

信号传导及转录活化因子STAT与消化系统疾病的关系

俞丽芬, 吴云林

俞丽芬, 吴云林, 上海第二医科大学附属瑞金医院消化科 上海市 200025
上海市科技发展基金资助项目, No. 024119114
项目负责人: 俞丽芬, 200025, 上海市瑞金二路 197 号, 上海第二医科大学
附属瑞金医院消化科. graceyu1028@sohu.com
电话: 021-64370045 传真: 021-64150773
收稿日期: 2003-11-13 接受日期: 2004-01-12

摘要

信号传导及转录活化因子(signal transducers and activators of transcription, STAT)家族包括 7 个成员, 他不仅参与正常的生理过程, 而且还存在于肿瘤组织中. 信号通常产生于细胞膜表面的受体, 酪氨酸激酶被组成性激活后再激活 STAT 分子并使之磷酸化, 然后进入细胞核内, STAT 在核内与特异性的 DNA 启动子结合, 调节相关基因的表达. 正常生理条件下各种 STAT 蛋白的活化过程是短暂的, 通常持续数分钟至几小时. 大多数人类肿瘤中都有 STAT 的组成性激活, 尤其是 Stat1、Stat3 和 Stat5. Stat1 的功能主要与生长抑制有关, 而 Stat3 和 Stat5 可通过抑制凋亡或诱导细胞增生作用参与肿瘤的发生和发展. 通过小分子抑制剂阻断酪氨酸激酶的信号传导, 可抑制不同肿瘤细胞株中 Stat3 或 Stat5 的组成性激活. 相对而言, 缺乏 STAT 活性作用的正常细胞或肿瘤细胞对药物的耐受能力更强, 如使用非显性 STAT 或反义寡核苷酸, 直接干预 STAT 信号时可获得相似的效应. 有关 STAT 信号途径的研究为人类肿瘤的干预治疗提供了新的分子标靶. 目前国内外关于 STAT 在消化系统疾病中的研究才刚刚起步, 发展前景广阔, 本文就其研究进展作一综述.

俞丽芬, 吴云林. 信号传导及转录活化因子 STAT 与消化系统疾病的关系. 世界华人消化杂志 2004;12(5):1196-1201

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/12/1196.asp>

0 引言

信号传导及转录活化因子(signal transducers and activators of transcription, STAT)是细胞因子和生长因子受体信号的下游效应物. 相对正常的细胞和组织而言, 大多数人类原发癌灶及肿瘤细胞株中都有 STAT 的组成性激活. STAT 可被磷酸化的酪氨酸(包括 Src、上皮生长因子受体、Janus 激酶、Bcr-Abl 等)激活, 但这种激活通常是短暂的, 取决于酪氨酸激酶活性的持续时间. 具有致癌作用的酪氨酸激酶的活化通常与自分泌或旁分泌细胞因子和生长因子信号相关, 是受体/配体被激活的结果; 或者他们本身就是组成性激活的酶, 是肿瘤细胞基因改变的结果. STAT 特异性信号的持续, 尤其

是 Stat3 和 Stat5, 已被证明是通过刺激细胞的增生和抑制凋亡而直接与肿瘤的形成相关. STAT 能编码凋亡抑制剂和细胞周期调节剂, 通过上调 Bcl-x_L、Mcl-1、cyclins D1/D2 和 c-myc 基因的作用参与肿瘤的形成. 通过抑制 STAT 信号途径的组成性激活, 可抑制体内外肿瘤细胞的生长, 为人类肿瘤的干预治疗提供了一种新方法. 本文综述了消化系统疾病中 STAT 组成性激活重要作用的新进展, STAT 对消化系统肿瘤转变过程中相关基因的调控作用以及干扰 STAT 信号的传导对人类肿瘤治疗的意义.

1 STAT 信号途径的结构和功能的关系

目前在哺乳动物中已鉴定出 STAT 家族的 7 个成员, Stat1、Stat2、Stat3、Stat4、Stat5a、Stat5b 和 Stat6^[1]. 信号通常产生于细胞膜表面的受体, 然后传输至细胞核内, STAT 在细胞核内与特异性的 DNA 启动子结合, 调节相关基因的表达^[2-6].

关于 STAT 信号途径的基础研究, 揭示了许多参与转录因子活化作用的分子机制. STAT 与细胞表面的细胞因子同源性受体结合后, 受体发生二聚体化, 随后激活与受体相关的酪氨酸激酶如 JAKs^[1, 7]; 而具有内源性酪氨酸激酶活性的受体, 如血小板衍生因子或 EGF 受体, 能自发地使受体磷酸化. 在某些情况下, Src 家族中非酪氨酸激酶受体也参与 STAT 的活化. 磷酸化的酪氨酸受体通过其 SH2 域为细胞质中的 STAT 蛋白单体提供停泊位点^[8]. 与受体结合的 STAT 随后完成酪氨酸磷酸化^[2, 7, 9-10]. 具致瘤性的非酪氨酸激酶受体衍生物如 v-Src 或 Bcr-Abl 能独立完成 STAT 磷酸化而无需受体的参与^[10-13]. 磷酸化后的 STAT 通过与 SH2 域的相互作用发生二聚体化^[1, 14]. 在数分钟内, 二聚体移位于细胞核内, 与其他转录调节剂相互作用, 诱导基因的表达^[1, 3]. 通过胞核内的酪氨酸磷酸酶和/或通过蛋白降解, STAT 脱磷酸化, 从而终止信号的传导.

尽管各种 STAT 蛋白功能不同, 但通过晶体照相术和序列对比以及诱变缺失试验对 Stat1 和 Stat3 的核心、Stat4 的 NH₂ 末端进行的研究揭示了 STAT 结构的共同特点^[14-15]. STAT 的 NH₂ 末端为蛋白之间的相互作用提供了位点, 这也是二聚体之间相互作用所必需的. 相邻的螺旋区是与另一蛋白交互作用的位点, 他为转录因子和其他调节蛋白的联系提供了可能^[3]. 位于分子中心的 DNA 结合区决定了各种 STAT DNA 序列的特异性^[14-15]. 参与 DNA 结合的连接区位于 SH2 域的 COOH 末端, 能

募集 STAT 与磷酸化受体的结合, 从 STAT 单体转变为二聚体也需要 SH2 域的酪氨酸磷酸化作用^[16]. 重要的酪氨酸残基是 SH2 域发生酪氨酸磷酸化所必需, 因此 STAT 的活化位于 SH2 域的附近. 转录激活区(TAD)位于分子的 COOH 末端, 参与转录复合物的联系, Stat1 和 Stat3 含有丝氨酸磷酸化的位点, 能增强转录活性^[17]. TAD 区的主要氨基酸序列因不同的 STAT 而不同, 但缺失试验显示这些序列是 STAT 功能所必需. TAD 缺失的 STAT 仍能与 DNA 结合并发挥作用, 但通常是一个非显性的副本^[18-19]. 这种缩短了的形式, 如 Stat3 β ^[20], 被认为是一种自然变异, 其正常生理功能未明. Stat3C 的组成性激活无需酪氨酸磷酸化作用, 常在恶性转化过程中发挥作用.

众多研究表明酪氨酸激酶可被组成性激活, 然后再激活 STAT 分子并使之磷酸化^[21]. 具有致癌作用的酪氨酸激酶信号源于细胞因子和生长因子的持续刺激, 如多发性骨髓瘤和前列腺癌中白介素(IL)6 介导的 JAK 信号途径, 也可源自于头颈部肿瘤中转化生长因子 TGF 介导的 EGF 受体信号系统^[22-23]. 另外, 某些肿瘤有基因的异常变化, 如 CML 中有 Bcr-Abl 融合蛋白, 表明酪氨酸激酶的活化还有其他机制存在^[12, 24]. 作为酪氨酸激酶信号系统重要调节剂的 STAT 不仅参与正常生理过程, 而且还存在于有异常酪氨酸激酶活化的肿瘤组织中.

2 消化系统疾病中 STAT 的组成性激活及其作用

许多细胞因子和生长因子都能激活 STAT^[7, 9, 25], 生理条件下各种 STAT 蛋白的活化过程是短暂的, 通常持续数分钟至几小时. 大多数人类肿瘤中也有 STAT 的组成性激活, 尤其是 Stat1、Stat3 和 Stat5^[10, 26-27]. 如恶性血液系统疾病(白血病, 淋巴瘤和多发性骨肉瘤)和实体瘤(如头颈部肿瘤、乳癌和前列腺癌)^[10, 12, 24, 28-30]. 有证据表明, Stat1 在一些肿瘤组织和细胞株中有较高的活性, 他的功能主要与生长抑制有关, 因此被认为是一种潜在的肿瘤抑制剂^[31]. 而 Stat3 和 Stat5 与之相反, 可通过抑制凋亡或诱导细胞增生作用参与肿瘤的发生和发展^[10, 26-27].

炎症性肠病(IBD)中有肿瘤坏死因子 TNF- α 、IL-6 和干扰素(IFN) γ 等炎症细胞因子的过度表达, 以及核转录因子(NF) κ B 等的激活. Schreiber et al^[32]为了探讨 Stat1 在 IBD 患者中的激活和表达情况, 共研究了 60 例内镜结肠活检标本, 其中活动性 IBD 患者 42 例, 疾病特异性对照 8 例, 正常对照 8 例. 结果显示, 溃疡性结肠炎(UC)患者的黏膜标本中有 Stat1 的激活和表达增强, 而 Crohn 病患者则较少见. Crohn 病患者和正常对照组都有细胞因子信号抑制剂(suppressor of cytokine signaling, SOCS)3 的高水平表达, 而 SOCS-1 的表达无显著差异. 炎症黏膜的单核细胞和中性粒细胞中均有磷酸化的 Stat1(p-Stat1)表达. 系统给予糖皮质激素治疗可缓解症状并降低 p-Stat1 水平. 体外研究表明, 类固

醇治疗对 Stat1 的活化有直接作用, 因此认为 Stat1 的激活和表达增强主要见于 UC 患者, 他在结肠炎症的病理生理学中发挥了重要作用.

Starkel et al^[33]分别将酒精性肝病(ALD)患者、正常人和原发性胆汁性肝硬化患者的肝脏组织移植于大鼠体内, 然后给予大鼠肝脏酒精刺激, 研究 ALD 患者中 Stat3 的表达、定位和活性. 结果 ALD 患者的 Stat3 蛋白表达显著增强, 主要见于肝细胞和增生的胆道上皮细胞核. 尽管 ALD 患者 Stat3 的酪氨酸和丝氨酸磷酸化水平没有变化, 但是未发现有 Stat3 DNA 结合的复合体; 而正常人和原发性胆汁性肝硬化患者的肝脏中 Stat3 的 DNA 结合力正常. ALD 患者中可见 IL-6 mRNA 表达增加, 而 Stat3 和 SOCS-3 的 mRNA 表达水平却减少了. 虽然 ALD 终末期患者有 Stat3 蛋白水平的上调, 但这时转录因子是无活性的. 减少 ALD 患者 Stat3 基因的转录会影响胞质对无活性 Stat3 的储留. 对 Stat3 活化和复活的干预将导致肝细胞损伤从而使 ALD 患者发生肝硬化.

Tacchini et al^[34]对大鼠肝脏经热休克、缺血再灌注后 Stat3 的活化状态进行研究, 两种处理后 Stat3 的 DNA 结合力都被激活, 并且 Stat3 的 mRNA 和蛋白的表达也增强. 在这两种情况下, Stat3 的磷酸化是迅速的, 且先于 Stat3 蛋白表达的增强. Stat3 的活化也是有功能的, 其后有靶基因中 α 酸性糖蛋白的转录. 经 IL-1 受体拮抗剂预处理后, 热休克条件下可强烈抑制 Stat3 的活化; 而缺血再灌注对 Stat3 活化的抑制作用较轻. 部分活化的过程是通过细胞因子的级联反应介导的, 如 IL-6. 这一结果与不同处理可激活相同转录因子的假设一致.

目前有关 Crohn 病的发病机制尚不明确, 但肠道细胞因子内环境的稳定性受到干扰是其主要病因之一. Lovato et al^[35]对健康志愿者和 Crohn 病患者肠道 T 细胞中 Stat3 的组成性激活进行研究, 发现 Crohn 病患者中有 Stat3 和 Stat4 的组成性激活, 并且这一激活作用是特异性的(未见其他 STAT 蛋白的组成性激活), 但在健康志愿者中却无此现象. 此外, Stat3 调节蛋白 SOCS-3 在 Crohn 病患者中也有组成性激活, 而健康志愿者亦无此表现. 上述结果表明, Crohn 病患者中存在异常的 STAT/SOCS 信号. 对 Crohn 病患者肠道 T 细胞中 Stat3 的组成性激活的研究, 有助于更深入地了解 Crohn 病的免疫发病机制.

Stat3 是胚胎早期发育所必需的. 有报道认为缺乏 Stat3 的小鼠在出生前就已死亡^[36]. Welte et al^[37]建立了一种独特的小鼠品系, 在造血过程中其骨髓细胞具有组织特异性 Stat3 缺失. 这种特异性 Stat3 缺失使小鼠在出生 4-6 wk 后死亡, 其小肠和大肠有 Crohn 病样的病理表现, 包括节段性的炎性细胞浸润、溃疡、肠壁增厚和肉芽肿形成. Stat3 的缺失显著提高了髓样细胞的自发增生. 更重要的是, 在血细胞生成过程中会导致先天免疫应答的假性激活. 虽然在这些小鼠中有炎性细胞因子

的过度产生, 包括 TNF- α 和 IFN- γ , 但是参与抗炎和先天免疫应答的NADPH氧化酶的活性被抑制了. Stat3的缺失使小鼠对脂多糖的信号应答发生改变, 引起NF- κ B活性的增强. 因此, Stat3在先天免疫形成和调节过程中发挥了重要的作用, 造血过程中 Stat3的缺失将导致髓样细胞的增生异常和 Crohn 病样的病理表现.

通过剔除 STAT 的小鼠和 / 或有组织特异性缺失的研究, 对各种 STAT 蛋白正常生理功能的认识取得了相当的进展^[38-40]. Stat3 对上皮细胞凋亡、乳腺退化、皮肤的重塑、角质细胞的移行和巨噬细胞的失活有调节作用, 并且能下调 T 辅助细胞反应中炎性细胞因子的作用^[41-43]. 这些实验表明 STAT 信号在正常细胞的演变过程中发挥了重要的作用, 如胚胎发育、器官的发生和功能、先天和获得性的免疫功能、细胞分化、生长和凋亡的调节等^[44-53].

Stat3 对细胞生长有正性调节作用, 并且在癌细胞中有高度的活性^[10, 20, 54]. 梁斌 et al^[55]探讨了人胃癌中 Stat3 的表达情况, 并分析了其表达与胃癌临床病理因素的关系. 结果发现, 胃癌 Stat3 蛋白表达水平明显高于正常胃黏膜, 平均为正常胃黏膜的 2.14 倍 ($P < 0.05$); 低分化胃癌 Stat3 蛋白表达水平高于高分化胃癌 ($P < 0.05$); III、IV 期胃癌 Stat3 蛋白表达水平高于 I、II 期胃癌 ($P < 0.05$); 有淋巴结转移的胃癌 Stat3 蛋白表达水平高于无淋巴结转移胃癌 ($P < 0.05$); 转移淋巴结 Stat3 蛋白表达水平高于阴性淋巴结. 认为 Stat3 的过度表达可能在胃癌的发生、发展过程中发挥重要作用, 其表达与胃癌组织分化程度、TNM 分期及淋巴结转移有关.

通过在已建立的细胞株、原代细胞培养、动物模型和临床肿瘤组织及相邻的正常组织标本中进行的研究推论, Stat3 和 Stat5 的组成性激活积极参与了肿瘤的发展^[3, 10, 26-27]. 1995 年 Yu et al^[56]在 v-Src 转型研究中发现有 Stat3 的组成性激活, 首次提出 Stat3 在恶性化进程中具有重要作用. 许多新近研究也证实了这一观点, Stat3 信号的激活是通过 v-Src 向肿瘤转变所必需的^[57-60]. 冯德云 et al^[61]检测了 55 例肝细胞癌 (HCC) 及其癌旁组织中磷酸化 Stat3 (p-Stat3)、c-fos 和 c-jun 蛋白的表达. 结果显示 HCC 中 p-Stat3、c-fos 和 c-jun 蛋白的阳性率和阳性强度均高于癌旁组织 ($P < 0.01$), 且 p-Stat3 与 c-fos 和 c-jun 蛋白表达强度均呈明显正相关, 而在癌旁组织中 p-Stat3 仅与 c-jun 蛋白表达相关, 提示 Stat3 蛋白的磷酸化可能是 HCC 发生的早期事件, 并通过激活 c-fos 和 c-jun 基因使肝细胞发生恶性转化; 癌旁肝组织中 p-Stat3、c-jun 或 c-fos 呈阳性表达的肝细胞可能是一种具有恶性潜能的癌前细胞群.

采用反义寡核苷酸和非显性 Stat3 蛋白 Stat3 β 阻断 Stat3 的 DNA 结合, 进一步确定了 Stat3 在肿瘤形成过程中的重要作用^[23, 28-29]. 分化诱导因子 (DIF) 1 对多种哺乳动物的肿瘤细胞具有抗肿瘤活性. Kanai et al^[62]研究了 DIF-1 对胃癌细胞株的增生以及对 STAT 蛋白信号传导

途径的影响发现, DIF-1 通过依赖 MEK-ERK 的途径抑制胃癌细胞株 AGS 和 MKN28 中 Stat3 的活性. 通过非显性 Stat3 的异常表达可抑制 Stat3 的活性, 或通过两面神激酶 (Janus kinase) 抑制剂 tyrphostin AG490 抑制 AGS 细胞的生长, 提示 Stat3 的活性对 AGS 细胞的生长具有重要作用, 抑制 Stat3 的活性有助于提高 DIF-1 的抗肿瘤效果.

马向涛 et al^[63]应用阳离子脂质体介导 Stat3 反义寡核苷酸转染人结肠癌 SW480 与 HCT116 细胞, 阻断其 Stat3 通路, 探讨了 Stat3 信号传导通路对结肠癌细胞 G₁-S 期调控的可能机制. 结果发现, 转染 Stat3 反义寡核苷酸后结肠癌细胞增生受抑制, Stat3、p-Stat3、G₁ 期 Cyclins、CDK_s 表达水平下降, p21 与 p27 表达水平上升. 认为 Stat3 信号传导通路可能通过调节 CDK/Cyclin 复合物与 CKI 成员之间的平衡而调节结肠癌细胞 G₁-S 期的转换.

有关 Stat3 突变体 Stat3C 的遗传学证据表明, Stat3C 具有内源性致癌潜能. Stat3C 蛋白的稳定表达足以介导啮齿动物的成纤维细胞转变, Stat3C 引起的细胞转化在裸小鼠中能形成移植瘤^[20]. 除了 v-Src 以外, v-Eyk, v-Ros, v-Fps, Etk/BMX, Lck 等酪氨酸激酶也具有向肿瘤转变的能力^[10].

3 STAT 对消化道肿瘤转化过程中相关基因的调控作用与其在肿瘤形成过程中所起的作用相同, Stat3 和 Stat5 信号的活化对参与控制生长和生存的数种基因的表达有调节作用^[3, 10]. 众多研究显示凋亡抑制基因编码的 Bcl-x_L 蛋白是 Stat3 和 Stat5 的下游靶目标^[20, 30, 64-66]. 胰腺肿瘤由于确诊晚且患者对药物有高度的耐受性, 因而疗效甚微, 总体预后较差. Greten et al^[67]等将 EL-TGF α -hGH 转基因小鼠与 p53 缺失的小鼠杂交, 通过胰腺转基因小鼠中 TGF- α 的过度表达能引起胰腺导管的癌前病变和侵入性导管腺癌形成的作用, 建立了类似人类胰腺导管腺癌的动物模型, 探讨小鼠胰腺肿瘤形成过程中凋亡和凋亡抑制信号的调节作用. 研究发现, 在肿瘤形成早期 Bcl-x_L 表达就有明显的上调, 并且持续贯穿于肿瘤的形成过程. 在癌前病变和肿瘤细胞中 Stat3 和 NF- κ B 能诱导 Bcl-x_L 表达的增加. 瞬时转染分析显示, 单独抑制上述任何一种转录因子都会下调 Bcl-x_L 的表达. 功能分析显示, 同时阻滞 Stat3 和 NF- κ B 可诱导小鼠胰腺肿瘤细胞的程序性死亡. 因此认为在侵入性胰腺癌形成前肿瘤细胞就有凋亡抑制的表现, 联合抑制 Stat3 和 NF- κ B 可能是预防和治疗胰腺肿瘤的一种新方法.

另一个被 Stat3 和 Stat5 调节的细胞周期控制基因是细胞周期素 (cyclins). D 型 cyclins, 如 cyclin D1、D2 和 D3 在肝细胞的增生和转化过程中具有重要作用. 而致瘤素 M (OSM) 是一种 IL-6 家族的细胞因子, 他能诱导肝细胞分化, 并能下调原代培养的胎肝细胞中 cyclin D1 和 D2 的表达. Matsui et al^[68]探讨了 Stat3 在肝脏发展中

对 cyclin D 表达的影响作用发现, 活化的 Stat3 或 SHP-2/Ras 中有受体的突变缺失, 提示 cyclin D1 和 D2 表达的下调作用是由于 Stat3 对 OSM 的介导作用, 而并非 SHP-2/Ras 的影响. 非显性 Stat3 的表达, 可缓解由 OSM 诱导的对 cyclin D 表达的抑制作用. 转基因小鼠胎肝细胞中 Stat3 活化后, 有 Stat3 雌激素受体融合蛋白的表达, 可使 cyclin D1 和 D2 的表达受到抑制. 因此, 胎肝细胞中 Stat3 的活化能下调 cyclin D1 和 D2 表达. 此外, 研究还发现 Stat3C 在胎肝细胞中对 cyclin D1 的启动子有转录抑制作用, 而对肝脏肿瘤细胞 huH7 和 HepG2 却有转录刺激作用.

最近研究显示, 组成性激活的 Stat3 信号能诱导 VEGF 的表达和肿瘤血管形成, 提示抑制肿瘤血管形成有助于提高 Stat3 抑制剂的治疗效应. 血管内皮生长因子(VEGF)是一种重要的血管生成素蛋白, 他的表达与胰腺肿瘤的进展有关. 胰腺肿瘤患者标本的免疫组织化学结果提示, VEGF 过度表达的同时有 Stat3 活性的增强. Wei et al [69] 研究发现, 超过 80% 的人胰腺癌细胞株中有 Stat3 的组成性激活, 并且与 VEGF 的表达水平相关. 通过非显性 Stat3 的异常表达抑制 Stat3 的活化, 也会降低 VEGF 的表达、血管形成、肿瘤生长和体内转移. 此外, Stat3 的组成性激活可直接激活 VEGF 的启动子, 而非显性 Stat3 对 VEGF 启动子有抑制作用. 因此 Stat3 对胰腺肿瘤中 VEGF 的表达、血管形成、生长和转移有直接调节作用, 提示 Stat3 信号可作为胰腺肿瘤治疗的靶目标.

4 STAT 分子间的相互作用对自身活性的调节

由于 Stat1、Stat3 和 Stat5 通常被相同的配体和 / 或细胞内的酪氨酸激酶激活, 提示胞质和胞核蛋白能分别与各种 STAT 中的一般和独特的成分相互作用来调节 STAT 的特殊效应. 目前已开发了一部分 STAT 信号途径的调节剂^[70-71]. SOCS 蛋白家族包含了一组细胞因子诱导基因, 通过与 JAKs 的结合抑制 STAT 信号的传导^[72-73]. 这些蛋白中的一部分被 STAT 的自身转录所调节, 提示 STAT 能负性调节自身的磷酸化状况. 已知 SOCS-3 能抑制 Stat3 和 Stat5 的活化, 在负性调节胎肝血细胞发生中具有重要作用^[74]. Tel-JAK2 融合蛋白的激酶活性与 Stat5 的活化相关^[75]. SOCS-1 已被证实有阻断 Tel-JAK2 介导的造血细胞的转化作用^[76]. 最近, 48% 的原发性肝细胞癌中发现有染色体 16p 的缺失, 包括 SOCS-1. 这些基因的失活增加了肝癌形成的可能性^[77]. 由此推测, STAT 信号的负性调节在降低肿瘤的发病率和控制肿瘤的发展中有重要作用.

STAT 蛋白, 如 Stat1、Stat3 和 Stat5, 在 COOH 端都有重要的丝氨酸残基, 为 STAT 分子提供了另一个磷酸化位点. 丝氨酸磷酸化使 STAT 具有最大程度的转录活性. Stat1 中丝氨酸残基发生变异后, 只保留了 20% 野生型 Stat1 的活性, 并且对 IFN 的反应有缺陷^[17]. STAT

磷酸化所需的丝氨酸激酶包括多种丝分裂素 - 活化蛋白激酶家族成员^[78-79]. 目前对 STAT 丝氨酸磷酸化的重要性并未完全了解, 已知 STAT 与其他途径有交叉, 如丝分裂素 - 活化蛋白激酶, 提示 STAT 的作用已深入至信号网络的复合体中.

除丝氨酸激酶之外, 其他 STAT 信号活化剂也已被识别, 包括组蛋白乙酰转移酶(histone acetyl transferases) p300/CBP、转录因子 c-jun、Sp1 和糖皮质激素受体、共激活剂 Nmi 和 MCM、核易位蛋白 NPI-1 和 p48^[3, 70]. 对上述 STAT 信号调节剂的生理作用仍需进一步研究. 由于 STAT 活性的下调作用与肿瘤的发生和进展密切相关, 所以 STAT 分子间的相互作用对自身活性的调节在肿瘤的发生和进展过程中也具有重要作用.

5 STAT 信号与肿瘤的干预治疗

重要的基础研究不仅有助于确定与肿瘤进展相关的特殊癌基因, 而且有助于描绘整个信息通道的整体轮廓. 有关信号途径的认识对肿瘤药物的开发也具有广泛的影响. 通过小分子抑制剂阻断酪氨酸激酶的信号传导, 可抑制不同肿瘤细胞株中 Stat3 或 Stat5 的组成性激活, 这一作用与肿瘤细胞的生长抑制和诱导凋亡相关. 相对而言, 缺乏 STAT 活性作用的正常细胞或肿瘤细胞对药物的耐受能力更强^[29-30, 80-81]. 如使用非显性 STAT 或反义寡核苷酸, 直接干预 STAT 信号时可获得相似的效应^[29]. 目前进行的一些有关细胞培养和动物模型实验, 已确认 Stat3 和 Stat5 信号途径是多种人类肿瘤干预治疗的有效的分子靶^[3, 10, 26, 28]. 今后对 STAT 蛋白仍需进一步探究, 除了发展酪氨酸激酶抑制剂、STAT 反义寡核苷酸和非显性 STAT 蛋白以外, 考虑选择性针对 STAT 信号靶点的方法也很重要^[26, 82], 这些方法包括: (1) 开发受体 - 配体相互作用的拮抗剂, 如细胞因子拮抗剂和受体中和抗体; (2) 改变与 STAT 有交互作用的蛋白, 如 SOCS 家族的成员; (3) 抑制由 STAT 激活的丝氨酸激酶的活性; (4) 激活 STAT 特异的磷酸酶; (5) 以与恶性肿瘤进展相关的 STAT 调节基因为靶目标; (6) 开发小分子抑制剂, 干扰 STAT 二聚体的形成和 / 或 DNA 的结合力.

6 STAT 的发展前景

任何一种具有致瘤特性的酪氨酸激酶的活化都会导致肿瘤的发生. STAT 为酪氨酸激酶信号的传导提供了一个汇集点, 为肿瘤药物的开发提供了富有前景的目标. 与众多的酪氨酸激酶相反, STAT 的一个引人注目的特征是只有两个分子靶 Stat3 和 Stat5. 此外, 许多研究显示单独阻断 Stat3 或 Stat5 的功能均能抑制肿瘤细胞的生长和诱导凋亡.

癌症患者可能会对任何一种单一的治疗如酪氨酸激酶抑制剂产生耐受, 因此需要更为有效的治疗措施. 在药物开发过程中, 通过对 STAT 结构和活性关系的研究, 需设计特异性的分子检测手段应用于药物的改进

中, 评估活化的 Stat3 和 Stat5 的 DNA 结合力以及基因调控能力. 临床上, 通过对肿瘤患者的活检, 应用免疫组织化学方法观察 Stat3 和 Stat5 的酪氨酸磷酸化形式的表达情况, 为监测 STAT 信号的有效抑制提供适宜的分子标志. 通过基因芯片技术描绘的基因表达谱有助于阐明与诊断和预后相关的 STAT 调节基因的分子标志.

总之, 对 STAT 蛋白的深入研究不仅为阐明酪氨酸激酶抑制剂的作用机制提供了可能, 而且还为肿瘤治疗提供了新的分子标靶. 开发 STAT 蛋白(尤其是作为肿瘤治疗分子靶点的 Stat3 和 Stat5)的抑制剂, 有助于进一步探究这些蛋白在人类肿瘤中所起的重要作用.

7 参考文献

- Darnell JE Jr. STATs and gene regulation. *Science* 1997;277:1630-1635
- Darnell JE Jr, Kerr IM, Stark GR. Jak-STAT pathways and transcriptional activation in response to IFNs and other extracellular signaling proteins. *Science* 1994;264:1415-1421
- Bromberg J, Darnell JE Jr. The role of STATs in transcriptional control and their impact on cellular function. *Oncogene* 2000;19:2468-2473
- Darnell JE Jr. Studies of IFN-induced transcriptional activation uncover the Jak-Stat pathway. *J Interferon Cytokine Res* 1998;18:549-554
- Decker T, Kovarik P. Transcription factor activity of STAT proteins: structural requirements and regulation by phosphorylation and interacting proteins. *Cell Mol Life Sci* 1999;55:1535-1546
- Schindler C, Brutsaert S. Interferons as a paradigm for cytokine signal transduction. *Cell Mol Life Sci* 1999;55:1509-1522
- Ihle JN. The Stat family in cytokine signaling. *Curr Opin Cell Biol* 2001;13:211-217
- Heim MH, Kerr IM, Stark GR, Darnell JE Jr. Contribution of STAT SH2 groups to specific interferon signaling by the Jak-STAT pathway. *Science* 1995;267:1347-1349
- Reddy EP, Korapati A, Chaturvedi P, Rane S. IL-3 signaling and the role of Src kinases, JAKs and STATs: a covert liaison unveiled. *Oncogene* 2000;19:2532-2547
- Bowman T, Garcia R, Turkson J, Jove R. STATs in oncogenesis. *Oncogene* 2000;19:2474-2488
- Smithgall TE, Briggs SD, Schreiner S, Lerner EC, Cheng H, Wilson MB. Control of myeloid differentiation and survival by Stats. *Oncogene* 2000;19:2612-2618
- Lin TS, Mahajan S, Frank DA. STAT signaling in the pathogenesis and treatment of leukemias. *Oncogene* 2000;19:2496-2504
- Daniel NN, Rothman P. JAK-STAT signaling activated by Abl oncogenes. *Oncogene* 2000;19:2523-2531
- Chen X, Vinkemeier U, Zhao Y, Jeruzalmi D, Darnell JE Jr, Kuriyan J. Crystal structure of a tyrosine phosphorylated STAT-1 dimer bound to DNA. *Cell* 1998;93:827-839
- Becker S, Groner B, Muller CW. Three-dimensional structure of the Stat3beta homodimer bound to DNA. *Nature* 1998;394:145-1451
- Shuai K, Horvath CM, Huang LH, Qureshi SA, Cowburn D, Darnell JE Jr. Interferon activation of the transcription factor Stat91 involves dimerization through SH2-phosphotyrosyl peptide interactions. *Cell* 1994;76:821-828
- Wen Z, Zhong Z, Darnell JE Jr. Maximal activation of transcription by Stat1 and Stat3 requires both tyrosine and serine phosphorylation. *Cell* 1995;82:241-250
- Caldenhoven E, van Dijk TB, Solari R, Armstrong J, Raaijmakers JA, Lammers JW, Koenderman L, de Groot RP. STAT3beta, a splice variant of transcription factor STAT3, is a dominant negative regulator of transcription. *J Biol Chem* 1996;271:13221-13227
- Sasse J, Hemmann U, Schwartz C, Schniertshauer U, Heesel B, Landgraf C, Schneider-Mergener J, Heinrich PC, Horn F. Mutational analysis of acute-phase response factor/Stat3 activation and dimerization. *Mol Cell Biol* 1997;17:4677-4686
- Bromberg JF, Wrzeszczynska MH, Devgan G, Zhao Y, Pestell RG, Albanese C, Darnell JE Jr. Stat3 as an oncogene. *Cell* 1999;98:295-303
- Garcia R, Jove R. Activation of STAT transcription factors in oncogenic tyrosine kinase signaling. *J Biomed Sci* 1998;5:79-85
- Catlett-Falcone R, Landowski TH, Oshiro MM, Turkson J, Levitzki A, Savino R, Ciliberto G, Moscinski L, Fernandez-Luna JL, Nunez G, Dalton WS, Jove R. Constitutive activation of Stat3 signaling confers resistance to apoptosis in human U266 myeloma cells. *Immunity* 1999;10:105-115
- Grandis JR, Drenning SD, Chakraborty A, Zhou MY, Zeng Q, Pitt AS, Tweardy DJ. Requirement of Stat3 but not Stat1 activation for epidermal growth factor receptor-mediated cell growth in vitro. *J Clin Invest* 1998;102:1385-1392
- Coffer PJ, Koenderman L, de Groot RP. The role of STATs in myeloid differentiation and leukemia. *Oncogene* 2000;19:2511-2522
- Herrington J, Smit LS, Schwartz J, Carter-Su C. The role of STAT proteins in growth hormone signaling. *Oncogene* 2000;19:2585-2597
- Turkson J, Jove RH. STAT proteins: novel molecular targets for cancer drug discovery. *Oncogene* 2000;19:6613-6626
- Catlett-Falcone R, Dalton WS, Jove R. STAT proteins as novel targets for cancer therapy. Signal transducer and activator of transcription. *Curr Opin Oncol* 1999;11:490-496
- Song JI, Grandis JR. STAT signaling in head and neck cancer. *Oncogene* 2000;19:2489-2495
- Garcia R, Bowman TL, Niu G, Yu H, Minton S, Muro-Cacho CA, Cox CE, Falcone R, Fairclough R, Parsons S, Laudano A, Gazit A, Levitzki A, Kraker A, Jove R. Constitutive activation of Stat3 by the Src and JAK tyrosine kinases participates in growth regulation of human breast carcinoma cells. *Oncogene* 2001;20:2499-2513
- Catlett-Falcone R, Landowski TH, Oshiro MM, Turkson J, Levitzki A, Savino R, Ciliberto G, Moscinski L, Fernandez-Luna JL, Nunez G, Dalton WS, Jove R. Constitutive activation of Stat3 signaling confers resistance to apoptosis in human U266 myeloma cells. *Immunity* 1999;10:105-115
- Bromberg JF, Horvath CM, Wen Z, Schreiber RD, Darnell JE Jr. Transcriptionally active Stat1 is required for the antiproliferative effects of both interferon alpha and interferon gamma. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996;93:7673-7678
- Schreiber S, Rosenstiel P, Hampe J, Nikolaus S, Groessner B, Schottelius A, Kuhbacher T, Hamling J, Folsch UR, Seeger D. Activation of signal transducer and activator of transcription (STAT) 1 in human chronic inflammatory bowel disease. *Gut* 2002;51:379-385
- Starkel P, Bishop K, Horsmans Y, Strain AJ. Expression and DNA-binding activity of signal transducer and activator of transcription 3 in alcoholic cirrhosis compared to normal liver and primary biliary cirrhosis in humans. *Am J Pathol* 2003;162:587-596
- Tacchini L, Fusar-Poli D, Sironi M, Mantovani A, Bernelli-Zazzera A. Activation of signal transducer and activator of transcription 3 in rat liver after heat shock and reperfusion stress. *Int J Biochem Cell Biol* 2003;35:316-323
- Lovato P, Brender C, Agnholt J, Kelsen J, Kaltoft K, Svegaard A, Eriksen KW, Woetmann A, Odum N. Constitutive STAT3 activation in intestinal T cells from patients with Crohn's disease. *J Biol Chem* 2003;278:16777-16781
- Takeda K, Noguchi K, Shi W, Tanaka T, Matsumoto M, Yoshida N, Kishimoto T, Akira S. Targeted disruption of the mouse Stat3 gene leads to early embryonic lethality. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997;94:3801-3804
- Welte T, Zhang SS, Wang T, Zhang Z, Hesslein DG, Yin Z, Kano A, Iwamoto Y, Li E, Craft JE, Bothwell AL, Fikrig E, Koni PA, Flavell RA, Fu XY. STAT3 deletion during hematopoiesis causes Crohn's disease-like pathogenesis and lethality: a critical role of STAT3 in innate immunity. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003;100:1879-1884
- Wurster AL, Tanaka T, Grusby MJ. The biology of Stat4 and Stat6. *Oncogene* 2000;19:2577-2584
- Akira S. Roles of STAT3 defined by tissue-specific gene targeting. *Oncogene* 2000;19:2607-2611

- 40 Levy DE. Physiological significance of STAT proteins: investigations through gene disruption in vivo. *Cell Mol Life Sci* 1999; 55:1559-1567
- 41 Chapman RS, Lourenco PC, Tonner E, Flint DJ, Selbert S, Takeda K, Akira S, Clarke AR, Watson CJ. Suppression of epithelial apoptosis and delayed mammary gland involution in micewith a conditional knockout of Stat3. *Genes Dev* 1999; 13:2604-2616
- 42 Sano S, Itami S, Takeda K, Tarutani M, Yamaguchi Y, Miura H, Yoshikawa K, Akira S, Takeda J. Keratinocyte-specific ablation of Stat3 exhibits impaired skin remodeling, but does not affect skin morphogenesis. *EMBO J* 1999;18:4657-4668
- 43 Takeda K, Clausen BE, Kaisho T, Tsujimura T, Terada N, Forster I, Akira S. Enhanced Th1 activity and development of chronic enterocolitis in mice devoid of Stat3 in macrophages and neutrophils. *Immunity* 1999;10:39-49
- 44 Ihle JN. Cytokine receptor signalling. *Nature* 1995;377:591-594
- 45 Ramana CV, Chatterjee-Kishore M, Nguyen H, Stark GR. Complex roles of Stat1 in regulating gene expression. *Oncogene* 2000;19:2619-2627
- 46 Kotenko SV, Pestka S. Jak-Stat signal transduction pathway through the eyes of cytokine class II receptor complexes. *Oncogene* 2000;19:2557-2565
- 47 Dearolf CR. JAKs and STATs in invertebrate model organisms. *Cell Mol Life Sci* 1999;55:1578-1584
- 48 Lin JX, Leonard WJ. The role of Stat5a and Stat5b in signaling by IL-2 family cytokines. *Oncogene* 2000;19:2566-2576
- 49 Schindler C, Darnell JE Jr. Transcriptional responses to polypeptide ligands: the JAK-STAT pathway. *Annu Rev Biochem* 1995;64:621-651
- 50 Zeidler MP, Bach EA, Perrimon N. The roles of the drosophila JAK/STAT pathway. *Oncogene* 2000;19:2598-606
- 51 Hirano T, Ishihara K, Hibi M. Roles of STAT3 in mediating the cell growth, differentiation and survival signals relayed through the IL-6 family of cytokine receptors. *Oncogene* 2000;19:2548-2556
- 52 Smithgall TE, Briggs SD, Schreiner S, Lerner EC, Cheng H, Wilson MB. Control of myeloid differentiation and survival by Stats. *Oncogene* 2000;19:2612-2618
- 53 Mui AL. The role of STATs in proliferation, differentiation, and apoptosis. *Cell Mol Life Sci* 1999;55:1547-1558
- 54 Garcia R, Yu CL, Hudnall A, Catlett R, Nelson KL, Smithgall T, Fujita DJ, Ethier SP, Jove R. Constitutive activation of Stat3 in fibroblasts transformed by diverse oncoproteins and in breast carcinoma cells. *Cell Growth Differ* 1997;8:1267-1276
- 55 梁斌, 王杉, 祝学光, 于永祥, 马向涛, 崔志荣. 转录信号传导子和激活因子 3 在人胃癌组织中的表达意义. *中华实验外科杂志* 2001; 18:313-314
- 56 Yu CL, Meyer DJ, Campbell GS, Larner AC, Carter-Su C, Schwartz J, Jove R. Enhanced DNA-binding activity of a Stat3-related protein in cells transformed by the Src oncoprotein. *Science* 1995;269:81-83
- 57 Cao X, Tay A, Guy GR, Tan YH. Activation and association of Stat3 with Src in v-Src-transformed cell lines. *Mol Cell Biol* 1996;16:1595-1603
- 58 Chaturvedi P, Sharma S, Reddy EP. Abrogation of interleukin-3 dependence of myeloid cells by the v-src oncogene requires SH2 and SH3 domains which specify activation of STATs. *Mol Cell Biol* 1997;17:3295-3304
- 59 Bromberg JF, Horvath CM, Besser D, Lathem WW, Darnell JE Jr. Stat3 activation is required for cellular transformation by v-src. *Mol Cell Biol* 1998;18:2553-2558
- 60 Turkson J, Bowman T, Garcia R, Caldenhoven E, De Groot RP, Jove R. Stat3 activation by Src induces specific gene regulation and is required for cell transformation. *Mol Cell Biol* 1998; 18:2545-2552
- 61 冯德云, 郑晖, 蒋海鹰, 颜亚辉, 谭怡, 程瑞雪. STAT3 磷酸化与 c-fos 和 c-jun 蛋白表达在肝细胞癌发生中的作用. *湖南医科大学学报* 2001;26:17-19
- 62 Kanai M, Konda Y, Nakajima T, Izumi Y, Kanda N, Nanakin A, Kubohara Y, Chiba T. Differentiation-inducing factor-1 (DIF-1) inhibits STAT3 activity involved in gastric cancer cell proliferation via MEK-ERK-dependent pathway. *Oncogene* 2003;22:548-554
- 63 马向涛, 王杉, 杜如昱, 叶颖江, 王殊, 严飞飞, 崔志荣. Stat3 信号传导通路对结肠癌细胞 G₁-S 期的调控. *北京大学学报(医学版)* 2003;35:50-53
- 64 Socolovsky M, Fallon AE, Wang S, Brugnara C, Lodish HF. Fetal anemia and apoptosis of red cell progenitors in Stat5a^{-/-}/5b^{-/-} mice: adirect role for Stat5 in Bcl-X(L) induction. *Cell* 1999;98:181-191
- 65 Grandis JR, Drenning SD, Zeng Q, Watkins SC, Melhem MF, Endo S, Johnson DE, Huang L, He Y, Kim JD. Constitutive activation of Stat3 signaling abrogates apoptosis in squamous cellcarcinogenesis in vivo. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97:4227-4232
- 66 Gesbert F, Griffin JD. Bcr/Abl activates transcription of the Bcl-X gene through STAT5. *Blood* 2000;96:2269-2276
- 67 Greten FR, Weber CK, Greten TF, Schneider G, Wagner M, Adler G, Schmid RM. Stat3 and NF-kappaB activation prevents apoptosis in pancreatic carcinogenesis. *Gastroenterology* 2002;123:2052-2063
- 68 Matsui T, Kinoshita T, Hirano T, Yokota T, Miyajima A. STAT3 down-regulates the expression of cyclin D during liver development. *J Biol Chem* 2002;277:36167-36173
- 69 Wei D, Le X, Zheng L, Wang L, Frey JA, Gao AC, Peng Z, Huang S, Xiong HQ, Abbruzzese JL, Xie K. Stat3 activation regulates the expression of vascular endothelial growth factor and human pancreatic cancer angiogenesis and metastasis. *Oncogene* 2003;22:319-329
- 70 Shuai K. Modulation of STAT signaling by STAT-interacting proteins. *Oncogene* 2000;19:2638-2644
- 71 Greenhalgh CJ, Hilton DJ. Negative regulation of cytokine signaling. *J Leukoc Biol* 2001;70:348-356
- 72 Starr R, Hilton DJ. Negative regulation of the JAK/STAT pathway. *Bioessays* 1999;21:47-52
- 73 Yasukawa H, Misawa H, Sakamoto H, Masuhara M, Sasaki A, Wakioka T, Ohtsuka S, Imaizumi T, Matsuda T, Ihle JN, Yoshimura A. The JAK-binding protein JAB inhibits Janus tyrosine kinase activity through binding in the activation loop. *EMBO J* 1999;18:1309-1320
- 74 Marine JC, McKay C, Wang D, Topham DJ, Parganas E, Nakajima H, Pendeville H, Yasukawa H, Sasaki A, Yoshimura A, Ihle JN. SOCS3 is essential in the regulation of fetal liver erythropoiesis. *Cell* 1999;98:617-627
- 75 Levy DE, Gilliland DG. Divergent roles of STAT1 and STAT5 in malignancy as revealed by gene disruptions in mice. *Oncogene* 2000;19:2505-2510
- 75 Levy DE, Gilliland DG. Divergent roles of STAT1 and STAT5 in malignancy as revealed by gene disruptions in mice. *Oncogene* 2000;19:2505-2510
- 76 Frantsve J, Schwaller J, Sternberg DW, Kutok J, Gilliland DG. Socs-1 inhibits TEL-JAK2-mediated transformation of hematopoietic cells through inhibition of JAK2 kinase activity and induction of proteasome-mediated degradation. *Mol Cell Biol* 2001;21:3547-3557
- 77 Koyama M, Nagai H, Bando K, Ito M, Moriyama Y, Emi M. Localization of a target region of allelic loss to a 1-cM interval on chromosome 16p.13.13 in hepatocellular carcinoma. *Jpn J Cancer Res* 1999;90:951-956
- 78 Decker T, Kovarik P. Serine phosphorylation of STATs. *Oncogene* 2000;19:2628-2637
- 79 Turkson J, Bowman T, Adnane J, Zhang Y, Djeu JY, Sekharam M, Frank DA, Holzman LB, Wu J, Sebt S, Jove R. Requirement for Ras/Rac1-mediated p38 and c-Jun N-terminal kinase signaling in Stat3 transcriptional activity induced by the Src oncoprotein. *Mol Cell Biol* 1999;19:7519-7528
- 80 Donato NJ, Wu JY, Zhang L, Kantarjian H, Talpaz M. Down-regulation of interleukin-3/granulocyte-macrophage colony-stimulating factor receptor beta-chain in BCR-ABL(+) human leukemic cells: association with loss of cytokine-mediated Stat-5 activation and protection from apoptosis after BCR-ABL inhibition. *Blood* 2001;97:2846-2853
- 81 Epling-Burnette PK, Liu JH, Catlett-Falcone R, Turkson J, Oshiro M, Kothapalli R, Li Y, Wang JM, Yang-Yen HF, Karras J, Jove R, Loughran TP Jr. Inhibition of STAT3 signaling leads to apoptosis of leukemic large granular lymphocytes and decreased Mcl-1 expression. *J Clin Invest* 2001;107:351-362
- 82 Seidel HM, Lamb P, Rosen J. Pharmaceutical intervention in the JAK/STAT signaling pathway. *Oncogene* 2000;19:2645-2656