

# СИГНАЛЬНЫЙ ПУТЬ Wnt И ЕГО ЗНАЧЕНИЕ ДЛЯ РАЗВИТИЯ МЕЛАНОМЫ

УДК 616–006.81–07

Поступила 21.05.2012 г.

© **К.В. Куликова**, младший научный сотрудник лаборатории генной терапии<sup>1</sup>;  
**А.В. Кибардин**, к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории генной терапии<sup>1</sup>; исследователь<sup>2</sup>;  
**Н.В. Гнучев**, д.б.н., профессор, член-корреспондент РАН, главный научный сотрудник  
 лаборатории молекулярной иммуногенетики рака<sup>1</sup>;  
**Г.П. Георгиев**, д.б.н., профессор, академик, советник РАН, научный руководитель<sup>1</sup>;  
**С.С. Ларин**, к.б.н., зав. лабораторией генной терапии<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУ науки Институт биологии гена Российской академии наук, Москва, 119334, ул. Вавилова, 34/5;

<sup>2</sup>Университет Осло, Центр медицинских исследований в России, Москва, 119334, ул. Вавилова, 34/5

Меланома характеризуется высокой способностью к метастазированию. При ее метастазировании активируются те же внутриклеточные программы, которые контролируют процессы эмбрионального развития. Считается, что одним из основных сигнальных каскадов, нарушения в регуляции которых приводят к формированию и развитию меланомы, является сигнальный путь Wnt. Данный сигнальный путь включает в себя сложную сеть внутриклеточных взаимодействий. Его лиганды способны запускать как минимум три различные цепи передачи сигнала: каноническую и две неканонические. В соответствии с современными представлениями каноническая ветвь сигнального пути Wnt задействована в контроле пролиферации и дифференцировки клеток. Неканонические сигнальные пути Wnt, напротив, как правило, влияют на организацию цитоскелета и клеточную подвижность. На настоящий момент предполагают, что канонический и неканонические сигнальные каскады Wnt воздействуют на разные этапы развития опухоли. Канонический сигнальный путь Wnt участвует в формировании меланомы, в то время как неканонические ветви пути передачи сигнала от белков Wnt вовлечены в метастазирование.

**Ключевые слова:** сигнальный путь Wnt, меланома, метастазирование, β-катенин.

## English

## Wnt signaling pathway and its significance for melanoma development

**K.V. Kulikova**, Junior Research Scientist, Laboratory of Gene Therapy<sup>1</sup>;  
**A.V. Kibardin**, PhD, Senior Research Scientist, Laboratory of Gene Therapy<sup>1</sup>; Research Fellow<sup>2</sup>;  
**N.V. Gnuchev**, D.Bio.Sc., Professor, Correspondent Member of RAS, Chief Research Scientist,  
 Laboratory of Molecular Immunogenetics of Cancer<sup>1</sup>;  
**G.P. Georgiev**, D.Bio.Sc., Professor, Academician, RAS advisor, Research Supervisor<sup>1</sup>;  
**S.S. Larin**, PhD, Head of Laboratory of Gene Therapy<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Institute of Gene Biology, Russian Academy of Sciences, Vavilova St., 34/5, Moscow, Russian Federation, 119334;

<sup>2</sup>University of Oslo, Center for Medical Studies, Moscow, Vavilova St., 34/5, Moscow, Russian Federation, 119334

Melanoma is characterized by its high metastatic propensity. Melanoma metastasis is associated with an activation of signaling pathways that are responsible for embryogenesis. Wnt signaling pathway is considered as one of the key signaling cascades, whose aberrant activation results in melanoma development. Wnt signaling includes a complex network of intracellular interactions. Its ligands are able to initiate at least three signal transduction pathways: canonical and two noncanonical. According to modern views, canonical branch of Wnt signaling pathway is involved in cell proliferation and differentiation. Noncanonical Wnt signaling pathways, on the contrary, control cytoskeleton organization

Для контактов: Куликова Ксения Валерьевна, тел. раб. 8(499)135-99-70; тел. моб. +7 903-188-87-18; e-mail: kulikova@genebiology.ru

and cell motility. Currently, canonical and noncanonical Wnt signaling cascades are supposed to affect different stages of tumor progression. Canonical Wnt signaling pathway contributes to melanoma formation, while noncanonical branches of Wnt signal transduction are involved in metastasis.

**Key words:** Wnt signaling pathway, melanoma, metastasis,  $\beta$ -catenin.

## Лиганды и рецепторы сигнального пути Wnt

Гены, кодирующие белки семейства Wnt, идентифицированы в геноме как позвоночных, так и беспозвоночных [1]. У человека семейство Wnt насчитывает 19 представителей. Все белки Wnt — это сильно модифицированные гликопротеины размером около 40 кДа, которые обладают чертами, характерными для секретируемых факторов роста [2]. Полагают, что для их биологической активности крайне важны посттрансляционные липидные модификации. Обработка ферментом, удаляющим остатки пальмитиновой кислоты, снижает гидрофильность и сигнальную активность лигандов Wnt [3].

Для передачи сигнала внутрь клетки белки семейства Wnt должны связать соответствующий рецептор или группу рецепторов на поверхности клетки. Среди многообразия трансмембранных молекул, выполняющих функцию рецепторов для Wnt-лигандов, первыми были открыты рецепторы семейства Frizzled (Fz). Белки Fz относят к обширной группе рецепторов, связанных с G-белками, или GPCR (G-protein-coupled receptors). Они осуществляют передачу сигнала внутрь клетки посредством влияния на гетеротримерные G-белки [4].

Помимо Fz-рецепторов на поверхности клетки расположены и другие белки, способные акцептировать лиганды Wnt. Среди них — семейство рецепторных молекул LRP (LDL-receptor-related protein). Белки LRP содержат единственный трансмембранный домен, который и обеспечивает передачу Wnt-сигнала внутрь клетки [5]. У позвоночных выделены два члена семейства LRP (LRP5 и LRP6), способные связывать белки Wnt. Фенотипы нокаутных по *LRP5/6* мышей имитируют эффекты от выключения экспрессии некоторых генов Wnt. Например, выключение экспрессии *LRP6* приводит к нарушению развития среднего и заднего отделов головного мозга (имитация блокирования *Wnt1*), смещению конечностей в вентральную сторону (*Wnt7a*) и увеличению объема нервной ткани (*Wnt3a*) [6]. LRP5/6 считается участником канонического сигнального каскада Wnt [5].

Передача сигнала от лигандов Wnt может также осуществляться с помощью альтернативных рецепторов Ror1, Ror2 и Ryk. Ror1 и Ror2 рассматривают как корецепторы неканонического сигнального пути Wnt. Являясь структурно близкими гомологами, они принадлежат к семейству рецепторных тирозиновых киназ RTK (receptor tyrosine kinase) [7]. Трансгенные мыши, дефектные по гену *Ror2*, демонстрируют фенотип, сходный с *Wnt5a*-делеционными мутантами [8].

Белок Ryk представляет собой атипичную рецепторную тирозиновую киназу, лишенную способности

фосфорилировать белки. Отсутствие киназной активности является следствием аминокислотной замены в эволюционно консервативных участках внутриклеточного киназного домена [9]. Согласно разным исследованиям, Ryk может связывать как канонические, так и неканонические Wnt-лиганды. Физическое взаимодействие между Ryk, Wnt1 и Wnt3a с последующей активацией канонического сигнального пути Wnt было продемонстрировано в клеточной линии HEK293T [10]. В процессе формирования нейронных связей в развивающемся мозге Ryk служит рецептором для лиганда неканонического сигнального пути Wnt — Wnt5a [11].

## Пути передачи сигнала, активируемые белками семейства Wnt

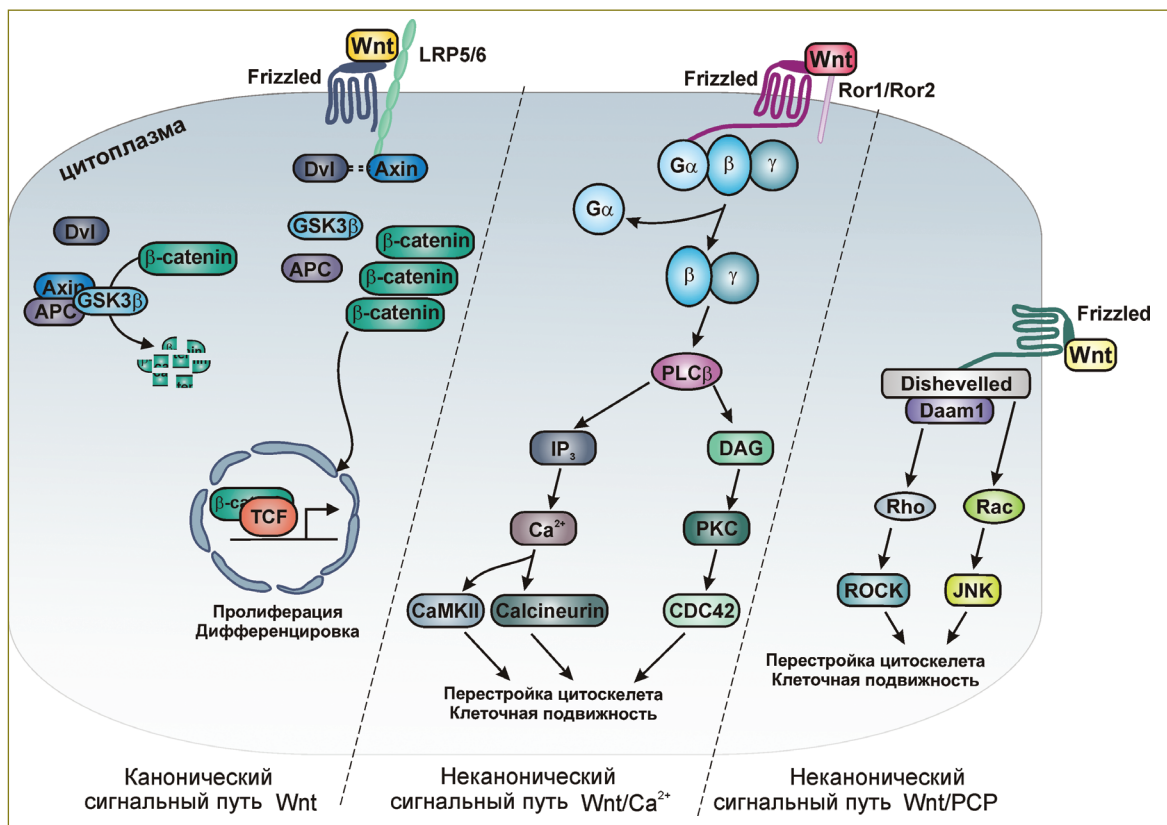
Согласно классическим представлениям, комбинация Wnt, его рецептора и корецептора определяет тип запускаемого сигнального каскада. На настоящий момент выделяют три сигнальных каскада, активируемых белками семейства Wnt. Среди них один канонический, или  $\beta$ -катениновый сигнальный путь, и два неканонических: Wnt/Ca<sup>2+</sup>-сигнальный путь и путь клеточной поляризации (PCP) (см. рисунок).

### Канонический сигнальный путь Wnt

Среди сигнальных каскадов, активируемых белками семейства, канонический сигнальный путь Wnt изучен наиболее подробно. Он задействован в широком спектре биологических процессов, начиная с эмбрионального развития и заканчивая регенерацией тканей взрослого организма. На клеточном уровне канонический сигнальный путь вовлечен в регуляцию пролиферации и дифференцировки, а также в поддержание популяции стволовых клеток [12].

Ключевым событием при активации канонического сигнального каскада Wnt является стабилизация  $\beta$ -катенина, в связи с чем данный сигнальный путь также называют  $\beta$ -катениновым сигнальным путем. В отсутствие активирующего сигнала концентрация  $\beta$ -катенина в ядре и цитоплазме поддерживается на сравнительно низком уровне. Это достигается при помощи специального белкового комплекса «деструкции», включающего белки Axin и APC (adenomatous polyposis coli) и протеинкиназу GSK-3 $\beta$  (glycogen synthase kinase 3 $\beta$ ). В составе комплекса  $\beta$ -катенин подвергается фосфорилированию, что служит сигналом для его последующей деградации [13].

Активация канонического сигнального пути Wnt связана с образованием тройственного комплекса, состоящего из Wnt-лиганда, рецептора из семейства Fz и корецептора LRP5/6 [5]. Формирование тройственного



Пути передачи сигнала, активируемые белками семейства Wnt. Пояснения к рисунку — в тексте

комплекса приводит к транслокации на мембрану ряда белков, среди которых Disheveled (Dvl), Axin и GSK-3 $\beta$ , к разрушению комплекса «деструкции» и ингибированию фосфорилирования  $\beta$ -катенина [14]. Стабилизированный  $\beta$ -катенин накапливается в цитоплазме, после чего транслоцируется в ядро, где играет роль коактиватора транскрипции TCF/LEF-зависимых генов [13] (см. рисунок).

### Wnt/Ca<sup>2+</sup>-сигнальный путь

Ca<sup>2+</sup>-зависимый сигнальный путь, активируемый белками Wnt, включает цепь событий, связанных с освобождением ионов Ca<sup>2+</sup> из внутриклеточных хранилищ. Узнавание рецептора Fz лигандом Wnt приводит к диссоциации гетеротримерного G-белка на G $\alpha$ - и G $\beta/\gamma$ -субъединицы. Свободный комплекс G $\beta/\gamma$  способен активировать фосфолипазу C (PLC), которая транслоцируется на мембрану и гидролизует фосфотидилинозитол(4,5)-бифосфаты (PIP<sub>2</sub>) до инозитол(1,4,5)-трифосфатов (IP<sub>3</sub>) и диацилглицерола (DAG). DAG активирует киназу PKC, в то время как IP<sub>3</sub> индуцирует освобождение ионов Ca<sup>2+</sup> из внутриклеточных депо. Повышение уровня цитоплазматического Ca<sup>2+</sup>, в свою очередь, стимулирует Ca<sup>2+</sup>-зависимые эффекторные молекулы. Среди них Ca<sup>2+</sup>/кальмодулин-зависимая киназа II (CaMKII), ядерный фактор, ассоциированный с T-клетками (NFAT), и кальцинейрин [15] (см. рисунок). Полагают, что Wnt/Ca<sup>2+</sup>-путь в основном задействован в регуляции организации цитоскелета и клеточной подвижности [16].

### Путь клеточной поляризации

Полярность считается важной чертой живых организмов. Асимметричная организация компонентов лежит в основе правильного функционирования многих систем клетки. Известно несколько видов полярности. Помимо поляризации клеток в апикально-базолатеральном направлении выделяют также поляризацию в плоскости однослойного эпителия. Такой вид клеточной организации первоначально был назван тканевой полярностью, а впоследствии переименован в планарную клеточную полярность, или PCP (planar cell polarity). Примером PCP у насекомых типа плодовой мушки *Drosophila melanogaster* является определение направления наклона волосков на крыльях [17]. У млекопитающих PCP контролирует ориентацию пучков стереоцилий, расположенных на апикальной стороне волосковых клеток слуховых сенсорных органов [18].

В обеспечении и поддержании планарной клеточной полярности задействован неканонический Wnt/PCP-сигнальный путь. Он стимулируется под действием лигандов Wnt7a и Wnt11. Wnt/PCP-сигнальный путь контролирует активность малых ГТФ-аз Rac и Rho [19]. Rho-зависимая ветвь сигнального каскада связана с активацией миозина и Rho-ассоциированной киназы ROCK (Rho-associated kinase). Активация происходит в результате формирования комплекса Dvl-Daam-1 (Dishevelled-associated activator of morphogenesis 1). Daam-1 входит в семейство белков форминов, участвующих в полимеризации актина [20]. Выступая в роли

структурного белка, он опосредует формирование комплекса Dvl с RhoA [21]. Ras-зависимый сигнальный каскад связан с индукцией киназной активности JNK [22, 23]. В отличие от Rho-зависимого он не требует участия Daam-1, поскольку малая ГТФ-аза Ras способна напрямую взаимодействовать с Dvl [24] (см. рисунок). Путь клеточной поляризации вовлечен в регуляцию процесса модификации структур актинового цитоскелета, благодаря чему оказывает значительное влияние на поляризацию и подвижность клеток [13].

### Сигнальный путь Wnt: значение для эмбриогенеза

В процессе эмбрионального развития компоненты сигнального пути Wnt обеспечивают регуляцию образования и дифференцировки клеток нервного гребня [25]. Клетки нервного гребня происходят из нервных валиков, расположенных на границе нервной пластинки и нейральной эктодермы. В ходе нейруляции нервные валики смыкаются в районе дорсальной средней линии эмбриона, давая начало нервной трубке. Удаление основного эффектора канонического сигнального пути Wnt  $\beta$ -катенина нарушает процесс индукции нервного гребня [26]. Промоторный участок гена-маркера клеток нервного гребня *Slug* содержит сайт связывания для комплекса LEF/ $\beta$ -катенин [27]. Судьба клеток нервного гребня также контролируется компонентами сигнального пути Wnt. В ряде исследований [28, 29] показано, что *Wnt6* и *Wnt8* важны как для индукции, так и для экспансии нервного гребня. После нейруляции часть клеток нервного гребня, расположенных на дорсальной стороне нервной трубки, мигрирует в периферические сайты. Эта миграция строго контролируется на молекулярном уровне. Полагают, что индукция нервного гребня находится под контролем канонического сигнального пути Wnt, в то время как в процессе миграции участвует преимущественно неканонический Wnt/PCP-сигнальный путь. Ингибирование активности таких компонентов этого сигнального пути, как *Wnt11*, *Fz7* и *Dvl*, приводит к нарушению подвижности клеток нервного гребня, указывая на важность неканонического сигнального пути Wnt для миграции этих клеток *in vivo* [30].

Клетки нервного гребня дают начало целому ряду различных производных, включая нейроны, глию и меланоциты. Считается, что сигнальный путь Wnt задействован в спецификации клеток нервного гребня. Двойные нокаутные по генам *Wnt1* и *Wnt3a* мыши лишены ряда производных клеток нервного гребня, включая меланоциты [31].

### Сигнальный путь Wnt и регенерация ткани

Кожный покров млекопитающих выполняет широкий спектр разнообразных функций. Одной из них является защита организма от действия окружающей среды. Барьерная функция может быть нарушена при возникновении кожных повреждений различной природы. В связи с этим своевременное заживление ран и вос-

становление целостности кожи имеет важное значение для поддержания гомеостаза организма в целом. Ряд данных указывает на вовлеченность сигнального каскада Wnt в этот процесс.

Исследование экспрессии генов лигандов Wnt через различные промежутки времени после нанесения раны показало, что одним из первых начинает экспрессироваться *Wnt4*, в то время как максимумы активности транскрипции генов *Wnt5a* и *Wnt11* приходится на период ремоделирования раны [32]. В экспериментах на трансгенных мышах показано, что активность канонического сигнального пути Wnt увеличена в волосяных фолликулах, примыкающих к месту повреждения, но не в самой ране. Более того, продукция стабилизированной формы  $\beta$ -катенина стимулирует формирование эпителиальных придатков, включая волосяные фолликулы и сальные железы в районе повреждения. Обработка повреждения ретровирусным вектором, содержащим ген лиганда *Wnt5a*, приводит даже к более эффективному образованию кожных придатков в пределах раны, чем в случае стабилизации  $\beta$ -катенина [32].

Таким образом, как и канонический, неканонический сигнальный путь Wnt способен направлять клетки-предшественники в коже взрослого организма в сторону осуществления регенерации ткани.

### Сигнальный путь Wnt и меланома

**Формирование меланомы.** Меланому кожи рассматривают как злокачественное образование, происходящее из клеток нервного гребня или из трансформированных пигментпродуцирующих клеток — меланоцитов. Развитие меланомы представляет собой многостадийный процесс [33]. Полагают, что компоненты сигнальных каскадов Wnt принимают участие во всех этапах развития меланомы.

Примерно в одной трети случаев возникновения меланомы канонический сигнальный путь Wnt находится в активированном состоянии [34]. Учитывая, что сигнальный каскад с участием  $\beta$ -катенина контролирует транскрипцию генов, чьи продукты задействованы в процессах роста и развития (например, циклин D и *c-myc*), конститутивная активация этого каскада потенциально может стимулировать формирование опухоли. Например, *c-myc* является хорошо известным онкогеном. Суперэкспрессия его характерна для многих типов онкологических заболеваний, включая рак кишечника, рак молочной железы, лейкемию и меланому [35].

В меланоме экспрессия генов негативных регуляторов канонического сигнального пути Wnt часто подавлена. Например, продукция *Dkk-1*, 2 и 3, которые ингибируют  $\beta$ -катениновый сигнальный каскад путем связывания с корцептором LRP5/6, сильно снижена или совсем утеряна как в клеточных линиях меланомы, так и в образцах опухолей [36]. *Dkk-1* способен супрессировать рост меланоцитов [37]. Активация экспрессии гена *Dkk-1* приводит к снижению онкогенности и к индукции апоптоза клеток меланомы в бестимульных голых мышах *in vivo* [38]. Другим ингибитором сигнального пути Wnt, чья продукция подавлена в меланомах,



является WIF-1 (Wnt inhibitory factor-1) [39]. В отличие от Dkk, WIF-1 связывается напрямую с лигандами Wnt, блокируя их сигнальную активность. Известно, что рост клеток меланомы подавляется при суперэкспрессии гена *WIF-1*. Более того, супрессия роста опухолевых клеток сопровождается ингибированием транскрипции и трансляции компонентов канонического сигнального пути Wnt [40].

Неконтролируемая пролиферация и задержка старения считаются достаточными условиями для образования меланомы. Активирующие мутации в генах *N-Ras* и *B-Raf* (участники MAP-киназного пути передачи сигнала) рассматривают как сигналы для усиления пролиферации, а функцию  $\beta$ -катенина связывают с избеганием старения. Старение ассоциировано с арестом клеточного цикла на стадии  $G_0/G_1$ , под действием опухолевого супрессора Rb1, который находится под контролем  $p16^{INK4a}$ . В клетках меланомы человека активированный  $\beta$ -катенин способен напрямую ингибировать экспрессию  $p16^{INK4a}$  путем влияния на транскрипционный фактор TCF-4 [41]. Стоит заметить, что сам  $\beta$ -катенин не способен индуцировать ни пролиферацию меланоцитов, ни формирование меланомы. Однако для двойных трансгенных животных, несущих мутации как в  $\beta$ -катенине (*CTNNB1*), так и в *N-Ras*, характерна высокая частота возникновения меланомы. Более того, такие двойные мутанты более подвержены формированию опухолей, чем животные, несущие мутацию только в гене *N-Ras*.

Таким образом, представляется, что конститутивно активированный канонический сигнальный путь Wnt действует синергично с MAP-киназным каскадом. При этом оба сигнальных пути направлены на индукцию возникновения меланомы [41].

**Метастазирование меланомы.** Несмотря на многочисленные исследования, подтверждающие участие  $\beta$ -катенина в злокачественной трансформации меланоцитов, точная роль канонического сигнального пути Wnt в метастазировании меланомы остается под вопросом.

Существуют свидетельства того, что  $\beta$ -катенин может являться негативным регулятором прогрессии меланомы. Клетки почти всех доброкачественных невусов содержат достаточное количество  $\beta$ -катенина в ядре. При этом частота злокачественной трансформации невусов в меланому очень низкая [42]. Более того, метастатическая прогрессия меланомы ассоциирована с потерей ядерного  $\beta$ -катенина. Накопление  $\beta$ -катенина в ядрах клеток как первичной опухоли, так и метастазов, напротив, является хорошим прогностическим знаком для пациентов [43]. Трансфекция клеточной линии меланомы мыши B16 плазмидой, кодирующей Wnt3a, приводит к блокированию пролиферации и стимуляции дифференцировки [43]. Ингибирование же экспрессии гена  $\beta$ -катенина в этой клеточной линии способствует увеличению метастатической активности клеток [44].

В отличие от канонического сигнального пути Wnt роль неканонического каскада в прогрессии меланомы более определена. Полагают, что неканонический Wnt/ $Ca^{2+}$ -зависимый сигнальный путь, активируемый

под действием белка Wnt5a, способствует метастазированию опухоли. Суперэкспрессия гена *Wnt5a* часто ассоциирована с высокоагрессивными меланомами [16]. Кроме того, существует корреляция между экспрессией гена этого лиганда и стадией заболевания [45]. В меланоме *Wnt5a* преимущественно экспрессируется клетками, расположенными на инвазивном крае опухоли [46]. Трансфекция клеток меланомы, обладающих низкой метастатической активностью, плазмидой, содержащей ген *Wnt5a*, стимулирует их превращение в более агрессивные производные [45]. Основным рецептором Wnt5a, вовлеченным в метастазирование меланомы, считается Ror2. Повышенная экспрессия гена *Ror2* также характерна для метастатической меланомы. Подавление продукции этого рецептора приводит к исчезновению способности Wnt5a активировать сигнальный путь в клетке и стимулировать метастазирование [47].

**Заключение.** Сигнальный путь Wnt представляет собой сложную цепь внутриклеточных взаимодействий. Он имеет важное значение как для формирования и созревания меланоцитов, так и для развития меланомы. Канонический и неканонический сигнальные каскады играют противоположные роли в развитии меланомы.  $\beta$ -катениновый сигнальный путь задействован в злокачественной трансформации меланоцитов. На более поздних стадиях прогрессии меланомы активация этого сигнального пути, напротив, вызывает подавление роста опухоли путем стимуляции дифференцировки клеток. Неканонический сигнальный путь не участвует в возникновении меланомы. Тем не менее повышенная экспрессия гена *Wnt5a* характерна для метастазирующей меланомы. Существует гипотеза, согласно которой этот сигнальный путь может участвовать в контроле активности канонического сигнального пути Wnt с целью не допустить суперактивации последнего. Таким образом, в норме гомеостаз в меланоцитах поддерживается путем хорошо координированной сложной системы сигнальных путей, нарушения в которой приводят к возникновению и развитию опухоли.

## Литература/References

1. Miller J.R. The Wnts. *Genome Biol* 2002; 3(1): 1–15.
2. Smolich B.D., McMahon J.A., McMahon A.P., Papkoff J. Wnt family proteins are secreted and associated with the cell surface. *Mol Biol Cell* 1993; 4(12): 1267–1275.
3. Willert K., Brown J.D., Danenberg E., Duncan A.W., Weissman I.L., Reya T., Yates J.R., Nusse R. Wnt proteins are lipid-modified and can act as stem cell growth factors. *Nature* 2003; 423(6938): 448–452.
4. Slusarski D.C., Corces V.G., Moon R.T. Interaction of Wnt and a Frizzled homologue triggers G-protein-linked phosphatidylinositol signalling. *Nature* 1997; 390(6658): 410–413.
5. 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(6803): 530–535.
6. 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(6803): 535–538.
7. Gordon M.D., Nusse R. Wnt signaling: multiple pathways, multiple receptors and multiple transcription factors. *J Biol Chem* 2006; 281(32): 22429–22433.

8. Oishi I., Takeuchi S., Hashimoto R., Nagabukuro A., Ueda T., Liu Z.J., Hatta T., Akira S., Matsuda Y., Yamamura H., Otani H., Minami Y. Spatio-temporally regulated expression of receptor tyrosine kinases, mRor1, mRor2, during mouse development: implications in development and function of the nervous system. *Genes Cells* 1999; 4(1): 41–56.
9. Hovens C.M., Stacker S.A., Andres A.C., Harpur A.G., Ziemiecki A., Wilks A.F. RYK, a receptor tyrosine kinase-related molecule with unusual kinase domain motifs. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992; 89(24): 11818–11822.
10. Lu W., Yamamoto V., Ortega B., Baltimore D. Mammalian Ryk is a Wnt coreceptor required for stimulation of neurite outgrowth. *Cell* 2004; 119(1): 97–108.
11. Keeble T.R., Halford M.M., Seaman C., Kee N., Macheda M., Anderson R.B., Stacker S.A., Cooper H.M. The Wnt receptor Ryk is required for Wnt5a-mediated axon guidance on the contralateral side of the corpus callosum. *J Neurosci* 2006; 26(21): 5840–5848.
12. Clevers H. Wnt/beta-catenin signaling in development and disease. *Cell* 2006; 127(3): 469–480.
13. Weeraratna A.T. A Wnt-er wonderland—the complexity of Wnt signaling in melanoma. *Cancer Metastasis Rev* 2005; 24(2): 237–250.
14. Bilic J., Huang Y.L., Davidson G., Zimmermann T., Cruciati C.M., Bienz M., Niehrs C. Wnt induces LRP6 signalosomes and promotes dishevelled-dependent LRP6 phosphorylation. *Science* 2007; 316(5831): 1619–1622.
15. Kuhl M., Sheldahl L.C., Park M., Miller J.R., Moon R.T. The Wnt/Ca2<sup>+</sup> pathway: a new vertebrate Wnt signaling pathway takes shape. *Trends Genet* 2000; 16(7): 279–283.
16. Dissanayake S.K., Wade M., Johnson C.E., O'Connell M.P., Leotlela P.D., French A.D., Shah K.V., Hewitt K.J., Rosenthal D.T., Indig F.E., Jiang Y., Nickoloff B.J., Taub D.D., Trent J.M., Moon R.T., Bittner M., Weeraratna A.T. The Wnt5A/protein kinase C pathway mediates motility in melanoma cells via the inhibition of metastasis suppressors and initiation of an epithelial to mesenchymal transition. *J Biol Chem* 2007; 282(23): 17259–17271.
17. Seifert J.R., Mlodzik M. Frizzled/PCP signalling: a conserved mechanism regulating cell polarity and directed motility. *Nat Rev Genet* 2007; 8(2): 126–138.
18. Jones C., Chen P. Planar cell polarity signaling in vertebrates. *Bioessays* 2007; 29(2): 120–132.
19. Wallingford J.B., Habas R. The developmental biology of Dishevelled: an enigmatic protein governing cell fate and cell polarity. *Development* 2005; 132(20): 4421–4436.
20. Evangelista M., Zigmund S., Boone C. Formins: signaling effectors for assembly and polarization of actin filaments. *J Cell Sci* 2003; 116(Pt 13): 2603–2611.
21. Habas R., Kato Y., He X. Wnt/Frizzled activation of Rho regulates vertebrate gastrulation and requires a novel Formin homology protein Daam1. *Cell* 2001; 107(7): 843–854.
22. Habas R., Dawid I.B., He X. Coactivation of Rac and Rho by Wnt/Frizzled signaling is required for vertebrate gastrulation. *Genes Dev* 2003; 17(2): 295–309.
23. Li L., Yuan H., Xie W., Mao J., Caruso A.M., McMahon A., Sussman D.J., Wu D. Dishevelled proteins lead to two signaling pathways. Regulation of LEF-1 and c-Jun N-terminal kinase in mammalian cells. *J Biol Chem* 1999; 274(1): 129–134.
24. Habas R., Dawid I.B. Dishevelled and Wnt signaling: is the nucleus the final frontier? *J Biol* 2005; 4(1): 2.
25. Dorsky R.I., Moon R.T., Raible D.W. Control of neural crest cell fate by the Wnt signalling pathway. *Nature* 1998; 396(6709): 370–373.
26. Wu J., Yang J., Klein P.S. Neural crest induction by the canonical Wnt pathway can be dissociated from anterior-posterior neural patterning in *Xenopus*. *Dev Biol* 2005; 279(1): 220–232.
27. Vallin J., Thuret R., Giacomello E., Faraldo M.M., Thiery J.P., Broders F. Cloning and characterization of three *Xenopus* slug promoters reveal direct regulation by Lef/beta-catenin signaling. *J Biol Chem* 2001; 276(32): 30350–30358.
28. LaBonne C., Bronner-Fraser M. Neural crest induction in *Xenopus*: evidence for a two-signal model. *Development* 1998; 125(13): 2403–2414.
29. Sakai D., Tanaka Y., Endo Y., Osumi N., Okamoto H., Wakamatsu Y. Regulation of Slug transcription in embryonic ectoderm by beta-catenin-Lef/Tcf and BMP-Smad signaling. *Dev Growth Differ* 2005; 47(7): 471–482.
30. De Calisto J., Araya C., Marchant L., Riaz C.F., Mayor R. Essential role of non-canonical Wnt signalling in neural crest migration. *Development* 2005; 132(11): 2587–2597.
31. Ikeya M., Lee S.M., Johnson J.E., McMahon A.P., Takada S. Wnt signalling required for expansion of neural crest and CNS progenitors. *Nature* 1997; 389(6654): 966–970.
32. Fathke C., Wilson L., Shah K., Kim B., Hocking A., Moon R., Isik F. Wnt signaling induces epithelial differentiation during cutaneous wound healing. *BMC Cell Biol* 2006; 7: 4.
33. Larue L., Beermann F. Cutaneous melanoma in genetically modified animals. *Pigment Cell Res* 2007; 20(6): 485–497.
34. Larue L., Luciani F., Kumasaka M., Champeval D., Demirkan N., Bonaventure J., Delmas V. Bypassing melanocyte senescence by beta-catenin: a novel way to promote melanoma. *Pathol Biol (Paris)* 2009; 57(7–8): 543–547.
35. Dang C.V. c-Myc target genes involved in cell growth, apoptosis and metabolism. *Mol Cell Biol* 1999; 19(1): 1–11.
36. Kuphal S., Lodermeier S., Bataille F., Schuierer M., Hoang B.H., Bosserhoff A.K. Expression of Dickkopf genes is strongly reduced in malignant melanoma. *Oncogene* 2006; 25(36): 5027–5036.
37. Yamaguchi Y., Morita A., Maeda A., Hearing V.J. Regulation of skin pigmentation and thickness by Dickkopf 1 (DKK1). *J Invest Dermatol Symp Proc* 2009; 14(1): 73–75.
38. Mikheev A.M., Mikheeva S.A., Rostomy R., Zarbl H. Dickkopf-1 activates cell death in MDA-MB435 melanoma cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2007; 352(3): 675–680.
39. Haqq C., Nosrati M., Sudilovsky D., Crothers J., Khodabakhsh D., Pulliam B.L., Federman S., Miller J.R., Allen R.E., Singer M.I., Leong S.P., Ljung B.M., Sagebiel R.W., Kashani-Sabet M. The gene expression signatures of melanoma progression. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005; 102(17): 6092–6097.
40. Lin Y.C., You L., Xu Z., He B., Yang C.T., Chen J.K., Mikami I., Clement G., Shi Y., Kuchenbecker K., Okamoto J., Kashani-Sabet M., Jablons D.M. Wnt inhibitory factor-1 gene transfer inhibits melanoma cell growth. *Hum Gene Ther* 2007; 18(4): 379–386.
41. Delmas V., Beermann F., Martinozzi S., Carreira S., Ackermann J., Kumasaka M., Denat L., Goodall J., Luciani F., Viros A., Demirkan N., Bastian B.C., Goding C.R., Larue L. Beta-catenin induces immortalization of melanocytes by suppressing p16INK4a expression and cooperates with N-Ras in melanoma development. *Genes Dev* 2007; 21(22): 2923–2935.
42. Tsao H., Bevona C., Goggins W., Quinn T. The transformation rate of moles (melanocytic nevi) into cutaneous melanoma: a population-based estimate. *Arch Dermatol* 2003; 139(3): 282–288.
43. Chien A.J., Moore E.C., Lonsdorf A.S., Kulikauskas R.M., Rothberg B.G., Berger A.J., Major M.B., Hwang S.T., Rimm D.L., Moon R.T. Activated Wnt/beta-catenin signaling in melanoma is associated with decreased proliferation in patient tumors and a murine melanoma model. *Proc Natl Acad Sci USA* 2009; 106(4): 1193–1198.
44. Takahashi Y., Nishikawa M., Suehara T., Takiguchi N., Takakura Y. Gene silencing of beta-catenin in melanoma cells retards their growth but promotes the formation of pulmonary metastasis in mice. *Int J Cancer* 2008; 123(10): 2315–2320.
45. Weeraratna A.T., Jiang Y., Hostetter G., Rosenblatt K., Duray P., Bittner M., Trent J.M. Wnt5a signaling directly affects cell motility and invasion of metastatic melanoma. *Cancer Cell* 2002; 1(3): 279–288.
46. Bittner M., Meltzer P., Chen Y., Jiang Y., Seftor E., Hendrix M., Radmacher M., Simon R., Yakhini Z., Ben-Dor A., Sampas N., Dougherty E., Wang E., Marincola F., Gooden C., Lueders J., Glatfelter A., Pollock P., Carpten J., Gillanders E., Leja D., Dietrich K., Beaudry C., Berens M., Alberts D., Sondak V. Molecular classification of cutaneous malignant melanoma by gene expression profiling. *Nature* 2000; 406(6795): 536–540.
47. O'Connell M.P., Fiori J.L., Xu M., Carter A.D., Frank B.P., Camilli T.C., French A.D., Dissanayake S.K., Indig F.E., Bernier M., Taub D.D., Hewitt S.M., Weeraratna A.T. The orphan tyrosine kinase receptor, ROR2, mediates Wnt5A signaling in metastatic melanoma. *Oncogene* 2010; 29(1): 34–44.