



Universidade de São Paulo

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DE RIBEIRÃO PRETO



Controle epigenético da via de Wnt/ β -catenina no acúmulo de células-tronco tumorais quimiorresistentes em carcinoma oral

Thaís Moré Milan

**Ribeirão Preto
2022**

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DE RIBEIRÃO PRETO

Controle epigenético da via de Wnt/ β -catenina no acúmulo de células-tronco tumorais quimiorresistentes em carcinoma oral

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biociências e Biotecnologia da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto para obtenção do Título de Mestre em Ciências

Área de Concentração: Imunologia e Fisiopatologia

Orientada: Thaís Moré Milan

Orientadora: Profa. Dra. Luciana Oliveira de Almeida

Ribeirão Preto

2022

MORÉ MILAN, T.	Controle epigenético da via de Wnt/β-catenina no acúmulo de células-tronco tumorais quimiorresistentes em carcinoma oral	Espaço de 2,5 cm reservado para etiqueta de localização da biblioteca	MESTRADO FCRPUSP 2022
-------------------	--	---	-----------------------------

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Moré Milan, Thaís

Controle epigenético da via de Wnt/ β -catenina no acúmulo de células tronco tumorais quimiorresistentes em carcinoma oral, 2022.

110 p. : il. ; 30cm.

Dissertação de Mestrado, apresentada à Faculdade de Ciências

Farmacêuticas de Ribeirão Preto/USP – Área de concentração:

Imunologia e Fisiopatologia.

Orientador: Oliveira de Almeida, Luciana.

1. via de Wnt/ β -catenina. 2. células-tronco tumorais.
3. quimiorresistência. 4. controle epigenético 5. carcinoma oral

FOLHA DE APROVAÇÃO

Thaís Moré Milan

Controle epigenético da via de Wnt/ β -catenina no acúmulo de células-tronco tumorais quimiorresistentes em carcinoma oral.

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biociências e Biotecnologia da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto para obtenção do Título de Mestre em Ciências

Área de Concentração: Imunologia e Fisiopatologia

Orientadora: Profa. Dra. Luciana Oliveira de Almeida

Aprovado em:

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

RESUMO

MORÉ MILAN, T. **Controle epigenético da via de Wnt/ β -catenina no acúmulo de células-tronco tumorais quimiorresistentes em carcinoma oral**. 2022. 110f. Dissertação (Mestrado). Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2022.

O carcinoma oral é responsável por muitas mortes ao redor do mundo por originar recidivas e metástases devido as falhas na terapia. Os tratamentos convencionais destroem as células diferenciadas do tumor, porém a população de células-tronco tumorais é resistente e repova o tumor. A sinalização de Wnt/ β -catenina está envolvida na manutenção, sobrevivência, auto-renovação e diferenciação das células-tronco tumorais e sua sinalização pode ser regulada por modificações epigenéticas. O objetivo do projeto foi identificar alterações epigenéticas envolvidas no controle da via de sinalização de Wnt/ β -catenina e de seus alvos e investigar a participação da via no acúmulo de células-tronco tumorais e na quimiorresistência de linhagens celulares de carcinoma oral. Três linhagens de carcinoma oral selvagens (Cal27 WT; SCC9 WT; SCC25 WT) e resistentes à cisplatina (Cal27 CisR; SCC9 CisR; SCC25 CisR) e suas populações de células-tronco tumorais (CTT+) e não-tronco tumorais (CTT-) foram investigadas. Análises de qPCR foram realizadas para a avaliação da expressão gênica e *Western Blot* para avaliação dos níveis proteicos; a dose IC50 dos inibidores foi determinada por ensaio de viabilidade celular. Citometria de fluxo e formação de esferas identificaram as CTT+. Imunoprecipitação da cromatina foi realizada para identificar a regulação epigenética da via. O ensaio de xenoenxerto foi utilizado para investigar o potencial da via de Wnt/ β -catenina como alvo terapêutico. Nós observamos o aumento da expressão de genes reguladores da maquinaria epigenética, como *BRD7*, *EZH2*, *KDM4C* e *MLL1* do gene *CTNNB1* que codifica β -catenina, nas linhagens resistentes à cisplatina. Os genes *upstream* da via de Wnt/ β -catenina como *APC* e *GSK3 β* estavam diminuídos nas 3 linhagens quimiorresistentes, e os genes *downstream* *FGF18* e *MMP7* estavam aumentados. A população de CTT+ apresentou maior expressão de genes envolvidos na metilação de histonas. β -catenina e as histonas metiladas H3K27me3 e H3K9me2 também estavam aumentadas nas linhagens resistentes à cisplatina e nas CTT+. O inibidor de EZH2 (UNC1999) e os inibidores de β -catenina (ICG-001 e FH535) reduziram a população de CTT+ e diminuíram as proteínas β -catenina e EZH2 nas linhagens quimiorresistentes. H3K27me3 também foi diminuída após tratamento com os inibidores. O tratamento com UNC1999 aumentou a expressão dos genes *upstream* *APC* e *GSK3 β* , e os tratamentos com ICG-001, FH535 e UNC1999 foram efetivos na diminuição do gene *downstream* *MMP7* nas CTT+. FH535 demonstrou eficácia para diminuir a população de CTT+ especialmente quando combinado com cisplatina e UNC1999. Os inibidores de β -catenina em monoterapia ou combinados com cisplatina e UNC1999 diminuíram o fenótipo tronco (*stemness*) das CTT+. Houve redução do crescimento tumoral após a administração de FH535, FH535+Cisplatina e UNC1999+FH535, e diminuição dos marcadores β -catenina, EZH2, H3K27me3 e dos marcadores de células-tronco tumorais OCT4 e SOX2 no tecido tumoral. Através da imunoprecipitação da cromatina nas linhagens quimiorresistentes e nas populações de CTT- e CTT+, nós identificamos que EZH2 interage fortemente com

região promotora dos genes *APC*, *FGF18* e *VEGFA*, e de forma menos intensa com os promotores de *AXIN2*, *GSK3β*, *MMP7* e *VEGFA*, aumentando a presença de H3K27me3, o que promove a repressão dos genes *APC*, *GSK3β* e *VEGFA* que participam da via de Wnt/β-catenina. Dessa forma, os resultados demonstram que β-catenina e EZH2 estão aumentados nas linhagens quimiorresistentes e na população de células-tronco tumorais, e a metilação de histonas participa de forma crítica, controlando a via de Wnt/β-catenina, através da inibição dos genes reguladores *upstream APC* e *GSK3β*, levando à translocação de β-catenina para o núcleo, onde se liga à fatores de transcrição e regula seus genes *downstream* como *MMP7*, participando da regulação das células-tronco tumorais. A administração de inibidores farmacológicos da via de Wnt/β-catenina e de EZH2, podem ser uma estratégia eficaz para o tratamento do carcinoma oral e eliminação das células-tronco tumorais.

Palavras-chave: via de Wnt/β-catenina, células-tronco tumorais, quimiorresistência, controle epigenético, carcinoma oral.

ABSTRACT

MORÉ MILAN, T. **Epigenetic control of Wnt/ β -catenin signaling pathway in the accumulation of chemoresistant cancer stem cells in oral carcinoma.** 2022. 110f. Dissertation (Master). Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2022.

Oral carcinoma is responsible for many deaths around the world by causing recurrences and metastasis due failures in therapy. The conventional treatments destroy the differentiated cancer cells; however, the population of cancer stem cells are resistant and repopulates the tumor. The Wnt/ β -catenin signaling pathway is involved in the maintenance, survival, self-renewal, and differentiation of cancer stem cells, and its signaling can be regulated by epigenetic modifications. The aim of the project was to identify epigenetic modifications involved in the control of the Wnt/ β -catenin signaling pathway and its targets and investigate the participation of this pathway in the accumulation of cancer stem cells and in the chemoresistance of oral carcinoma cell lines. Three wild-type oral carcinoma cell lines (Cal27 WT; SCC9 WT; SCC25 WT) and resistant to cisplatin (Cal27 CisR; SCC9 CisR; SCC25 CisR) and their populations of cancer stem cells (CSC+) and non-cancer stem cells (CSC-) were investigated. Analysis of qPCR were performed to evaluate the gene expression, and western blot to evaluate protein levels; the IC50 dose of the inhibitors was determined through cellular viability assay. Flow cytometry and spheres formation assay identified the CSC+. Chromatin immunoprecipitation was performed to identify the epigenetic regulation of the pathway. The xenograft model was performed to investigate the potential of the Wnt/ β -catenin signaling pathway as therapeutical target. We observed an increase in the expression of genes that regulate the epigenetic machinery as *BRD7*, *EZH2*, *KDM4C*, *MLL1* and the gene *CTNNB1* that encode β -catenin, in the cell lines resistant to cisplatin. The upstream genes of the Wnt/ β -catenin signaling pathway *APC* and *GSK3 β* were decreased in the 3 chemoresistant cell lines, and the downstream genes *FGF18* and *MMP7* were increased. The CSC+ population demonstrated high expression of genes involved in the histones methylation. β -catenin and the methylated histones H3K27me3 and H3K9me2 were increased in the cell lines resistant to cisplatin and in the CSC+ as well. The EZH2 inhibitor (UNC1999) and the β -catenin inhibitors (ICG-001 and FH535) diminished the population of CSC+ and diminished the proteins β -catenin and EZH2 in the chemoresistant cell lines. H3K27me3 was diminished after the treatment with the inhibitors as well. The treatment with UNC1999 increased the expression of the upstream genes *APC* and *GSK3 β* , and the treatments with ICG-001, FH535 and UNC1999 were effective in the decrease of the downstream gene *MMP7* in the CSC+. FH535 demonstrated effectiveness diminishing the population of CSC+ specially when combined with cisplatin and UNC1999. The β -catenin inhibitors in monotherapy or combined to cisplatin and UNC1999 diminished the stemness of CSC+. The tumor growth was reduced after the administration of FH535, FH535+cisplatin and UNC1999+FH535, and β -catenin, EZH2, H3K27me3 and the cancer stem cells markers OCT4 and SOX2 decreased in the tumor tissue. Chromatin immunoprecipitation in the chemoresistant cell lines and in the populations of CSC- and CSC+ demonstrated that EZH2 strongly interacts with the promotor region of the genes *APC*, *FGF18* and *VEGFA* and in a less

intensive way with the promoters of *AXIN2*, *GSK3 β* and *MMP7*, increasing the presence of H3K27me3, which promotes the repression of the genes *APC*, *GSK3 β* and *VEGFA* that participates of the Wnt/ β -catenin signaling pathway. In this way, the results demonstrate that β -catenin and EZH2 are increased in the chemoresistant cell lines and in the cancer stem cells population, and the histone methylation participates in a critical way, controlling the Wnt/ β -catenin signaling pathway, through the inhibition of the upstream regulators *APC* and *GSK3 β* , leading to the translocation of β -catenin to the nucleus, where it binds to transcription factors and regulate the downstream genes as *MMP7*, participating in the cancer stem cells regulation. The administration of the pharmacological inhibitors of the Wnt/ β -catenin signaling pathway and of EZH2, can be an effective strategy to the oral carcinoma treatment.

Keywords: Wnt/ β -catenin signaling pathway, cancer stem cells, chemoresistance, epigenetic control, oral carcinoma.

1 INTRODUÇÃO

1.1 CARCINOMA ORAL

O carcinoma de células escamosas é o principal grupo que compõe os cânceres de cabeça e pescoço (HNSCC). Estes têm uma incidência de 600.000 novos casos por ano em todo o mundo, sendo responsáveis por cerca de 1-2% de todas as mortes por câncer (FERLAY et al., 2015). Os cânceres de cabeça e pescoço surgem na mucosa de vários órgãos que apresentam revestimento epitelial escamoso, como a nasofaringe, a garganta e a boca (carcinoma oral) (XIE et al., 2021). O desenvolvimento do carcinoma oral está fortemente associado à fatores de risco ambientais e de estilo de vida, como obesidade, má nutrição, alto consumo de tabaco e álcool (TORRE et al., 2015; VIGNESWARAN; WILLIAMS, 2014).

Atualmente, os tratamentos para o carcinoma oral incluem cirurgia com radioterapia adjuvante e quimioterapia (CHEN; WANG, 2019). A quimioterapia envolve o uso de agentes análogos da platina, da taxina, ou da pirimidina (PFISTER et al., 2011), sendo que a cisplatina (cis-diamminedichloroplatina [CDDP]), é considerada o tratamento de primeira linha para esse tipo de câncer (HUNG et al., 2017). Porém, apesar dos avanços na quimioterapia e na radioterapia, em 30 anos, as taxas de sobrevividas de 5 anos ainda não melhoraram, devido à recorrências, metástases e resistência à agentes quimioterápicos (SUN et al., 2022).

Embora a quimioterapia seja eficaz em eliminar células diferenciadas da massa do tumor, uma subpopulação de células, chamadas células-tronco tumorais (CTT), são resistentes e sobrevivem a essas terapias (NÖR et al., 2014; OKAMOTO et al., 2009; ZHANG et al., 2010). Além de que, várias evidências sugerem que a quimioterapia enriquece essa população de CTT (NÖR et al., 2014; REERS et al., 2014).

1.2 CÉLULAS-TRONCO TUMORAIS

O modelo estocástico do câncer sugere que cada célula da massa tumoral tem o potencial de formar células tumorais, porém, o modelo de células-tronco tumorais (modelo hierárquico) do câncer sugere que apenas uma subpopulação de células da massa tumoral, as CTT, tem capacidade de originar um tumor (GUNDUZ

et al., 2019). As CTT foram identificadas em diversos tumores, como carcinoma colorretal (TODARO et al., 2010), mama (BROOKS; BURNES; WICHA, 2015), próstata (RYBAK; BRISTOW; KAPOOR, 2015), glioblastoma (DIRKS, 2006) e cabeça e pescoço (ALMEIDA et al., 2016).

As CTT são uma subpopulação de células pluripotentes no tumor e apresentam características como, auto-renovação, diferenciação, migração e metástase. No carcinoma oral, as CTT participam de processos vitais como iniciação, progressão tumoral e invasão, além de serem responsáveis pela resistência a quimioterapia e à radioterapia (SHAHOUMI, 2021).

Devido às propriedades como divisão assimétrica e auto-renovação, as CTT conseguem manter o controle dinâmico de seu número, bem como diferenciarem-se nas células que compõem a massa tumoral, contribuindo para o fenótipo heterogêneo do tumor (TANG, 2012). Sabendo-se que o aparecimento de recidivas e metástases têm sido relacionados com a ação das CTT, que resistem às terapias convencionais, é evidente que identificar e erradicar essa população de células-tronco tumorais é algo desafiador, mas promissor, podendo acabar totalmente com o câncer (CHEN; HUANG; CHEN, 2013).

A sinalização molecular que rege a homeostase das células-tronco é altamente regulada e muitas destas vias estão anormalmente ativadas nas CTT, culminando na perda do controle da auto-renovação e proliferação, e no aumento da sobrevivência e diferenciação das CTT. As três principais vias de sinalização que sustentam a sobrevivência, proliferação e equilíbrio entre diferenciação e auto-renovação das CTT são Notch, Hedgehog e Wnt (BIGHETTI-TREVISAN et al., 2019). Dentre essas vias, a via de Wnt é frequentemente encontrada desregulada nas CTT. Mutações em componentes da via de sinalização de Wnt, como APC, AXIN, β -catenina e ligantes de Wnt, foram observadas primeiramente em cânceres colorretais, mas também foram vistas em vários outros tumores sólidos (MARTIN-OROZCO et al., 2019).

1.3. SINALIZAÇÃO DE WNT/ β -CATENINA E CÉLULAS-TRONCO TUMORAIS

A família Wnt humana é composta por 19 glicoproteínas ricas em diferentes cisteínas que atuam como ligantes para mais de 15 receptores ou co-receptores, elas compreendem moléculas de sinalização intracelular, incluindo proteínas secretórias

que atuam na gênese celular, crescimento, diferenciação e formação de órgãos (YANG et al., 2019). Como um dos alvos moleculares mais bem estabelecidos da terapia contra o câncer, a via de sinalização Wnt/ β -catenina tem sido fortemente conectada à iniciação e progressão de muitos tipos de cânceres (KANDOTH et al., 2013; STEINHART et al., 2017).

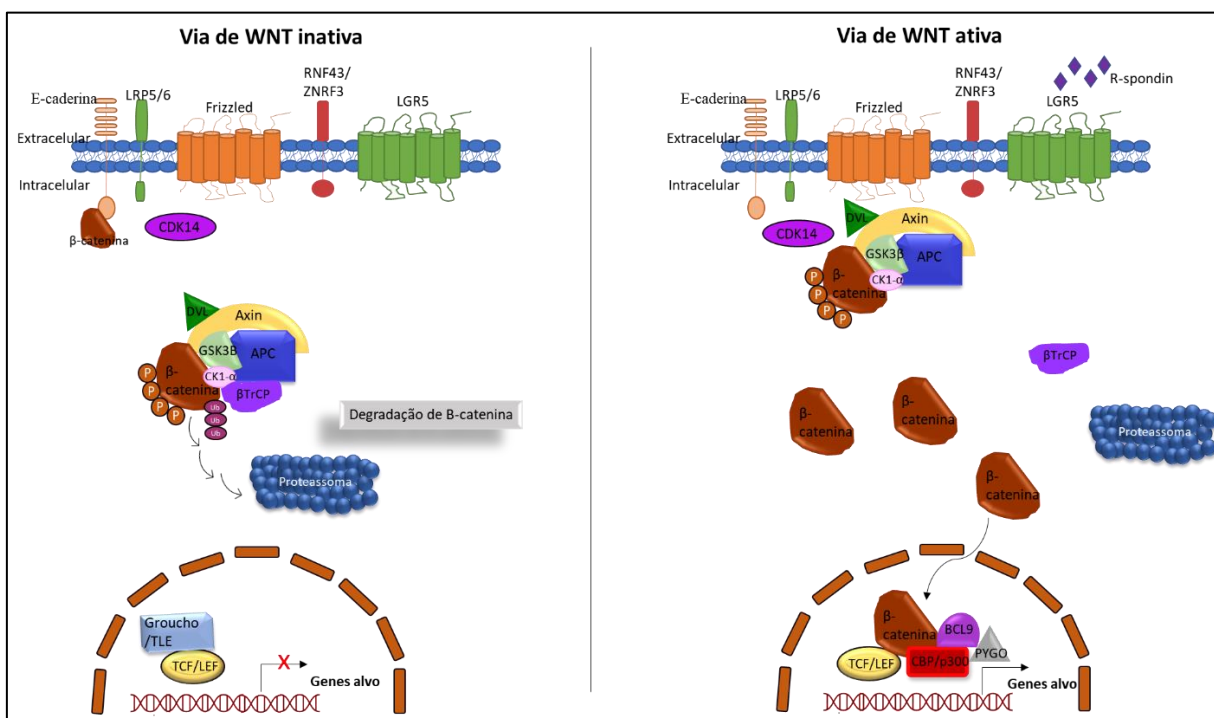
Existem diferentes vias Wnt interligadas entre si que foram classificadas como via de sinalização canônica (β -catenina dependente) e não canônica. Em geral, a via de Wnt canônica é responsável pela auto-renovação, proliferação ou diferenciação das células-tronco, enquanto a via não-canônica participa da manutenção das células-tronco, movimento celular, ou inibição da via canônica (DUCHARTRE; KIM; KAHN, 2016). Dessa forma, ambas as vias, canônica e não-canônica podem estar envolvidas na formação e acúmulo das CTT. Além disso, a sinalização de Wnt tem sido envolvida não só no desenvolvimento do tumor, mas também na capacidade das células tumorais em escapar de diferentes tipos de estresse celular, tais como tratamentos medicamentosos e a resposta imune do hospedeiro (MARTIN-OROZCO et al., 2019).

A via canônica de Wnt, pode ser ativada através da ligação de proteínas Wnt (como as Wnt1, Wnt3A e Wnt10B) com receptores de membrana da família *Frizzled* e do complexo co-receptor LRP5/LRP6. Quando estimulado, *Frizzled* pode ativar a proteína *Disheveled* no citoplasma; em seguida ocorre a ativação de seu fator *downstream*, a proteína de ligação (GBP) ao GSK3. GBP ativado pode identificar e inibir a fosforilação de GSK3 β , que impede que β -catenina seja fosforilada. β -catenina é então acumulada no citoplasma, e está livre para ser translocada para o núcleo. Consequentemente, β -catenina intranuclear se liga aos fatores de transcrição *LEF* e *TCF* (*lymphoid enhancer factor/T cell factor*), às proteínas *Legless* (BCL9 e BCL9L), e à PYGO, para formar o complexo *TCF/LEF- β -catenina-Legless-PYGO*. Finalmente, esse complexo pode iniciar a transcrição dos genes-alvos *downstream*, incluindo o fator de crescimento de fibroblasto 20 (FGF20), ciclina D1, oncogene C-Myc, e proteína secretada WNT-indutível- 1 (WISP-1) (YANG et al., 2019) (Figura 1).

A sinalização não canônica de Wnt envolve pelo menos duas vias distintas; a via de polaridade planar das células e a via de sinalização de cálcio, ambas independentes de β -catenina (KOMIYA; HABAS, 2008). A via de polaridade celular (PCP) é ativada pela ligação de Wnt4, Wnt5a ou Wnt11 à *Frizzled* e co-receptores *Frizzled* como RYK e ROR2, que irão ativar as GTPases Rho e Rac, levando à modificações no citoesqueleto, desencadeando a ativação transcricional de genes-

alvo responsáveis pela adesão celular e migração (KAHN, 2018; KOMIYA; HABAS, 2008). Já a ativação da via de cálcio é iniciada pela ligação de Wnt à *Frizzled*, RYK ou ROR (receptores alternativos), que atuam na migração e inibição da via de Wnt canônica através do gerenciamento do fluxo de cálcio intracelular e ativação das proteínas quinase II dependente de cálcio calmodulina (CaMK2), Jun quinase (JNK) e proteína quinase C (PKC) (KAHN, 2018; KOHN; MOON, 2005).

Figura 1 – Esquematização da via de Wnt/ β -catenina canônica



Fonte: Adaptado de Alamoud (2018).

Evidências sugerem que o desenvolvimento do carcinoma oral é dependente da ativação de Wnt/ β -catenina, que está associada à mudanças epigenéticas que mantém a estrutura da cromatina aberta, induzindo a ativação de genes que levam ao acúmulo de CTT (WEND et al., 2013). Além disso, as próprias CTT do carcinoma oral apresentam ativação aberrante de Wnt/ β -catenina, reforçando sua importância na manutenção e acúmulo das CTT (LEE et al., 2014; WEND et al., 2013).

A dinâmica da cromatina é comandada por modificações em caudas de histonas presentes no core do nucleossomo. A acetilação de lisinas localizadas nas caudas de histonas está associada com a ativação da transcrição, porém, a metilação de lisinas pode estar envolvida tanto na ativação como na repressão gênica. Por

exemplo, a tri-metilação da lisina 4 da histona H3 (H3K4me3) está associada com a cromatina ativa, enquanto a tri-metilação das lisinas 9 e 27 (H3K9me3 e H3K27me3) está associada com a repressão da transcrição (GOLDBERG; ALLIS; BERNSTEIN, 2007). Várias proteínas envolvidas em modificações da cromatina são recrutadas pela proteína β -catenina para controlar a expressão de seus genes-alvo, como a proteína histona acetiltransferase CBP (p300). β -catenina também interage com MLL, uma histona metiltransferase que promove a tri-metilação de H3K4 (SIERRA et al., 2006). MLL está associada com a ativação de genes que conferem propriedades de células-tronco em tumores hematológicos (WEND et al., 2013). H3K4me3, por sua vez, é importante para a expressão de genes-alvo da via de Wnt/ β -catenina por facilitar a associação dos co-ativadores PYGO2 e BCL9 com a cromatina (LI et al., 2017b, p. 3).

Outras modificações epigenéticas também estão associadas com a manutenção e acúmulo das CTT e atuam em conjunto com a sinalização de Wnt/ β -catenina. KDM4C, uma lisina demetilase, participa da redução da heterocromatina e perda da repressão da transcrição gênica através da demetilação de H3K9me3. A ativação da via de Wnt/ β -catenina promove o aumento da expressão de KDM4C em glioblastomas (CHEN et al., 2020). KDM1A (LSD1) também pertence à classe das lisinas demetilases e participa da demetilação das histonas H3K4 me1/2 e H3K9me1/2 localizadas em genes associados com a manutenção da pluripotência e auto-renovação das CTT, como a ativação de β -catenina (HUANG et al., 2017). Em contrapartida, a histona metiltransferase SETD2 é responsável por promover a tri-metilação da histona H3K36 que está associada com a ativação da expressão gênica. SETD2 é frequentemente mutada ou deletada em diversos tumores. Em carcinoma colorretal, a inativação de SETD2 promove o acúmulo da proteína DVL2, o que aumenta a sinalização de Wnt/ β -catenina, afetando os processos de auto-renovação e diferenciação das CTT e aumentando a agressividade tumoral (YUAN et al., 2017).

O silenciamento epigenético mediado pelo potenciador de zeste homólogo 2 (EZH2) contribui para a ativação constitutiva da via de sinalização Wnt/ β -catenina e conseqüentemente para a proliferação de células de carcinoma hepatocelular (CHENG et al., 2011). O EZH2 é uma subunidade catalítica do complexo repressivo *polycomb 2* (PRC2) que pode alterar a expressão gênica através da trimetilação da lisina 27 da histona H3 (H3K27) (DUAN; DU; GUO, 2020). A função oncogênica de EZH2 é devida à sua capacidade de reprimir a expressão de vários genes supressores

tumorais através do silenciamento epigenético mediado pela trimetilação de H3K27 (MA et al., 2019).

6 CONCLUSÃO

A via de Wnt/ β -catenina está diretamente envolvida na carcinogênese oral, assim como na auto-renovação e proliferação de células-tronco tumorais quimiorresistentes. Os nossos resultados demonstraram que alterações epigenéticas, principalmente aquelas envolvidas na metilação de histonas, estão relacionadas com a ativação da via de Wnt/ β -catenina. Os níveis de β -catenina, EZH2 e H3K27me3 foram maiores nas linhagens quimiorresistentes, resultando na desregulação de genes *downstream* da via, como *FGF18*, *MMP7* e *VEGFA*, o que pode contribuir para a agressividade e progressão tumoral. EZH2 e H3K27me3 parecem agir diretamente inibindo a transcrição de repressores de β -catenina, como *APC*, *AXIN2* e *GSK3 β* , deixando β -catenina livre para translocar-se para o núcleo e atuar como fator de transcrição, favorecendo a auto-renovação das células-tronco tumorais. A administração de inibidores de β -catenina em monoterapia e em combinação com o inibidor de EZH2 foi efetiva na diminuição das células-tronco tumorais, e na redução do volume tumoral, além da diminuição de marcadores de células-tronco tumorais e de metilação de histonas no tecido tumoral, sugerindo que a inibição farmacológica de β -catenina associada à drogas que regulam a maquinaria epigenética pode ser uma estratégia eficaz na eliminação das células-tronco tumorais e na redução do volume tumoral do carcinoma oral que apresenta resistência à terapias convencionais.

REFERÊNCIAS

- ALAMOUD, K. A.; KUKURUZINSKA, M. A. Emerging Insights into Wnt/ β -catenin Signaling in Head and Neck Cancer. **Journal of Dental Research**, v. 97, n. 6, p. 665–673, jun. 2018.
- ALMEIDA, L. O. et al. Profiling the Behavior of Distinct Populations of Head and Neck Cancer Stem Cells. **Cancers**, v. 8, n. 1, p. E7, 4 jan. 2016.
- ALMENDRO, V. et al. The Role of MMP7 and Its Cross-Talk with the FAS/FASL System during the Acquisition of Chemoresistance to Oxaliplatin. **PLOS ONE**, v. 4, n. 3, p. e4728, 6 mar. 2009.
- AZEVEDO, H. et al. Gene co-expression and histone modification signatures are associated with melanoma progression, epithelial-to-mesenchymal transition, and metastasis. **Clinical Epigenetics**, v. 12, p. 127, 24 ago. 2020.
- BAHMAD, H. F. et al. Sphere-Formation Assay: Three-Dimensional in vitro Culturing of Prostate Cancer Stem/Progenitor Sphere-Forming Cells. **Frontiers in Oncology**, v. 8, p. 347, 2018.
- BIAN, J. et al. Transcriptional Regulation of Wnt/ β -Catenin Pathway in Colorectal Cancer. **Cells**, v. 9, n. 9, p. E2125, 19 set. 2020.
- BIGHETTI-TREVISAN, R. L. et al. Cancer Stem Cells: Powerful Targets to Improve Current Anticancer Therapeutics. **Stem Cells International**, v. 2019, p. 1–15, 12 nov. 2019.
- BOULDING, T. et al. LSD1 activation promotes inducible EMT programs and modulates the tumour microenvironment in breast cancer. **Scientific Reports**, v. 8, p. 73, 8 jan. 2018.
- BROOKS, M. D.; BURNES, M. L.; WICHA, M. S. Therapeutic Implications of Cellular Heterogeneity and Plasticity in Breast Cancer. **Cell Stem Cell**, v. 17, n. 3, p. 260–271, set. 2015.
- CADIGAN, K. M.; WATERMAN, M. L. TCF/LEFs and Wnt signaling in the nucleus. **Cold Spring Harbor Perspectives in Biology**, v. 4, n. 11, p. a007906, 1 nov. 2012.
- CAO, Z. et al. KDM6B is an androgen regulated gene and plays oncogenic roles by demethylating H3K27me3 at cyclin D1 promoter in prostate cancer. **Cell Death & Disease**, v. 12, n. 1, p. 1–15, 6 jan. 2021.
- CATARA, G.; COLANZI, A.; SPANO, D. Combinatorial Strategies to Target Molecular and Signaling Pathways to Disarm Cancer Stem Cells. **Frontiers in Oncology**, v. 11, 2021.
- CHAN, K. C. et al. Therapeutic targeting of CBP/ β -catenin signaling reduces cancer stem-like population and synergistically suppresses growth of EBV-positive nasopharyngeal carcinoma cells with cisplatin. **Scientific Reports**, v. 5, n. 1, p. 9979, 21 abr. 2015.
- CHEN, D.; WANG, C.-Y. Targeting cancer stem cells in squamous cell carcinoma. **Precision Clinical Medicine**, v. 2, n. 3, p. 152–165, 1 out. 2019.
- CHEN, J.-F. et al. EZH2 promotes colorectal cancer stem-like cell expansion by activating p21cip1-Wnt/ β -catenin signaling. **Oncotarget**, v. 7, n. 27, p. 41540–41558, 9 maio 2016.
- CHEN, K.; HUANG, Y.; CHEN, J. Understanding and targeting cancer stem cells: therapeutic implications and challenges. **Acta Pharmacologica Sinica**, v. 34, n. 6, p. 732–740, jun. 2013.

CHEN, Q.; ZHENG, P.-S.; YANG, W.-T. EZH2-mediated repression of GSK-3 β and TP53 promotes Wnt/ β -catenin signaling-dependent cell expansion in cervical carcinoma. **Oncotarget**, v. 7, n. 24, p. 36115–36129, 15 abr. 2016.

CHEN, Y. et al. FH535 Inhibits Proliferation and Motility of Colon Cancer Cells by Targeting Wnt/ β -catenin Signaling Pathway. **Journal of Cancer**, v. 8, n. 16, p. 3142–3153, 2017.

CHEN, Y. et al. Wnt-Induced Stabilization of KDM4C Is Required for Wnt/ β -Catenin Target Gene Expression and Glioblastoma Tumorigenesis. **Cancer Research**, v. 80, n. 5, p. 1049–1063, 1 mar. 2020.

CHENG, A. S. L. et al. EZH2-Mediated Concordant Repression of Wnt Antagonists Promotes β -Catenin-Dependent Hepatocarcinogenesis. **Cancer Research**, v. 71, n. 11, p. 4028–4039, 1 jun. 2011.

CHIEN, Y.-C. et al. EZH2 promotes migration and invasion of triple-negative breast cancer cells via regulating TIMP2-MMP-2/-9 pathway. **American Journal of Cancer Research**, v. 8, n. 3, p. 422–434, 2018.

CHINN, S. et al. The role of head and neck squamous cell carcinoma cancer stem cells in tumorigenesis, metastasis, and treatment failure. **Frontiers in Endocrinology**, v. 3, 2012.

DIRKS, P. B. Stem cells and brain tumours. **Nature**, v. 444, n. 7120, p. 687–688, dez. 2006.

DUAN, R.; DU, W.; GUO, W. EZH2: a novel target for cancer treatment. **Journal of Hematology & Oncology**, v. 13, n. 1, p. 104, dez. 2020.

DUAN, Y.; FAN, M. Lentivirus-mediated gene silencing of beta-catenin inhibits growth of human tongue cancer cells. **Journal of Oral Pathology & Medicine: Official Publication of the International Association of Oral Pathologists and the American Academy of Oral Pathology**, v. 40, n. 8, p. 643–650, set. 2011.

DUCHARTRE, Y.; KIM, Y.-M.; KAHN, M. The Wnt signaling pathway in cancer. **Critical Reviews in Oncology/Hematology**, v. 99, p. 141–149, mar. 2016.

FANG, S. et al. H3K27me3 induces multidrug resistance in small cell lung cancer by affecting HOXA1 DNA methylation via regulation of the lncRNA HOTAIR. **Annals of Translational Medicine**, v. 6, n. 22, p. 11–11, nov. 2018.

FERLAY, J. et al. Cancer incidence and mortality worldwide: Sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012: Globocan 2012. **International Journal of Cancer**, v. 136, n. 5, p. E359–E386, 1 mar. 2015.

FU, W. et al. Mechanisms and importance of histone modification enzymes in targeted therapy for hepatobiliary cancers. **Discovery Medicine**, v. 28, n. 151, p. 17–28, jul. 2019.

GAN, L. et al. Epigenetic regulation of cancer progression by EZH2: from biological insights to therapeutic potential. **Biomarker Research**, v. 6, p. 10, 2018.

GENG, J. et al. EZH2 promotes tumor progression via regulating VEGF-A/AKT signaling in non-small cell lung cancer. **Cancer Letters**, v. 359, n. 2, p. 275–287, 10 abr. 2015.

GOLDBERG, A. D.; ALLIS, C. D.; BERNSTEIN, E. Epigenetics: A Landscape Takes Shape. **Cell**, v. 128, n. 4, p. 635–638, fev. 2007.

GRINAT, J. et al. The epigenetic regulator Mll1 is required for Wnt-driven intestinal tumorigenesis and cancer stemness. **Nature Communications**, v. 11, p. 6422, 21 dez. 2020.

GUIMARÃES, D. M. et al. Sensitizing mucoepidermoid carcinomas to chemotherapy by targeted disruption of cancer stem cells. **Oncotarget**, v. 7, n. 27, p. 42447–42460, 5 jul. 2016.

GUNDUZ, M. et al. Identification and chemoresistance of cancer stem cells in HPV-negative oropharyngeal cancer. **Oncology Letters**, 21 nov. 2019.

HE, W. et al. Matrix Metalloproteinase-7 as a Surrogate Marker Predicts Renal Wnt/ β -Catenin Activity in CKD. **Journal of the American Society of Nephrology : JASN**, v. 23, n. 2, p. 294–304, fev. 2012.

HU, D. et al. GSK3 β Is Involved in JNK2-Mediated β -Catenin Inhibition. **PLOS ONE**, v. 4, n. 8, p. e6640, 13 ago. 2009.

HUANG, J.-L.; CHEN, S.-Y.; LIN, C.-S. Targeting Cancer Stem Cells through Epigenetic Modulation of Interferon Response. **Journal of Personalized Medicine**, v. 12, n. 4, p. 556, 1 abr. 2022.

HUANG, M. et al. Targeting KDM1A attenuates Wnt/ β -catenin signaling pathway to eliminate sorafenib-resistant stem-like cells in hepatocellular carcinoma. **Cancer Letters**, v. 398, p. 12–21, jul. 2017.

HUNG, C.-C. et al. Differential resistance to platinum-based drugs and 5-fluorouracil in p22phox-overexpressing oral squamous cell carcinoma: Implications of alternative treatment strategies. **Head & Neck**, v. 39, n. 8, p. 1621–1630, ago. 2017.

JAIN, S. et al. Role of GSK-3 β in Regulation of Canonical Wnt/ β -catenin Signaling and PI3-K/Akt Oncogenic Pathway in Colon Cancer. **Cancer Investigation**, v. 35, n. 7, p. 473–483, 9 ago. 2017.

JAKOB, M. et al. Role of cancer stem cell markers ALDH1, BCL11B, BMI-1, and CD44 in the prognosis of advanced HNSCC. **Strahlentherapie und Onkologie**, v. 197, n. 3, p. 231–245, 1 mar. 2021.

JENSEN, M. M. et al. Tumor volume in subcutaneous mouse xenografts measured by microCT is more accurate and reproducible than determined by ¹⁸F-FDG-microPET or external caliper. **BMC Medical Imaging**, v. 8, n. 1, p. 16, dez. 2008.

KAHN, M. Wnt Signaling in Stem Cells and Cancer Stem Cells: A Tale of Two Coactivators. Em: **Progress in Molecular Biology and Translational Science**. [s.l.] Elsevier, 2018. v. 153p. 209–244.

KANDOTH, C. et al. Mutational landscape and significance across 12 major cancer types. **Nature**, v. 502, n. 7471, p. 333–339, 17 out. 2013.

KARTHA, V. K. et al. Functional and genomic analyses reveal therapeutic potential of targeting β -catenin/CBP activity in head and neck cancer. **Genome Medicine**, v. 10, n. 1, p. 54, 20 jul. 2018.

KEYVANI-GHAMSARI, S. et al. Current understanding of epigenetics mechanism as a novel target in reducing cancer stem cells resistance. **Clinical Epigenetics**, v. 13, n. 1, p. 120, 29 maio 2021.

KIM, B. W. et al. Clinical significance of OCT4 and SOX2 protein expression in cervical cancer. **BMC Cancer**, v. 15, n. 1, p. 1015, 26 dez. 2015.

KOHN, A. D.; MOON, R. T. Wnt and calcium signaling: β -Catenin-independent pathways. **Cell Calcium**, v. 38, n. 3–4, p. 439–446, set. 2005.

- KOMIYA, Y.; HABAS, R. Wnt signal transduction pathways. **Organogenesis**, v. 4, n. 2, p. 68–75, abr. 2008.
- LAWRENCE, C. L.; BALDWIN, A. S. Non-Canonical EZH2 Transcriptionally Activates RelB in Triple Negative Breast Cancer. **PLOS ONE**, v. 11, n. 10, p. e0165005, 20 out. 2016.
- LEE, N. P. et al. Tumor xenograft animal models for esophageal squamous cell carcinoma. **Journal of Biomedical Science**, v. 25, n. 1, p. 66, 29 ago. 2018.
- LEE, S. H. et al. Wnt/ β -catenin signalling maintains self-renewal and tumorigenicity of head and neck squamous cell carcinoma stem-like cells by activating Oct4. **The Journal of Pathology**, v. 234, n. 1, p. 99–107, set. 2014.
- LI, C. et al. Transcriptional factor OCT4 promotes esophageal cancer metastasis by inducing epithelial-mesenchymal transition through VEGF-C/VEGFR-3 signaling pathway. **Oncotarget**, v. 8, n. 42, p. 71933–71945, 22 set. 2017a.
- LI, J. et al. KDM3 epigenetically controls tumorigenic potentials of human colorectal cancer stem cells through Wnt/ β -catenin signalling. **Nature Communications**, v. 8, n. 1, p. 15146, 28 abr. 2017b.
- LI, L. et al. Overexpression of β -Catenin Induces Cisplatin Resistance in Oral Squamous Cell Carcinoma. **BioMed Research International**, v. 2016, p. 5378567, 2016.
- LI, L. et al. KDM1A Identified as a Potential Oncogenic Driver and Prognostic Biomarker via Multi-Omics Analysis. **Canadian Journal of Infectious Diseases and Medical Microbiology**, v. 2021, p. 1–18, 9 dez. 2021.
- LIMA DE OLIVEIRA, J. et al. Epithelial-mesenchymal transition and cancer stem cells: A route to acquired cisplatin resistance through epigenetics in HNSCC. **Oral Diseases**, 11 abr. 2022.
- LIN, H. et al. DHX32 Promotes Angiogenesis in Colorectal Cancer Through Augmenting β -catenin Signaling to Induce Expression of VEGFA. **eBioMedicine**, v. 18, p. 62–72, 1 abr. 2017.
- LIU, J. et al. Wnt/ β -catenin signalling: function, biological mechanisms, and therapeutic opportunities. **Signal Transduction and Targeted Therapy**, v. 7, n. 1, p. 3, dez. 2022.
- LIU, L. et al. FH535, a β -catenin pathway inhibitor, represses pancreatic cancer xenograft growth and angiogenesis. **Oncotarget**, v. 7, n. 30, p. 47145–47162, 26 jul. 2016.
- LIU, P. et al. SOX2 Promotes Cell Proliferation and Metastasis in Triple Negative Breast Cancer. **Frontiers in Pharmacology**, v. 9, 2018.
- LIU, S. et al. G9a is essential for EMT-mediated metastasis and maintenance of cancer stem cell-like characters in head and neck squamous cell carcinoma. **Oncotarget**, v. 6, n. 9, p. 6887–6901, 29 jan. 2015.
- LIU, Y. et al. ICG-001 suppresses growth of gastric cancer cells and reduces chemoresistance of cancer stem cell-like population. **Journal of Experimental & Clinical Cancer Research : CR**, v. 36, p. 125, 11 set. 2017.
- LIU, Y. et al. LncRNA CACS15 accelerates the malignant progression of ovarian cancer through stimulating EZH2-induced inhibition of APC. **American Journal of Translational Research**, v. 11, n. 10, p. 6561–6568, 15 out. 2019.

MA, X.-L. et al. Sphere-forming culture enriches liver cancer stem cells and reveals Stearoyl-CoA desaturase 1 as a potential therapeutic target. **BMC Cancer**, v. 19, n. 1, p. 760, 1 ago. 2019.

MARTIN-OROZCO, E. et al. WNT Signaling in Tumors: The Way to Evade Drugs and Immunity. **Frontiers in Immunology**, v. 10, p. 2854, 20 dez. 2019.

NAWARA, H. M. et al. Paclitaxel-Based Chemotherapy Targeting Cancer Stem Cells from Mono- to Combination Therapy. **Biomedicines**, v. 9, n. 5, p. 500, 2 maio 2021.

NÖR, C. et al. Cisplatin induces Bmi-1 and enhances the stem cell fraction in head and neck cancer. **Neoplasia (New York, N.Y.)**, v. 16, n. 2, p. 137–146, fev. 2014.

OKAMOTO, A. et al. Expansion and characterization of cancer stem-like cells in squamous cell carcinoma of the head and neck. **Oral Oncology**, v. 45, n. 7, p. 633–639, jul. 2009.

OUBAN, A. SALL4 stemness agent expression in oral squamous cell cancer and its clinical significance. **Biotechnology & Biotechnological Equipment**, v. 35, n. 1, p. 665–673, 1 jan. 2021.

PALUSZCZAK, J. The Significance of the Dysregulation of Canonical Wnt Signaling in Head and Neck Squamous Cell Carcinomas. **Cells**, v. 9, n. 3, p. 723, 15 mar. 2020a.

PALUSZCZAK, J. The Significance of the Dysregulation of Canonical Wnt Signaling in Head and Neck Squamous Cell Carcinomas. **Cells**, v. 9, n. 3, p. 723, 15 mar. 2020b.

PARK, J. W.; HAN, J.-W. Targeting epigenetics for cancer therapy. **Archives of Pharmacal Research**, v. 42, n. 2, p. 159–170, fev. 2019.

PATRA, T. et al. A combination of AZD5363 and FH5363 induces lethal autophagy in transformed hepatocytes. **Cell Death & Disease**, v. 11, n. 7, p. 1–13, 17 jul. 2020.

PFISTER, D. G. et al. Head and neck cancers. **Journal of the National Comprehensive Cancer Network: JNCCN**, v. 9, n. 6, p. 596–650, 1 jun. 2011.

PORAZZI, P. et al. Targeting Chemotherapy to Decondensed H3K27me3-Marked Chromatin of AML Cells Enhances Leukemia Suppression. **Cancer Research**, v. 82, n. 3, p. 458–471, 2 fev. 2022.

QIANG, R. et al. MLL1 promotes cervical carcinoma cell tumorigenesis and metastasis through interaction with β -catenin. **OncoTargets and Therapy**, v. 9, p. 6631–6640, 2016.

RAMPERSAD, S. N. Multiple Applications of Alamar Blue as an Indicator of Metabolic Function and Cellular Health in Cell Viability Bioassays. **Sensors (Basel, Switzerland)**, v. 12, n. 9, p. 12347–12360, 10 set. 2012.

REERS, S. et al. Stem cell profiling in head and neck cancer reveals an Oct-4 expressing subpopulation with properties of chemoresistance. **Oral Oncology**, v. 50, n. 3, p. 155–162, mar. 2014.

REYES, M. et al. Wnt/ β -Catenin Signaling in Oral Carcinogenesis. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 13, p. 4682, 30 jun. 2020.

RIZQ, O. et al. Dual Inhibition of EZH2 and EZH1 Sensitizes PRC2-Dependent Tumors to Proteasome Inhibition. **Clinical cancer research: an official journal of the American Association for Cancer Research**, v. 23, n. 16, p. 4817–4830, 15 ago. 2017.

RODRÍGUEZ-UBREVA, J.; BALLESTAR, E. Chromatin Immunoprecipitation. Em: STOCKERT, J. C.; ESPADA, J.; BLÁZQUEZ-CASTRO, A. (Eds.). **Functional Analysis of DNA and Chromatin**. Methods in Molecular Biology. Totowa, NJ: Humana Press, 2014. v. 1094p. 309–318.

ROY, S. et al. Role of p38 MAPK in disease relapse and therapeutic resistance by maintenance of cancer stem cells in head and neck squamous cell carcinoma. **Journal of Oral Pathology & Medicine: Official Publication of the International Association of Oral Pathologists and the American Academy of Oral Pathology**, v. 47, n. 5, p. 492–501, maio 2018.

ROY, S. et al. Inhibition of CD44 sensitizes cisplatin-resistance and affects Wnt/ β -catenin signaling in HNSCC cells. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 149, p. 501–512, 15 abr. 2020.

RYBAK, A. P.; BRISTOW, R. G.; KAPOOR, A. Prostate cancer stem cells: deciphering the origins and pathways involved in prostate tumorigenesis and aggression. **Oncotarget**, v. 6, n. 4, p. 1900–1919, 10 fev. 2015.

SAIGUSA, N. et al. The Role of the EZH2 and H3K27me3 Expression as a Predictor of Clinical Outcomes in Salivary Duct Carcinoma Patients: A Large-Series Study With Emphasis on the Relevance to the Combined Androgen Blockade and HER2-Targeted Therapy. **Frontiers in Oncology**, v. 11, 2022.

SHAHOUMI, L. A. Oral Cancer Stem Cells: Therapeutic Implications and Challenges. **Frontiers in Oral Health**, v. 2, 2021.

SHI, Y. et al. Inhibition of EZH2 suppresses peritoneal angiogenesis by targeting a VEGFR2/ERK1/2/HIF-1 α dependent signaling pathway. **The Journal of Pathology**, 6 jul. 2022.

SIERRA, J. et al. The APC tumor suppressor counteracts β -catenin activation and H3K4 methylation at Wnt target genes. **Genes & Development**, v. 20, n. 5, p. 586–600, 1 mar. 2006.

SONG, H. et al. Androgen receptor drives hepatocellular carcinogenesis by activating enhancer of zeste homolog 2-mediated Wnt/ β -catenin signaling. **EBioMedicine**, v. 35, p. 155–166, set. 2018a.

SONG, N. et al. FGF18 Enhances Migration and the Epithelial-Mesenchymal Transition in Breast Cancer by Regulating Akt/GSK3 β /B-Catenin Signaling. **Cellular Physiology and Biochemistry**, v. 49, p. 1019–1032, 1 set. 2018b.

STEINHART, Z. et al. Genome-wide CRISPR screens reveal a Wnt–FZD5 signaling circuit as a druggable vulnerability of RNF43-mutant pancreatic tumors. **Nature Medicine**, v. 23, n. 1, p. 60–68, jan. 2017.

SUN, Y. et al. MicroRNA-506-3p increases the response to PARP inhibitors and cisplatin by targeting EZH2/ β -catenin in serous ovarian cancers. **Translational Oncology**, v. 14, n. 2, p. 100987, fev. 2021.

SUN, Z. et al. Head and Neck Squamous Cell Carcinoma: Risk Factors, Molecular Alterations, Immunology and Peptide Vaccines. **International Journal of Peptide Research and Therapeutics**, v. 28, n. 1, p. 19, jan. 2022.

SZKLARCZYK, D. et al. STRING v11: protein–protein association networks with increased coverage, supporting functional discovery in genome-wide experimental datasets. **Nucleic Acids Research**, v. 47, n. D1, p. D607–D613, 8 jan. 2019.

TANAKA, H. et al. Nuclear Accumulation of β -Catenin in Cancer Stem Cell Radioresistance and Stemness in Human Colon Cancer. **Anticancer Research**, v. 39, n. 12, p. 6575–6583, dez. 2019.

TANG, D. G. Understanding cancer stem cell heterogeneity and plasticity. **Cell Research**, v. 22, n. 3, p. 457–472, mar. 2012.

TEIMOORI-TOOLABI, L.; AZADMANESH, K.; ZEINALI, S. Selective suicide gene therapy of colon cancer cell lines exploiting fibroblast growth factor 18 promoter. **Cancer Biotherapy & Radiopharmaceuticals**, v. 25, n. 1, p. 105–116, fev. 2010.

TODARO, M. et al. Colon Cancer Stem Cells: Promise of Targeted Therapy. **Gastroenterology**, v. 138, n. 6, p. 2151–2162, maio 2010.

TORRE, L. A. et al. Global cancer statistics, 2012: Global Cancer Statistics, 2012. **CA: A Cancer Journal for Clinicians**, v. 65, n. 2, p. 87–108, mar. 2015.

VIGNESWARAN, N.; WILLIAMS, M. D. Epidemiologic Trends in Head and Neck Cancer and Aids in Diagnosis. **Oral and Maxillofacial Surgery Clinics of North America**, v. 26, n. 2, p. 123–141, maio 2014.

WEN, Y. et al. Role of EZH2 in cancer stem cells: from biological insight to a therapeutic target. **Oncotarget**, v. 8, n. 23, p. 37974–37990, 6 jun. 2017.

WEN, Y. et al. EZH2 activates CHK1 signaling to promote ovarian cancer chemoresistance by maintaining the properties of cancer stem cells. **Theranostics**, v. 11, n. 4, p. 1795–1813, 2021.

WEND, P. et al. Wnt/ β -catenin signalling induces MLL to create epigenetic changes in salivary gland tumours. **The EMBO Journal**, v. 32, n. 14, p. 1977–1989, 4 jun. 2013.

WIEHLE, L.; BREILING, A. Chromatin Immunoprecipitation. Em: LANZUOLO, C.; BODEGA, B. (Eds.). **Polycomb Group Proteins**. Methods in Molecular Biology. New York, NY: Springer New York, 2016. v. 1480p. 7–21.

WIESE, M. et al. The β -catenin/CBP-antagonist ICG-001 inhibits pediatric glioma tumorigenicity in a Wnt-independent manner. **Oncotarget**, v. 8, n. 16, p. 27300–27313, 18 abr. 2017.

XIE, J. et al. Roles of the Wnt Signaling Pathway in Head and Neck Squamous Cell Carcinoma. **Frontiers in Molecular Biosciences**, v. 7, 2021.

XU, J. et al. β -Catenin Is Required for the Tumorigenic Behavior of Triple-Negative Breast Cancer Cells. **PLoS ONE**, v. 10, n. 2, p. e0117097, 6 fev. 2015.

YANG, C. et al. Histone methyltransferase and drug resistance in cancers. **Journal of Experimental & Clinical Cancer Research : CR**, v. 39, p. 173, 28 ago. 2020.

YANG, Y. et al. Targeting the canonical Wnt/ β -catenin pathway in cancer radioresistance: Updates on the molecular mechanisms. **Journal of Cancer Research and Therapeutics**, v. 15, n. 2, p. 272–277, 2019.

YUAN, H. et al. Histone methyltransferase SETD2 modulates alternative splicing to inhibit intestinal tumorigenesis. **Journal of Clinical Investigation**, v. 127, n. 9, p. 3375–3391, 21 ago. 2017.

ZHANG, D.-M. et al. lncRNA H19 promotes tongue squamous cell carcinoma progression through β -catenin/GSK3 β /EMT signaling via association with EZH2. **American Journal of Translational Research**, v. 9, n. 7, p. 3474–3486, 15 jul. 2017.

ZHANG, Q. et al. A subpopulation of CD133+ cancer stem-like cells characterized in human oral squamous cell carcinoma confer resistance to chemotherapy. **Cancer Letters**, v. 289, n. 2, p. 151–160, mar. 2010.

ZHANG, Y.; WANG, X. Targeting the Wnt/ β -catenin signaling pathway in cancer. **Journal of Hematology & Oncology**, v. 13, n. 1, p. 165, 4 dez. 2020.

ZHAO, M. et al. Targeting of EZH2 inhibits epithelial-mesenchymal transition in head and neck squamous cell carcinoma via regulating the STAT3/VEGFR2 axis. **International Journal of Oncology**, v. 55, n. 5, p. 1165–1175, 1 nov. 2019.

ZHU, G.-X. et al. Wnt/ β -catenin signaling: Causes and treatment targets of drug resistance in colorectal cancer (Review). **Molecular Medicine Reports**, v. 23, n. 2, p. 1–1, 1 fev. 2021.

ZHU, P. et al. lnc- β -Catm elicits EZH2-dependent β -catenin stabilization and sustains liver CSC self-renewal. **Nature Structural & Molecular Biology**, v. 23, n. 7, p. 631–639, jul. 2016.

