

# Vía de señalización Wnt y cáncer cervicouterino

Moisés Ramos-Solano,<sup>a,b</sup> Monserrat Álvarez-Zavala,<sup>a,b</sup> Beatriz García-Castro,<sup>b</sup> Luis Felipe Jave-Suárez,<sup>a</sup> Adriana Aguilar-Lemmarroy<sup>a</sup>

## Wnt signalling pathway and cervical cancer

Cervical cancer (CC) is a pathology that arises in the cervical epithelium, whose major cause of risk is human papillomavirus (HPV) infection. Due to the fact that HPV infection *per se* is not enough to generate a carcinogenic process, it has been proposed that alterations in the Wnt signaling pathway are involved in cervical carcinogenesis. The Wnt family consists of 13 receptors and 19 ligands, and it is highly conserved phylogenetically due to its contribution in different biological processes, such as embryogenesis and tissue regeneration. Additionally, this signaling pathway modulates various cellular functions, for instance: cell proliferation, differentiation, migration and cell polarity. This paper describes the Wnt signaling pathways and alterations that have been found in members of this family in different cancer types and, especially, in CC.

### Keywords Palabras clave

Wnt receptors	Receptores Wnt
Cervical intraepithelial neoplasia	Neoplasia intraepitelial cervical
Papilloma	Papiloma

## Generalidades de la vía de señalización Wnt

Los ligandos Wnt comprenden una gran familia de proteínas que activan un variado grupo de vías de señalización, por medio de las cuales se regulan diversos procesos vinculados con el desarrollo y la fisiología, como la embriogénesis, la polaridad, la migración y la diferenciación celular.<sup>1</sup> Sin embargo, un mal funcionamiento de esta vía tiene importantes consecuencias en la carcinogénesis y el desarrollo de enfermedades degenerativas; asimismo, esta vía se ha relacionado en otros procesos como la inflamación y la regeneración de heridas.<sup>2-4</sup> El término Wnt deriva de la contracción de los nombres *Wingless* e *Integrase-1*. Con el primero se acuñó al gen cuya ausencia genera un fenotipo sin alas en la *Drosophila melanogaster*, y el segundo dio el nombre al gen que, según se reportó, se integraba al virus de tumor mamario murino en los ratones; con los años se determinó que ambos genes eran homólogos, por lo que se les renombró Wnt (de *Wingless-related integration site*).<sup>5,6</sup> Se han identificado 19 genes Wnt en mamíferos, los cuales codifican para proteínas ricas en cisteína, susceptibles a modificaciones post-traduccionales como glicosilaciones y palmitolaciones, que les confieren características hidrofóbicas, por lo que al ser secretadas proveen señales autócrinas y parácrinas que median la comunicación entre células.<sup>5</sup>

La familia de ligandos Wnt incluye miembros filogenéticamente conservados; esto hace que mantengan similitudes importantes que permiten la interacción indiscriminada de estos ligandos con diferentes receptores. Los receptores mejor caracterizados para los ligandos Wnt son los de la familia *frizzled* (FZD); sin embargo, otros receptores/co-receptores han sido involucrados en la activación de la señalización de esta vía, incluyendo la proteína relacionada con LDL (LRP), el receptor transmembranal tirosina cinasa (ROR), el receptor similar a tirosina cinasa (RYK) y la proteína tirosina cinasa 7 (PTK7).<sup>3,7-9</sup>

## Vía canónica: Wnt/beta-catenina

Existen varias vías de señalización de Wnt. Entre ellas, la vía canónica (denominada así por ser la primera

<sup>a</sup>Centro de Investigación Biomédica de Occidente (CIBO), Instituto Mexicano del Seguro Social

<sup>b</sup>Doctorado en Ciencias Biomédicas, Universidad de Guadalajara

Guadalajara, Jalisco, México

Comunicación con: Adriana Aguilar-Lemmarroy

Teléfono (33) 3617 0060, extensión 31926

Correo electrónico: adry.aguilar.lemmarroy@gmail.com

Recibido: 22/10/2014

Aceptado: 15/05/2015

El cáncer cervicouterino (CaCU) es una patología que se origina en el epitelio del cuello del útero, cuya principal causa de riesgo es la infección por el virus de papiloma humano (VPH). Sin embargo, dado que la infección por VPH *per se* no es suficiente para generar un proceso carcinogénico, se ha propuesto que alteraciones en la vía de señalización Wnt están involucradas en la carcinogénesis cervical. La familia Wnt está compuesta por 13 receptores y 19 ligandos, y se encuentra altamente conservada filogenéticamente,

puesto que contribuye en diversos procesos biológicos, como la embriogénesis y la regeneración de tejidos. Adicionalmente, esta familia modula diferentes funciones celulares, como la proliferación celular, la diferenciación, la migración y la polaridad celular. En la presente revisión se describen las vías de señalización de Wnt, así como las alteraciones que han sido encontradas en miembros de esta familia en diferentes patologías cancerosas y especialmente en el cáncer cervicouterino.

## Resumen

descrita y la mejor caracterizada para esta familia de ligandos) es considerada relevante en el desarrollo de cáncer. En esta vía, el papel principal lo desempeña el co-factor transcripcional beta-catenina. Usualmente, en ausencia de una señal, la beta-catenina se encuentra asociada a dos proteínas: E-cadherina, en las uniones adherentes, y a un complejo denominado degradosoma, en el citoplasma. El degradosoma está formado por las proteínas APC, Axina y GSK3-beta; su función es la de fosforilar la beta-catenina en los residuos de serina/treonina de su extremo amino-terminal, con el fin de generar sitios de reconocimiento para beta-TRCP e inducir su ubiquitilación y posterior degradación en el proteasoma. De esta manera, los niveles de beta-catenina se encuentran controlados, permitiendo solo su acción a nivel de las uniones adherentes. La ausencia de beta-catenina en el núcleo provoca que el factor de transcripción TCF se una a un complejo represor transcripcional que inhibe la expresión de los genes blanco de la vía canónica Wnt.<sup>10</sup>

La activación de la vía canónica es iniciada en la membrana celular tras la interacción de un ligando Wnt con su receptor FZD/LRP; esta interacción permite a su vez la asociación de la proteína DVL al receptor FZD y el secuestro del complejo APC-Axina-GSK3-beta. La incorporación de este complejo a DVL-FZD promueve la actividad cinasa de GSK3-beta sobre el co-receptor LRP5/6 en la serina de los dominios PPPSP y a sus alrededores por la caseína cinasa I $\gamma$  (CkI $\gamma$ ). Estas modificaciones reclutan a la proteína axina hacia los residuos fosforilados del co-receptor LRP5/6, que provoca la disociación del complejo de degradación y promueve la liberación de beta-catenina, la cual se acumula sucesivamente en el citoplasma, para luego migrar al núcleo.<sup>2</sup> Ya en el núcleo, la beta-catenina activa la transcripción de múltiples genes en colaboración con co-factores transcripcionales, como TCF/LEF, p300/CBP, Brg1, parafibromina/Hyrax y PYGO, este último a través de la unión con BCL9/legless. Muchos de los genes que

activa la beta-catenina están implicados en la regulación de procesos fundamentales, como la proliferación, la adhesión celular y la apoptosis.<sup>2,11</sup>

## Vías Wnt no canónicas

Actualmente se han descrito diversas vías Wnt no canónicas; todas ellas se caracterizan por no requerir la estabilización de la beta-catenina para culminar su cascada de señalización. La activación de las diferentes vías no canónicas se encuentra determinada por los distintos receptores a los que pueden unirse los ligandos WNT.<sup>9,12,13</sup> Se ha descrito de manera general que la interacción de ligandos Wnt con receptores FZD, RYK, ROR y MUSK (receptor músculo-esquelético) activan vías no canónicas.<sup>12,14,15</sup>

Entre las vías no canónicas se encuentran la vía de la polaridad celular planar (PCP), la Wnt-RAP1, la Wnt-ROR2, Wnt-PKA, Wnt-GSK3MT, Wnt-zPKC, Wnt-RYK, Wnt-mTOR y la vía Wnt/calcio.<sup>14</sup> Las más estudiadas a la fecha son Wnt-PCP y Wnt/calcio, en la que intervienen moléculas efectoras como proteínas G (RHOA, RHOU, RAC y CDC42), la cinasa terminal c-Jun, la cinasa tipo Nemo y el factor nuclear de células T activadas (NFAT).<sup>16</sup>

## Vía Wnt-calcio

De acuerdo con diversos reportes publicados, los receptores FZD, ROR y RYK se encuentran unidos a proteínas G heterodiméricas, las cuales pueden activarse en la unión del ligando Wnt a su receptor; estas proteínas G activan a su vez a la fosfolipasa C (PLC), lo que conlleva a un modesto incremento en la concentración de algunas moléculas de señalización intracelular como fosfatidil inositol 1,4,5-tri-fosfato (IP3), 1,2 diacilglicerido (DAG) y Ca2P.<sup>14,16,17</sup>

La vía de señalización desencadenada por IP3 produce un rápido aumento del calcio libre intracitosólico, debido a que IP3 es capaz de difundir a través del citosol, hasta llegar al retículo endoplásmico liso (REL), en donde se une a su receptor, estimulando la liberación de calcio de los depósitos que se encuentran en REL. El calcio libre en citoplasma puede promover la polarización celular o bien unirse a la calmodulina dependiente de cinasa II (CaMKII), formando un complejo que activa una enzima serina/treonina fosfatasa, denominada calcineurina, la cual es fundamental en la activación del factor nuclear asociado a las células T (NFAT). A su vez, CaMKII puede activar las cinasas TAK-1-NLK que se encargan de inhibir la vía canónica de Wnt. De manera alterna, el complejo Wnt-FZD-proteína G estimula las cinasas p38 y activa la fosfodiesterasa 6 (PDE6), que hidroliza el GMP cíclico (cGMP), lo que resulta en la inactivación de las proteína-cinasas G, aumentando el calcio citoplasmático y la posterior activación del sistema calmodulina/calcineurina.<sup>16,17</sup> La activación del factor NFAT puede aumentar la expresión de varios genes en neuronas, células de músculo cardíaco y esquelético, así como genes proinflamatorios en linfocitos.<sup>14</sup>

Por su parte el DAG es una molécula hidrofóbica que se mantiene en membrana plasmática una vez que se ha formado como producto de la degradación de fosfolípido de membrana. La combinación de DAG y calcio intracitosólico promueve el cambio de conformación de PKC (proteína cinasa C) en la membrana, activándola y haciendo que su región catalítica sea libre de unirse al sustrato. La PKC activa las cinasas de IκB, las cuales fosforilan aminoácidos serina de los inhibidores del factor nuclear κB (NF-κB), permitiendo su liberación y su traslado al núcleo, donde contribuye a la activación de la transcripción de genes de citocinas, quimiocinas y proliferación.<sup>14,16,17</sup>

Esta vía ha sido fundamental en el desarrollo de la polaridad dorsoventral y en la extensión convergente del movimiento, así como en la formación de varios órganos.<sup>14</sup> Asimismo, alteraciones en esta vía han sido correlacionadas con procesos neoplásicos, ya que tiene la capacidad de inhibir la función nuclear de beta-catenina. Debido a que antagoniza la vía canónica, la vía Wnt/calcio ha sido considerada como una vía supresora de tumor.<sup>14</sup> Existen diversos estudios que reportan que la activación de la vía Wnt/calcio disminuye la proliferación de las células tumorales, como el neuroblastoma, el carcinoma de células escamosas en esófago, el linfoma mieloide agudo, el linfoma linfoblástico agudo, el cáncer de mama y el carcinoma de colon. Por lo tanto se ha sugerido que la activación de esta vía puede ser importante para la regresión tumoral y la disminución del crecimiento del tumor.<sup>14</sup>

## Vía de polaridad planar celular

La vía de polaridad celular planar se refiere a la polarización de las células en una capa epitelial, lo que ocurre por ejemplo durante la orientación de cilios o pelos. La polaridad planar es transmitida localmente de célula a célula y es dependiente de los receptores FZD y la proteína Dishevelled (Dsh). Esta vía también puede regular la polaridad celular en un contexto no epitelial, como en la extensión convergente en la gastrulación y en el control de la orientación de grupos de células en el ojo.<sup>2</sup>

Los eventos que rigen la señalización de esta vía comienzan tras la unión de Wnt-FZD, que permite el reclutamiento de Dsh y su posterior fosforilación por la casein-cinasa II (CK2), lo cual convierte a esta proteína en un adaptador para un complejo de señalización análogo a Grb-2, promoviendo así la activación de Ras y Rac, en donde ambas se encargan de la activación de la vía de las MAPK-cinasas que culmina en la activación de la cinasa N-terminal de c-Jun (JNK). Esta última fosforila a c-Jun, promoviendo su translocación al núcleo, en donde forma parte del factor transcripcional AP-1 al unirse a Fos.<sup>18</sup> Las GTPasas de la familia de Rho también se encuentran involucradas en esta vía de señalización, pues al activarse esta proteína promueven la reorganización del citoesqueleto. La activación de esta vía regula los movimientos polarizados de la célula y la polaridad planar de células epiteliales.<sup>18</sup>

## Wnt y cáncer

La asociación de los componentes de la familia Wnt con procesos carcinogénicos comienza desde que esta familia fue descrita, pues en el reporte de Nusse y Varmus de 1982 se señala que la activación de Wnt1 (en ese entonces llamado int1) concordaba con la inducción de tumor de mama por virus de tumor mamar.<sup>19</sup> Esta asociación se hizo mayor cuando se descubrió que el gen supresor de tumor APC (Adenomatous Polyposis Coli) se asoció con una regulación negativa de la función de beta-catenina y que una mutación en este gen estaba asociada con una pérdida de la función y con una condición familiar heredable llamada poliposis adenomatosa familiar, que provoca a una edad temprana la generación de polipos en el intestino, los cuales degeneran en cáncer colorectal.<sup>20</sup> Se descubrió también que este efecto se generaba por la estabilización de beta-catenina en el citoplasma y su posterior translocación al núcleo, donde funciona como co-factor de transcripción.

Se han descrito diferentes genes blanco para la vía canónica Wnt implicados en la progresión de un proceso tumoral. Uno de los principales genes regulados

positivamente son los de la familia MYC ( c-myc y n-myc), que codifican para una serie de factores de transcripción que regulan la expresión de diferentes genes implicados en la proliferación celular.<sup>21</sup> Otro gen regulado positivamente es *CCND1* (Ciclina D1), el cual codifica para una cinasa que genera la progresión del ciclo celular de una fase G1 a una fase S.<sup>22,23</sup> La regulación positiva de estos genes hace que esta vía de señalización se encuentre activa en diferentes tipos de patologías cancerosas.

La estabilización de beta-catenina y por ende la activación de la vía canónica de Wnt puede generarse por diferentes alteraciones en los componentes de la vía de señalización. Una de estas alteraciones, como ya se mencionó, es la mutación en componente del complejo de degradación de beta-catenina como APC, lo que inhabilita la degradación de esta molécula. Otra manera como se genera esta estabilización es por mutaciones en el mismo gen de beta-catenina. Estas mutaciones afectan los sitios de reconocimiento del complejo de degradación, pero no afectan los sitios de unión a factores de transcripción como TCF/LEF.<sup>24</sup>

Se ha demostrado que existen modificaciones epigenéticas que contribuyen a una carcinogénesis, como se demostró en un reporte de Laird en 1995, en el que una supresión de la metiltransferasa inhibe la formación de pólipos en un modelo murino.<sup>25</sup> Fue tiempo después que se demostró que estas modificaciones actúan con mayor frecuencia a nivel de antagonistas de los ligandos Wnt,<sup>26,27</sup> aunque se ha reportado la participación de modificaciones epigenéticas en el silenciamiento de genes que codifican para ligandos asociados con una inhibición de la tumorigénesis, como Wnt7A (cuadro I).<sup>28</sup>

Existen diversos estudios que abordan a profundidad la expresión de los ligandos y receptores Wnt en diversos modelos celulares, como el reporte de Sercan *et al.*, en el que se determinó el perfil de expresión de estas moléculas en células hematopoyéticas.

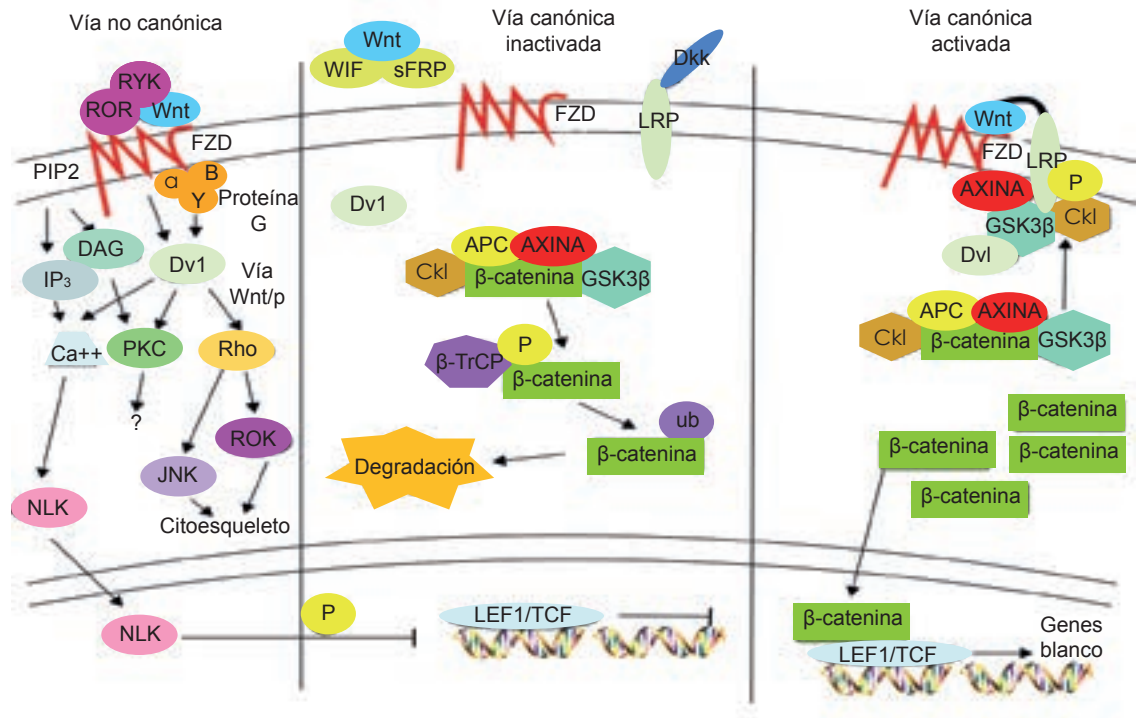
Este grupo encontró una expresión diferencial de estos componentes entre células de donadores sanos en comparación con líneas establecidas de leucemias, sugiriendo que los ligandos expresados en las líneas leucémicas podrían estar implicados en el mantenimiento de un estado proliferativo.<sup>29</sup> Recientemente también se ha determinado que la pérdida de expresión de los ligandos Wnt7a y Wnt4 es una característica de las células derivadas de leucemia (García-Castro, manuscrito en revisión).<sup>30</sup> Por otro lado, también se ha reportado que la expresión de ciertos ligandos (Wnt7A, Wnt3A y Wnt1) genera una transformación en células epiteliales de mama.<sup>31,32</sup> Estos hallazgos en conjunto permiten hipotetizar que el uso de diferentes ligandos en el tratamiento de diversas patologías cancerosas podría ser de utilidad en la eliminación de estas enfermedades.

### Wnt y cáncer cervicouterino

En específico, la relación que existe entre los miembros de la familia Wnt y la carcinogénesis cervical se encuentra menos estudiada que otros tipos de cáncer. Uno de los reportes más importantes en esta área es el de Uren *et al.*, en el cual se describe que la activación de la vía canónica Wnt en queratinocitos transfectados con las oncoproteínas E6 y E7 del VPH genera la adopción de un fenotipo maligno. Cabe destacar que la infección del VPH *per se* no es suficiente para la transformación, por lo que ellos proponen que una de las segundas modificaciones de importancia en la carcinogénesis cervical es la modificación de componentes de la vía Wnt.<sup>33</sup> Estos resultados se sustentan con el reporte de Bulut *et al.*, en el que se determinó que la activación de la vía Wnt en un modelo murino en presencia de las oncoproteínas E6 y E7 del VPH acelera la progresión de una carcinogénesis cervical.<sup>34</sup> Además, se piensa que existe una interacción

**Cuadro I** Modificaciones epigenéticas que contribuyen a la carcinogénesis y que han sido reportadas en la literatura

Gen Afectado	Alteración ADN/ARNm	Resultado	Tipo de Cáncer	Referencia
<i>CTNNB1</i> (β-catenina)	Delección	Mayor estabilidad	Hígado	24
<i>APC</i>	Truncada	Actividad reducida	Colon	20
<i>Axina I y II</i>	Truncada	Actividad reducida	Hígado	3
<i>GSK3β</i>	Delección	Cinasa inactiva	Leucemia	4
<i>LRP5</i>	Delección	No represión por DKK1	Mama	5
<i>TCF7L2 (TCF4)</i>	Truncada	Mayor actividad	Colon	6
<i>WNT7A</i>	Metilación del promotor	Actividad reducida	Pulmón	7



**Figura 1** Vías de señalización canónica y no canónica de Wnt que muestran las moléculas involucradas en su estado inactivado y activado

directa de la oncoproteína E6 con diferentes moléculas que disminuyen la actividad de las proteínas que integran el complejo de degradación de beta-catenina y por ende la estabilización de esta molécula y su función como co-factor de transcripción.<sup>35</sup> Otro grupo de trabajo reportó que proteínas E6 de variantes de VPH-18 no europeas modulan la vía de señalización Wnt.<sup>36</sup> Estos reportes en conjunto refuerzan aún más la posibilidad de que una modificación en los componentes de la vía Wnt sea necesaria para la progresión del cáncer cervical.

Uno de los reportes que estudian más a profundidad el rol de ligandos Wnt es el de Carmon y Loose, en el que determinan que Wnt7A induce la activación de diferentes vías de señalización, dependiendo del receptor FZD al que se una, mediante FZD5 activa la vía canónica y mediante FZD10 la vía PCP en cáncer endometrial, y que este efecto se ve regulado por el receptor soluble (sFRP4), lo que demuestra que los ligandos Wnt tienen la capacidad de generar un efecto completamente diferente con el cambio de un solo componente.<sup>37</sup>

Se ha reportado que uno de los genes blanco de la vía canónica Wnt es el gen COX2 (ciclo oxigenasa 2), el cual es un gen que se ha descrito como proinflamatorio y que probablemente, junto con la producción de citocinas proinflamatorias por parte de los macrófagos en el microambiente tumoral, esté

contribuyendo a un estado sostenido de inflamación (crónico) que mejoraría la progresión tumoral.<sup>38,39</sup> Esto se ha descrito como un sello de la progresión de un tumor.<sup>40</sup> Nuestro grupo de trabajo ha demostrado que líneas celulares derivadas del CaCU expresan pobremente Wnt4 y Wnt7a, y que una restauración de la expresión de estos ligandos induce una inhibición significativa de la proliferación celular (Ramos-Solano *et al.*; en revisión).

Debido a que se ha reportado la presencia de algún tipo viral de VPH en el 99.7 % de las muestras de CaCU<sup>41</sup> y que se ha demostrado la participación de la infección del VPH en la modulación de los componentes de la vía Wnt, alteraciones en esta vía podrían considerarse un sello de la carcinogénesis cervical, así como blancos o agentes terapéuticos en el tratamiento de esta patología.

Estudios más profundos en CaCU de los mecanismos regulados por componentes de la familia Wnt podrían dar resultados prometedores en el posible uso de miembros de esta familia, ya sean como marcadores de pronóstico o tratamiento.

**Declaración de conflicto de interés:** los autores han completado y enviado la forma traducida al español de la declaración de conflictos potenciales de interés del Comité Internacional de Editores de Revistas Médicas, y no fue reportado alguno en relación con este artículo.

## Referencias

1. Nusse R. Wnt signaling and stem cell control. *Cell Res.* 2008;18:523-7. doi:cr200847 [pii] 10.1038/cr.2008.47
2. Fuerer C, Nusse R, ten Berge D. Wnt signalling in development and disease. Max Delbrück Center for Molecular Medicine meeting on Wnt Signaling in Development and Disease. *EMBO reports.* 2008;9:134-8. doi:10.1038/sj.embor.7401159
3. Chien AJ, Moon RT. WNTS and WNT receptors as therapeutic tools and targets in human disease processes. *Front Biosci.* 2007;12:448-57. doi:2074 [pii]
4. Maiese K, Li F, Chong ZZ, Shang YC. The Wnt signaling pathway: aging gracefully as a protection-ist? *Pharmacol Ther.* 2008;118:58-81. doi:10.1016/j.pharmthera.2008.01.004S0163-7258(08)00017-X [pii]
5. Staal FJ, Clevers HC. WNT signalling and haematopoiesis: a WNT-WNT situation. *Nat Rev Immunol.* 2005;5:21-30. doi:nri1529 [pii] 10.1038/nri1529
6. Nusse R, Varmus H. Three decades of Wnts: a personal perspective on how a scientific field developed. *EMBO J.* 2012;31:2670-84. doi:10.1038/emboj.2012.146 emboj2012146 [pii]
7. Sidow A. Diversification of the Wnt gene family on the ancestral lineage of vertebrates. *Proceedings of the National Academy of Sciences.* 1992;89:5098-102.
8. Nusse R. Wnt Signaling. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology.* 2012;4; a011163-a011163, doi:10.1101/cshperspect.a011163
9. Gordon MD. Wnt Signaling: Multiple Pathways, Multiple Receptors, and Multiple Transcription Factors. *Journal of Biological Chemistry.* 2006;281:22429-33. doi:10.1074/jbc.R600015200
10. Barker N, Clevers H. Mining the Wnt pathway for cancer therapeutics. *Nat Rev Drug Discov.* 2006;5:997-1014. doi:nrd2154 [pii] 10.1038/nrd2154 (2006).
11. Huelsken J, Behrens J. The Wnt signalling pathway. *J Cell Sci.* 2022;115: 3977-8.
12. MacDonald BT, Tamai K, He X. Wnt/ $\beta$ -Catenin Signaling: Components, Mechanisms, and Diseases. *Developmental Cell.* 2009;17:9-26. doi:10.1016/j.devcel.2009.06.016
13. Van Amerongen R, Nusse R. Towards an integrated view of Wnt signaling in development. *Development.* 2009;136:3205-14. doi:10.1242/dev.033910
14. De A. Wnt/Ca<sup>2+</sup> signaling pathway: a brief overview. *Acta Biochimica et Biophysica Sinica.* 2011;43:745-56. doi:10.1093/abbs/gmr079
15. Niehrs C. The complex world of WNT receptor signalling. *Nature Reviews Molecular Cell Biology.* 2012;13:767-9. doi:10.1038/nrm3470
16. Katoh M. WNT Signaling Pathway and Stem Cell Signaling Network. *Clinical Cancer Research.* 2007;13:4042-5. doi:10.1158/1078-0432.ccr-06-2316
17. Kokolus K, Nemeth MJ. Non-canonical Wnt signaling pathways in hematopoiesis. *Immunol Res.* 2010;46:155-64. doi:10.1007/s12026-009-8116-7
18. Rao TP, Kuhl M. An Updated Overview on Wnt Signaling Pathways: A Prelude for More. *Circulation Research.* 2010;106:1798-806. doi:10.1161/circresaha.110.219840
19. 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;31:99-109.
20. Clements WM, Lowy AM, Groden J. Adenomatous Polyposis Coli/ $\beta$ -Catenin Interaction and Downstream Targets: Altered Gene Expression in Gastrointestinal Tumors. *Clinical Colorectal Cancer.* 2003;3:113-20. doi: http://dx.doi.org/10.3816/CCC.2003.n.018
21. He TC, Sparks AB, Rago C, Hermeking H, Zawel L, da Costa LT, et al. Identification of c-MYC as a Target of the APC Pathway. *Science.* 1998;281:1509-12. doi:10.1126/science.281.5382.1509
22. Shtutman M, Zhurinsky J, Simcha I, Albanese C, D'Amico M, et al. The cyclin D1 gene is a target of the  $\beta$ -catenin/LEF-1 pathway. *Proceedings of the National Academy of Sciences.* 1999;96:5522-7. doi:10.1073/pnas.96.10.5522
23. Ohtsuka OMF.  $\beta$ -Catenin regulates expression of cyclin D1 in colon carcinoma cells. *Nature.* 1999;398:4. doi:10.1038/18884
24. Polakis P. Wnt Signaling in Cancer. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology.* 2012;4:a008052-a008052. doi:10.1101/cshperspect.a008052 (2012).
25. Laird PW, Jackson-Grusby L, Fazeli A, Dickinson SL, Jung WE, et al. Suppression of intestinal neoplasia by DNA hypomethylation. *Cell.* 1995;81: 197-205.
26. Kongkham PN, Northcut PA, Croul SE, Smith CA, Taylor MD, Rutka JT. The SFRP family of WNT inhibitors function as novel tumor suppressor genes epigenetically silenced in medulloblastoma. *Oncogene.* 2010;29:7. doi:10.1038.
27. Suzuki H, Toyota M, Carraway H, Gabrielson E, Ohmura T, Fujikane T, et al. Frequent epigenetic inactivation of Wnt antagonist genes in breast cancer. *British Journal of Cancer.* 2008;98:1147-56. doi:10.1038/sj.bjc.6604259
28. Kondratov AG, Kvasha SM, Stoliar LA, Romanenko AM, et al. Alterations of the WNT7A Gene in Clear Cell Renal Cell Carcinomas. *PLoS ONE.* 2012;7: e47012. doi:10.1371/journal.pone.0047012
29. Sercan Z, Pehlivan M, Sercan HO. Expression profile of WNT, FZD and sFRP genes in human hematopoietic cells. *Leukemia Research.* 2010;34:946-9. doi: http://dx.doi.org/10.1016/j.leukres.2010.02.009
30. Ochoa-Hernández AB, Ramos-Solano M, Meza-Canales ID, García-Castro B, Rosales-Reynoso MA, Rosales-Aviña JA, et al. Peripheral T-lymphocytes express WNT7A and its restoration in leukemia-derived lymphoblasts inhibits cell proliferation. *BMC Cancer.* 2012;12:60. doi:10.1186/1471-2407-12-60
31. Shimizu H, Julius MA, Giarre M, Zheng Z, Brown AM, Kitajewski J. Transformation by Wnt family proteins correlates with regulation of beta-catenin. *Cell Growth Differ.* 1997;8:1349-58.
32. Wong GT, Gavin BJ, McMahon AP. Differential transformation of mammary epithelial cells by Wnt genes. *Mol Cell Biol.* 1994;14(9):6278-86.
33. Üren A, Fallen S, Yuan H, Usubutun A, Kucukali T, Schlegel R, et al. Activation of the Canonical Wnt Pathway during Genital Keratinocyte Transformation: A Model for Cervical Cancer Progression. *Can-*

- cer Research. 2005;65:6199-206. doi:10.1158/0008-5472.can-05-0455
34. Bulut, G, Fallen S, Beauchamp EM, Drebing LE, Sun J, Berry DL, et al. Beta-Catenin Accelerates Human Papilloma Virus Type-16 Mediated Cervical Carcinogenesis in Transgenic Mice. PLoS ONE. 2011;6:e27243. doi:10.1371/journal.pone.0027243
  35. Bonilla-Delgado, J, Bulut G, Liu X, Cortlores-Maldonado C -aés-Malagón EM, Schlegel R, Flores-Maldonado C, et al. The E6 Oncoprotein from HPV16 Enhances the Canonical Wnt/ $\beta$ -Catenin Pathway in Skin Epidermis In Vivo. Molecular Cancer Research 10, 250-258, doi:10.1158/1541-7786.mcr-11-0287 (2012).
  36. Fragoso-Ontiveros, V. et al. Gene expression profiles induced by E6 from non-European HPV18 variants reveals a differential activation on cellular processes driving to carcinogenesis. Virology 432, 81-90, doi:http://dx.doi.org/10.1016/j.virol.2012.05.029 (2012).
  37. Carmon KS, Loose DS. Secreted Frizzled-Related Protein 4 Regulates Two Wnt7a Signaling Pathways and Inhibits Proliferation in Endometrial Cancer Cells. Molecular Cancer Research. 2008;6:1017-28. doi:10.1158/1541-7786.mcr-08-0039
  38. George SJ. Wnt Pathway: A New Role in Regulation of Inflammation. Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology. 2008;28:400-2. doi:10.1161/atvbaha.107.160952
  39. Howe LR, Subbaramaiah K, Chung WJ, Dannenberg AJ, Brown AMC. Transcriptional Activation of Cyclooxygenase-2 in Wnt-1-transformed Mouse Mammary Epithelial Cells. Cancer Research. 1999;59:1572-7.
  40. Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of Cancer: The Next Generation. Cell. 2011;144:646-74.
  41. Zur Hausen H. Human papillomavirus and cervical cancer. The Indian Journal of Medical Research. 2009;130:209.