチル化によって、Wntターゲット遺伝子であるTCF1, LEF1, FZD3, cyclin D1や $\beta$ -カテニンなどの発現が高くなったことが判明している<sup>28)29)</sup>。

$\beta$ -カテニンの活性化はCML(chronic myeloid leukemia)でも重要な役割を果たしているようである。BCR-ABL/ $\beta$ -カテニン複合体の形成によりBCR-ABLを安定させることが知られており、 $\beta$ -カテニンの減少がCMLの白血病幹細胞の自己再生能を低下させる。マウスを用いた実験系で $\beta$ -カテニンの活性化を抑制すると、結果的に白血病幹細胞が減少し、イマチニブを中止した後の無病生存期間の延長がみ

られた<sup>30)</sup>。

これらの結果から、Wnt/ $\beta$ -カテニンシグナル伝達経路における $\beta$ -カテニンを抑制する白血病の治療は、革新的なアプローチだと思われる。 $\beta$ -カテニンシグナル阻害薬である低分子化合物を添加することによりAML細胞のアポトーシスが誘導され、 $\beta$ -カテニン/LEF1ターゲット遺伝子c-myc, cyclin D1およびsurvivinなどが有意に減少したが<sup>31)</sup>、ごく最近の報告では、一部のAML患者の細胞にしか効果が得られていない<sup>32)</sup>。

#### 4. 白血病細胞の薬剤耐性とWnt/ $\beta$ -カテニンシグナル経路

##### 1) 白血病と多剤耐性遺伝子

造血器腫瘍の治療にて長期生存を妨げる要因の一つは、白血病細胞の抗がん薬に対する耐性であるが、最も明らかにされているのはP糖タンパク(P-glycoprotein: P-gp)の働きである<sup>33)</sup>。P-gpはABC(ATP binding cassette)トランスポーター大ファミリーの代表であり、細胞膜に位置する疎水性タンパクである。このタンパクをコードする遺伝子は、7q21:12に存在するMDR1(またはATP binding cassette subfamily B, member 1: ABCB1)である。MDR1は未分化な形質を有する白血病細胞に強く発現しており、白血病性幹細胞もMDR1を有していることが報告されている<sup>34)</sup>。P-gpは解毒作用、薬物排泄の亢進機能を有する。白血病細胞では、P-gpの過剰発現が細胞内からの抗がん薬の排泄を亢進させ、細胞内抗がん薬の濃度が低下し、薬剤感受性の低下を引き起こす。P-gpが発現している白血病患者では寛解率が低い。in vitroでは、薬剤耐性克服薬(P-gpの阻害薬)の添加によって、薬剤の感受性が回復していることが示されたが<sup>35)36)</sup>、急性白血病に抗がん薬と耐性克服薬を併用した臨床治験では、十分な治療効果が得られていない<sup>37)38)</sup>。

##### 2) Wnt/ $\beta$ -カテニンシグナル経路とMDR1

Wnt/ $\beta$ -カテニンシグナル経路は、がんの薬剤耐性に関与していることが示されている<sup>39)40)</sup>。ラットやヒトの脳血管内皮細胞を用いた研究では、WntのアゴニストとGSK-3 $\beta$ 阻害薬を添加することにより、 $\beta$ -カテニンの核への移行が亢進しMDR1プロモーターも活性化され、P-gpが過剰に発現した<sup>41)</sup>。 $\beta$ -カテニン変異があった大腸がん細胞株および患者腫瘍組織では、MDR1のプロモーターの高活性化とMDR1高発現が報告されている<sup>42)</sup>。最近、MDR1高発現のCML細胞株では、親株に比べMDR1のプロ

モーター領域と $\beta$ -カテニンとの結合力がより強く、Wnt1と $\beta$ -カテニンをノックダウンするとMDR1の発現が有意に減少したと報告された。CMLではWnt/ $\beta$ -カテニンシグナル経路がMDR1の転写を正に調節していることが示された<sup>43)</sup>。

急性白血病の再発時の細胞では、初発時に比べTopo II $\alpha$ (Topoisomerase II $\alpha$ )遺伝子、メラノーマ特異的遺伝子PRAME(preferentially expressed antigen of melanoma)の発現が高くなっており、そのような症例では薬剤感受性が低く治療抵抗性である。細胞周期においてS期の細胞比率も高く再寛解に到達しにくい<sup>44)45)</sup>。再発時の白血病細胞はより強い増殖力をもつよう変化し、悪性度がより高くなっていることが示唆され、これが抗がん薬耐性に関与すると考えられる。またde novo AMLでは、Topo II $\alpha$ 活性が高く $\beta$ -カテニンの発現も異常な症例では予後が不良である<sup>46)</sup>。 $\beta$ -カテニン/TCF4複合体が転写を調節する標的遺伝子は約100種類以上存在し、MDR1はそのひとつであることが報告されている<sup>47)48)</sup>。MDR1遺伝子のプロモーター領域は複雑な構造を持つにも関わらず、TCF/LEF1と一致する7つ結合部位が存在していることが示唆される。したがってWnt/ $\beta$ -カテニンシグナル経路を抑制することによりMDR1の発現を低下させる可能性が考えられる。

最近、Wnt受容体FZD1がWnt/ $\beta$ -カテニン経路の活性化を介して、抗がん薬への薬剤耐性に関与することが示された。神経芽腫耐性細胞株では、FZD1の高発現は抗がん薬に抵抗性を示し、FZD1を抑制すると薬剤感受性が回復すると共にMDR1の発現も抑制された<sup>49)</sup>。また、乳がんの薬剤耐性細胞株では、FZD1ノックダウンをさせると、核内 $\beta$ -カテニンの減少がみられ、MDR1発現の減少と薬剤耐性の回復も得られた<sup>50)</sup>。これらの結果から、白血病細胞でもFZD1の抑制により、MDR1の発現を防ぐことが可能ではないかと考え、著者らは、白血病耐性細胞株にshRNA(short hairpin RNA)を用い、FZD1を抑制することによってP-gpに及ぼす影響を検討しMDR1耐性克服の可能性を試みた。その結果、P-gpの発現の減少と抗がん薬の薬剤感受性の回復が得られ、白血病細胞においてもFZD1が薬剤耐性に関与することが初めて明らかになった<sup>51)</sup>。FZD1がWnt3aをパートナーとしてWnt/ $\beta$ -カテニン経路を介し、TCF転写因子の活性化を促進すること<sup>52)</sup>が示唆されたので、多剤耐性を克服する一方法として、

FZD1 が新たな分子標的になるのではないかと考えられる。

### 5. Wnt/ $\beta$ -カテニンシグナル経路とがんの治療

多くの研究結果から、Wnt/ $\beta$ -カテニンシグナル伝達経路を阻害する薬剤、あるいは Wnt 抑制するタンパクを過剰発現させる薬剤の開発や治験が行われている。阻害薬としては、大きく低分子化合物と生物学的製剤の二種類に分けられる。低分子化合物としては、既存の薬物ならび天然の化合物、そして初めからデザインされた分子標的薬物である。前者はアスピリン、レチノイド、ビタミン D3、ポリフェノール類など抗腫瘍活性を示してあるが、後者は CGP 049090 や PFK115-584<sup>31)</sup>、ICG-001<sup>53)</sup>、FJ9<sup>54)</sup>などが挙げられる。分子標的低分子化合物は、主に  $\beta$ -カテニンと TCF/LEF の結合、FZD と Dvl の結合、そして  $\beta$ -カテニンと転写共同因子との結合を阻害するものである。生物学的製剤としては、Wnt やレセプターに対する抗体、RNA 干渉、リコンビナントタンパクなどが検討されている<sup>55)</sup>。これらは一部すでに臨床に応用されているものもあり、前臨床試験段階にあるものもある。AML において、 $\beta$ -カテニン遺伝子を抑制する CWP23229 という低分子化合物の第 I 相臨床治験が行われており、この阻害薬は腫瘍の増殖や進展を抑制することが示されているので<sup>56)</sup>、臨床での結果が待たれる。

白血病幹細胞に対して Wnt/ $\beta$ -カテニンシグナル伝達経路は、まだ明らかでない点はあるが、その活性化が正常造血幹細胞より強いことを利用し、これをターゲットとするより選択的な分子標的抗がん薬の開発が期待される。

### おわりに

Wnt/ $\beta$ -カテニンシグナル伝達経路は、白血病細胞の増殖、分化や自己再生能などに関与し、白血病の薬剤耐性にも関わっている。現在白血病の治療は抗がん薬が中心であるが、将来は、Wnt/ $\beta$ -カテニンシグナル伝達経路における分子標的阻害薬を加える治療が可能になると思われる。

開示すべき利益相反状態はない。

### 文 献

- 1) **van Amerongen R, Nusse R:** Towards an integrated view of Wnt signaling in development. *Development* **136**: 3205–3214, 2009
- 2) **MacDonald BT, Tamai K, He X:** Wnt/ $\beta$ -catenin signaling: Components, mechanisms, and diseases. *Dev Cell* **17**: 9–26, 2009
- 3) **Mikels AJ, Nusse R:** Purified Wnt5a protein activates or inhibits  $\beta$ -catenin-TCF signaling depending on receptor context. *PLoS Biol* **4**: e115, 2006
- 4) **Morin PJ:**  $\beta$ -catenin signaling and cancer. *Bioessays* **21**: 1021–1030, 1999
- 5) **Schulte G:** International Union of Basic and Clinical Pharmacology. LXXX. The class Frizzled receptors. *Pharmacol Rev* **62**: 632–667, 2010
- 6) **Rubinfeld B, Albert I, Porfiri E et al:** Binding of GSK3 $\beta$  to the APC- $\beta$ -catenin complex and regulation of complex assembly. *Science* **272**: 1023–1026, 1996
- 7) **de Lau W, Barker N, Low TW et al:** Lgr5 homologues associate with Wnt receptors and mediate R-spondin signaling. *Nature* **476**: 293–297, 2011
- 8) **Ruffner H, Sprunger J, Charlat O et al:** R-spondin potentiates Wnt/ $\beta$ -catenin signaling through orphan receptors LGR4 and LGR5. *PLoS One* **7**: e40976, 2012
- 9) **Rega T, Clevers H:** Wnt signaling in stem cells and cancer. *Nature* **434**: 843–850, 2005
- 10) **GE X, Wang X:** Role of Wnt canonical pathway in hematological malignancies. *J Hematol Oncol* **3**: 33, 2010
- 11) **Lane SW, Wang YJ, Celso CL et al:** Differential niche and Wnt requirements during acute myeloid leukemia progression. *Blood* **118**: 2849–2856, 2011
- 12) **Reya T, Duncan AW, Ailles L et al:** A role for Wnt signalling in self-renewal of haematopoietic stem cells. *Nature* **423**: 409–414, 2003
- 13) **Zhao C, Blum J, Chen A et al:** Loss of  $\beta$ -catenin impairs the renewal of normal and CML stem cells in vivo. *Cancer Cell* **12**: 528–541, 2007
- 14) **Luis TC, Ichii M, Brugman MH et al:** Wnt signaling strength regulates normal hematopoiesis and its deregulation is involved in leukemia development. *Leukemia* **26**: 414–421, 2012
- 15) **Kirstetter P, Anderson K, Porse BT et al:** Activation of the canonical Wnt pathway leads to loss of hematopoietic stem cell repopulation and multilineage differentiation block. *Nat Immunol* **7**: 1048–1056, 2006
- 16) **Koch U, Wilson A, Cobas M et al:** Simultaneous loss of beta- and gamma-catenin does not perturb hematopoiesis or lymphopoiesis. *Blood* **111**: 160–164, 2008
- 17) **Sercan Z, Pehlivan M, Sercan HO et al:** Expression profile of WNT, FZD and sFRP genes in human hematopoietic cells. *Leuk Res* **34**: 946–949, 2010
- 18) **Luis TC, Weerkamp F, Naber BA et al:** Wnt3a deficiency irreversibly impairs hematopoietic stem cell self-renewal and leads to defects in progenitor cell differentiation. *Blood* **113**: 546–554, 2009
- 19) **Simon M, Grandage VL, Linch DC et al:** Constitutive activation of the Wnt/ $\beta$ -catenin signalling pathway in acute myeloid leukaemia. *Oncogene* **24**: 2410–2420, 2005
- 20) **Wang Y, Krivtsov AV, Sinha AU et al:** The Wnt/ $\beta$ -catenin pathway is required for the development of leukemia stem cells in AML. *Science* **327**: 1650–1653, 2010

- 21) **Siapati EK, Papadaki M, Kozaou Z et al:** Proliferation and bone marrow engraftment of AML blasts is dependent on  $\beta$ -catenin signaling. *Br J Haematol* **152**: 164–174, 2011
- 22) **Metzeler KH, Heilmeier B, Edmaier KE et al:** High expression of lymphoid enhancer-binding factor-1 (*LEF1*) is a novel favorable prognostic factor in cytogenetically normal acute myeloid leukemia. *Blood* **120**: 2118–2126, 2012
- 23) **Xu J, Suzuki M, Niwa Y et al:** Clinical significance of nuclear non-phosphorylated beta-catenin in acute myeloid leukaemia and myelodysplastic syndrome. *Br J Haematol* **140**: 394–401, 2008
- 24) **Müller-Tidow C, Steffen B, Cauvet T et al:** Translocation products in acute myeloid leukemia activate the Wnt signaling pathway in hematopoietic cells. *Mol Cell Biol* **24**: 2890–2904, 2004
- 25) **Mazieres J, You L, He B et al:** Inhibition of Wnt16 in human acute lymphoblastoid leukemia cells containing the t (1;19) translocation induces apoptosis. *Oncogene* **24**: 5396–5400, 2005
- 26) **Khan NI, Bradstock KF, Bendall LJ:** Activation of Wnt/ $\beta$ -catenin pathway mediates growth and survival in B-cell progenitor acute lymphoblastic leukaemia. *Br J Haematol* **138**: 338–348, 2007
- 27) **Kühnl A, Gökbuget N, Kaiser M et al:** Overexpression of *LEF1* predicts unfavorable outcome in adult patients with B-precursor acute lymphoblastic leukemia. *Blood* **118**: 6362–6367, 2011
- 28) **Valencia A, Román-Gómez J, Cervera J et al:** Wnt signaling pathway is epigenetically regulated by methylation of Wnt antagonists in acute myeloid leukemia. *Leukemia* **23**: 1658–1666, 2009
- 29) **Román-Gómez J, Cordeu L, Agirre X et al:** Epigenetic regulation of Wnt-signaling pathway in acute lymphoblastic leukemia. *Blood* **109**: 3462–3469, 2007
- 30) **Heidel FH, Bullinger L, Feng Z et al:** Genetic and pharmacologic inhibition of  $\beta$ -catenin targets imatinib-resistant leukemia stem cells in CML. *Cell Stem Cell* **10**: 412–424, 2012
- 31) **Minke KS, Staib P, Puetter A et al:** Small molecule inhibitors of WNT signaling effectively induce apoptosis in acute myeloid leukemia cells. *Eur J Haematol* **82**: 165–175, 2009
- 32) **Gandillet A, Park S, Lassailly F et al:** Heterogeneous sensitivity of human acute myeloid leukemia to  $\beta$ -catenin down-modulation. *Leukemia* **25**: 770–780, 2011
- 33) **Gottesman MM, Fojo T, Bates SE:** Multidrug resistance in cancer: role of ATP-dependent transporters. *Nat Rev Cancer* **2**: 48–58, 2002
- 34) **de Jonge-Peeters SD, Kuipers F, de Vries EG et al:** ABC transporter expression in hematopoietic stem cells and the role in AML drug resistance. *Crit Rev Oncol Hematol* **62**: 214–226, 2007
- 35) **Wang YH, Motoji T, Motomura S et al:** Recovery of drug sensitivity by MS-209, a new multidrug resistance-reversing agent, on acute myelogenous leukaemic blasts and K562 cells resistant to adriamycin cell line. *Eur J Haematol* **58**: 186–194, 1997
- 36) **Motoji T, Motomura S, Wang YH:** Multidrug resistance of acute leukemia and a strategy to overcome it. *Int J Hematol* **72**: 418–424, 2000
- 37) **List AF, Kopecky KJ, Willman CL et al:** Benefit of cyclosporine modulation of drug resistance in patients with poor-risk acute myeloid leukemia: a Southwest Oncology Group study. *Blood* **98**: 3212–3220, 2001
- 38) **Kolitz JE, George SL, Marcucci G et al:** P-glycoprotein inhibition using valsopodar (PSC-833) does not improve outcomes for patients under age 60 years with newly diagnosed acute myeloid leukemia: Cancer and Leukemia Group B Study 19808. *Blood* **116**: 1413–1421, 2010
- 39) **Yeung J, Esposito MT, Gandillet A et al:**  $\beta$ -Catenin mediates the establishment and drug resistance of MLL leukemic stem cells. *Cancer Cell* **18**: 606–618, 2010
- 40) **Chikazawa N, Tanaka H, Tasaka T et al:** Inhibition of Wnt signaling pathway decreases chemotherapy-resistant side-population colon cancer cells. *Anticancer Res* **30**: 2041–2048, 2010
- 41) **Lim JC, Kania KD, Wjesuriya H et al:** Activation of  $\beta$ -catenin signalling by GSK-3 inhibition increases p-glycoprotein expression in brain endothelia cells. *J Neurochem* **106**: 1855–1865, 2008
- 42) **Stein U, Fleuter C, Siegel F et al:** Impact of mutant  $\beta$ -catenin on ABCB1 expression and therapy response in colon cancer cells. *Br J Cancer* **106**: 13395–13405, 2012
- 43) **Corrêa S, Binato R, Rocher BD et al:** Wnt/ $\beta$ -catenin pathway regulates *ABCB1* transcription in chronic myeloid leukemia. *BMC Cancer* **12**: 303–313, 2012
- 44) **Wang YH, Takanashi M, Tsuji K et al:** Level of DNA topoisomerase II $\alpha$  mRNA predicts the treatment response of relapsed acute leukemic patients. *Leuk Res* **33**: 902–907, 2009
- 45) **Tanaka N, Wang YH, Shiseki M et al:** Inhibition of PRAME expression causes cell cycle arrest and apoptosis in leukemic cells. *Leuk Res* **35**: 1219–1225, 2011
- 46) **Chen CC, Gau JP, You JY et al:** Prognostic significance of  $\beta$ -catenin and topoisomerase II $\alpha$  in de novo acute myeloid leukemia. *Am J Hematol* **84**: 87–92, 2009
- 47) **Yamada T, Takaoka AS, Naishiro Y et al:** Transactivation of the *multidrug resistance 1* gene by T-cell factor 4/ $\beta$ -catenin complex in early colorectal carcinogenesis. *Cancer Res* **60**: 4761–4766, 2000
- 48) The Wnt homepage: <http://www.stanford.edu/group/nusselab/cgi-bin/wnt>
- 49) **Flahaut M, Meier R, Coulon A et al:** The Wnt receptor FZD1 mediates chemoresistance in neuroblastoma through activation of the Wnt/ $\beta$ -catenin pathway. *Oncogene* **28**: 2245–2256, 2009
- 50) **Zhang H, Zhang X, Wu X et al:** Interference of Frizzled 1 (FZD1) reverses multidrug resistance in breast cancer cells through the Wnt/ $\beta$ -catenin pathway. *Cancer Lett* **323**: 106–113, 2012
- 51) **Wang YH, Imai Y, Kitagawa Y et al:** Wnt receptor frizzled-1 silencing resulted a decrease of

- MDR1/P-glycoprotein in leukemic cell lines. *Jpn J Clin Hematol (JSH Annual Meeting Abstracts)* **53**: 1190, 2012
- 52) **Gazit A, Yaniv A, Bafico A et al**: Human frizzled 1 interacts with transforming Wnts to transduce a TCF dependent transcriptional response. *Oncogene* **18**: 5959–5966, 1999
- 53) **Henderson WR Jr, Chi EY, Ye X et al**: Inhibition of Wnt/ $\beta$ -catenin/CREB binding protein (CBP) signaling reverses pulmonary fibrosis. *PNAS* **32**: 14309–14314, 2010
- 54) **Fujii N, You L, Xu Z et al**: An antagonist of dishevelled protein-protein interaction suppresses  $\beta$ -catenin-dependent tumor cell growth. *Cancer Res* **67**: 573–579, 2007
- 55) **Takahashi-Yanaga F, Kahn M**: Targeting Wnt signaling: can we safely eradicate cancer stem cells? *Clin Cancer Res* **16**: 3153–3162, 2010
- 56) **Curtin JC, Lorenzi MV**: Drug discovery approaches to target Wnt signaling in cancer stem cells. *Oncotarget* **1**: 563–577, 2010
-