

STAT3 与肿瘤免疫逃逸的研究进展

祝宝让 杨武威

【摘要】 信号转导子与转录激活子 3 (STAT3) 是一种存在于细胞质内的双功能蛋白, 可以被多种酪氨酸激酶激活, 激活后发生磷酸化, 形成二聚体转入细胞核内, 调节细胞生长、分化、凋亡相关基因的表达, 是多条致癌通路的汇集点, 在大多数肿瘤细胞内呈持续性激活, 在肿瘤的发生、发展、转移中起了重要作用。近几年的研究表明, STAT3 能在很多环节参与调节肿瘤的免疫逃逸, 可能是肿瘤免疫治疗的一个重要靶点。

【关键词】 STAT3; 肿瘤; 免疫逃逸; 免疫治疗

Progress in the study of relationship between STAT3 and tumor immune escape ZHU Bao-rang, YANG Wu-wei. Department of Minimally Invasive Treatment, Affiliated Hospital of Academy of Military Medical Sciences, Beijing 100071, China

Corresponding author: YANG Wu-wei, Email: yww307@163.com

【Abstract】 Signal transducer and activator of transcription 3 is a dual function of protein in the cytoplasm, which is constitutively activated at a very high frequency in human cancer, on phosphorylation of STAT3 monomers by tyrosine kinases, the monomers dimerized, translocate to the nucleus, and bind to specific promoter sequences, thereby inducing expression of multiple genes associated with cellular proliferation and survival, which is a point of convergence for many oncogenic pathways, play a crucial role in tumor initiation and progression. In recent study, STAT3 has emerged as a critical mediator of tumor immune evasion at multiple levels, provide a target for cancer immunotherapy.

【Key words】 STAT3; Tumor; Immune evasion; Immunotherapy

肿瘤的复发与转移是目前肿瘤治疗领域遇到的瓶颈, 也是影响肿瘤治疗效果的主要原因, 随着分子生物学、肿瘤学、免疫学的发展, 肿瘤复发与转移中的免疫学问题越来越引起人们的重视, 特别是肿瘤微环境介导的免疫逃逸已经取得科学家们的广泛认可^[1-2]。STAT3 (signal transducer and activator of transcription 3) 信号转导通路是多条致癌通路的汇集点, 在大多数肿瘤细胞内呈持续性激活, 在肿瘤的发生、发展、转移中起了重要作用。近几年的研究表明, STAT3 能在很多环节参与调节肿瘤的免疫逃逸, 可能是肿瘤免疫治疗的一个重要靶点^[3]。

一、STAT3 与肿瘤

STAT3 是一种存在于细胞质与酪氨酸磷酸化信号通道相耦联的具有关键作用的双功能蛋白, 激活后发生磷酸化, 形成二聚体转入细胞核内, 识别并结合到靶基因 DNA 特异的反应元件, 调节细胞生长、分化、凋亡相关基因 (Bcl-xL、Mcl-1、c-Myc、Cyclin D1、VEGF、p53) 等基因的表达^[4-9]; 在正常生理条件下, STAT3 二聚体完成特定的信号传递后, 被细胞因子信号抑制因子 (suppressor of cytokine signalling, SOCS) 或蛋白酪氨酸磷酸酶去磷酸化, 因此其激活是快速而短暂的。而在近 90% 的肿

瘤 (肝癌、肺癌、乳腺癌、黑色素瘤等) 内 STAT3 呈持续性激活^[10-11], 是多条致癌通路的汇集点, 包括了受体耦联的酪氨酸激酶信号通路 (EGFR、Her-2/Neu、PDGFR、IL-6R/gp130、c-Met) 及非受体耦联的酪氨酸激酶信号通路 (ABL、Src) ^[7-13]。所以 STAT3 在肿瘤的发生、发展、转移中起了重要作用, 目前被认为是一个癌基因, 已经成为成为肿瘤治疗研究领域的一个热点^[13]。

二、STAT3 与肿瘤免疫逃逸

肿瘤免疫逃逸的研究取得很大进展, 但其机制目前仍不是十分清楚, 而最近肿瘤免疫编辑 (cancer immunoediting) 假说的提出引起了人们的关注^[14-15]。该假说将肿瘤与免疫细胞相互作用的过程大致分为三个阶段, 分别称为消除阶段 (elimination)、相持阶段 (equilibrium) 和逃逸阶段 (escape)。即在肿瘤发生的早期, 机体调动先天性免疫和获得性免疫系统对肿瘤细胞进行攻击, 此阶段免疫系统占主导地位, 能够有效控制肿瘤的生长和杀伤肿瘤细胞。但随着时间的推移, 肿瘤细胞在与免疫系统的较量中, 肿瘤细胞可以通过对自身表面抗原的修饰及改变肿瘤组织周围的微环境来逃避机体的免疫识别与攻击。在这一阶段, 肿瘤细胞可以通过自分泌的形式分泌大量免疫抑制因子, 如 TGF- β 、VEGF、IL-10、IL-6 等, 抑制免疫细胞如 DC、T 细胞、NK 细胞的功能, 构建了一个复杂的免疫抑制网络, 使肿瘤微环境处于免疫抑制状态, 使肿瘤灶成为抗原特异性 T 细胞不能到达的免疫赦免样区域, 从而最终导致肿

瘤的免疫逃逸的发生^[14-15]。肿瘤细胞内 STAT3 持续性激活, 除调节细胞生长、分化、凋亡相关基因的表达外, 又上调了上述免疫抑制因子 (TGF- β 、VEGF、IL-10、IL-6) 的表达^[9,16-17], 而这些细胞因子同时又是 STAT3 信号通路的激活子, 以正反馈方式促进了肿瘤的发展及转移。而最近的研究表明, 这些细胞因子也激活了肿瘤微环境的各种免疫细胞内的 STAT3 信号通路, 在很多环节参与调节肿瘤微环境中免疫抑制状态^[18]。肿瘤细胞通过 STAT3 信号通路对免疫细胞产生影响, 发挥“免疫编辑”的功能, 参与了肿瘤免疫逃逸的形成, 因此 STAT3 已经成为肿瘤免疫治疗中一个很有前景的重要分子靶点^[19]。

1. STAT3 与树突状细胞 (dendritic cells, DCs): DCs 是机体功能最强的专职抗原提呈细胞, 其能高效摄取、加工处理和提呈抗原, 具有较强的迁移能力, 并能显著激活初始型 T 细胞, 处于启动、调控并维持免疫应答的中心环节^[20]。肿瘤组织中 DCs 数量少并且为功能缺陷的不成熟 DCs, 这些不成熟的 DC 表面不表达或低表达 MHC-II 类分子与共刺激分子 (CD80、CD86), 不分泌免疫正调节因子 IL-12, 因此不能有效的提呈抗原, 不能激活抗原特异的 CD8⁺T 淋巴细胞, 导致了免疫耐受^[20]。抑制 DCs 成熟的是肿瘤细胞分泌的细胞因子, 包括了 IL-6、IL-10、VEGF 及 TGF- β ^[21-22], 而这些细胞因子同时也是 STAT3 信号转导通路的激活子。因此, 肿瘤微环境中的 DCs 是否因为 STAT3 信号通路的激活而导致成熟障碍, 引起了研究者的关注。用一种反义 STAT3 及 STAT3 竞争性的抑制剂, 阻断 DCs 中的 STAT3 信号通路后, 发现不成熟的 CD11cMHC-II^{low}CD86^{low} DCs 数量明显减少^[23]。而用基因敲除的方法制备 Stat3^{-/-}DCs, 结果发现 Stat3^{-/-}DCs 的成熟完全不受 IL-10 的影响; 相反的, IL-10 能够抑制 Stat3^{+/+}DCs 的成熟^[23]。也有研究表明, 肿瘤来源的各种细胞因子也激活了骨髓来源的不成熟髓样细胞 (immature myeloid cells, iMC) 中 STAT3 信号转导通路, 阻止了其分化为成熟的 DCs^[24], 在肿瘤进程中, 大量的 iMC 聚集在肿瘤组织, 与肿瘤的免疫耐受有关^[25-26]。用等位基因敲除技术敲除成体小鼠造血系统的 Stat3 基因, 从荷瘤小鼠体内分离出的 Stat3^{-/-}DCs, 用脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS) 刺激后, 能够分泌较 Stat3^{+/+}DCs 更多的 IL-12, 表明其能够调节正常的免疫应答。而进一步分析从肿瘤中分离的 Stat3^{-/-}DC, 发现其表面表达高水平的 MHC-II、CD80 与 CD86, 并且能够有效的提呈抗原给 CD4⁺T 淋巴细胞^[27]。因此 STAT3 信号转导通路在调节 DCs 成熟过程中发挥了重要作用。

2. STAT3 与调节性 T 细胞 (regulatory T cells, Treg): Treg 是具有特定表型 (CD4⁺CD25⁺FOXP3⁺) 和免疫抑制功能的 T 淋巴细胞亚群, 在肿瘤的免疫逃逸中发挥重要的作用, 肿瘤患者体内 Treg 增多, 并且在肿瘤组织内能特异性聚集^[28]。Treg 通过抑制 CD4⁺、CD8⁺T 淋巴细胞的增殖, 来抑制机体的抗肿瘤免疫应答, 并且这种抑制作用是非抗原特异性的; 另外, Treg 还对单核/巨噬细胞、DCs、B 细胞起抑制或杀伤作用; Treg 还分泌 IL-10、TGF- β 发挥其免疫抑制功能, 因此 Treg 抑制抗肿瘤免疫反应是从启动到效应的整个阶段。但是 Treg 增殖与活化的分子机制目前仍未完全阐明, 最近的研究表明可能与 STAT3

的激活有关。用等位基因敲除技术敲除荷瘤小鼠造血系统的 Stat3 基因, 结果发现肿瘤组织内 Treg 细胞数量明显减少, 而 CD8⁺T 淋巴细胞浸润增多, 表明发生了特异性的抗肿瘤免疫应答^[28]。转录因子 FOXP3 特异性的表达于 Treg 内, 是 Treg 活化的标志, 而最近的几个独立的研究表明, FOXP3 的表达依赖于 STAT3 信号通路的激活^[29-31], 可能还有 STAT5 信号通路参与诱导了 Treg 的活化及扩增^[32]。在 CD4⁺T 淋巴细胞内, 激活的 STAT3 二聚体化后, 可以转入细胞核内, 与 IL-10、TGF- β 基因的增强子结合, 促进其表达^[16]。而用各种不同的方法 (如酪氨酸激酶抑制剂 AG490、JS-241, 小干扰 RNA 等) 阻断 STAT3 信号通路^[23,33-34], 结果发现 Treg 数量明显下降, 并且其分泌的 IL-10、TGF- β 水平也下降。这些结果表明, STAT3 信号通路在 Treg 的活化、扩增方面起了重要作用。

三、STAT3 与肿瘤免疫治疗

由于 STAT3 不仅可以抑制 DCs 的成熟、诱导 Treg 的活化、扩增、促进免疫抑制因子的释放, 抑制特异性抗肿瘤免疫应答, 还可以对 NK 细胞、单核/巨噬细胞产生影响, 抑制机体的天然免疫^[23,27]。靶向阻断 STAT3 信号通路, 逆转肿瘤的免疫耐受, 已经成为肿瘤免疫治疗领域的一个热点, 并已取得很大进展。用一种小分子抑制剂 (JSI-124)、miR-123 阻断 STAT3 信号通路对恶性神经胶质瘤动物模型进行治疗, 然后输入体外诱导培养的针对恶性神经胶质瘤的特异性细胞毒性 T 淋巴细胞 (CTL), 结果 CTL 能够浸润到肿瘤病灶对肿瘤进行杀伤, 控制了肿瘤的生长, 延长了荷瘤小鼠的生存期^[34-35]。靶向阻断 STAT3 信号通路联合别的免疫治疗手段也具有协同作用, 最近的一个研究表明, 利用 JSI-124 联合免疫刺激分子 (CpG 寡核苷酸) 治疗恶性黑色素瘤动物模型^[36], 瘤内的 Th1 相关的细胞因子 (如 IL-12、IFN- γ 、TNF- α 、IL-2) 水平明显升高, 而免疫抑制因子 (VEGF、TGF- β) 水平明显降低; 瘤内浸润的 CD8⁺T 淋巴细胞的成熟的 DCs 明显增多, 而瘤内与引流区淋巴结内的 CD4⁺CD25⁺FOXP3⁺T 细胞明显减少; 肿瘤的生长速度明显变缓, 动物模型的生存期显著延长; 两者的联合应用具有协同作用。

四、展望

综上所述, STAT3 的持续激活不仅在肿瘤的发生、发展、转移中起了重要作用, 还在很多环节参与调节肿瘤的免疫逃逸, 为肿瘤的免疫治疗提供了一个重要靶点。虽然暂时没有靶向 STAT3 的药物应用于临床, 但是围绕该靶点的药物开发 (如 siRNA、反义核酸、小分子抑制剂、酪氨酸激酶抑制剂) 已经成为国际各大制药公司竞争的热点; 前期的研究已经取得很大进展, 目前已有多种靶向 STAT3 信号通路药物进入临床实验; 特别近几年 siRNA、miRNA 等技术的飞速发展, 为在基因水平阻断 STAT3 的表达提供了有力的工具, 相信在不久的将来, 一旦相关研究取得突破, 靶向 STAT3 的药物应用于临床, 联合其他肿瘤治疗手段, 将有比较乐观的前景。

参考文献

- [1] Oluwadara O, Giacomelli L, Brant X, et al. The role of the microenvironment in tumor immune surveillance. *J Bioinformatics*, 2011, 5: 285-290.
- [2] Chan SF, Wang HT, Huang KW, et al. Anti-angiogenic therapy renders

- large tumors vulnerable to immunotherapy via reducing immunosuppression in the tumor microenvironment. *Cancer Lett*, 2012, 321: 23-30.
- [3] Lee H, Pal SK, Reckamp K, et al. STAT3: a target to enhance antitumor immune response. *Curr Top Microbiol Immunol*, 2011, 344: 41-59.
- [4] Verma NK, Davies AM, Long A, et al. STAT3 knockdown by siRNA induces apoptosis in human cutaneous T-cell lymphoma line Hut78 via downregulation of Bcl-xL. *Cell Mol Biol Lett*, 2010, 15: 342-355.
- [5] Lirdpramongkol K, Sakurai H, Abdelhamed S, et al. Chrysin overcomes TRAIL resistance of cancer cells through Mcl-1 downregulation by inhibiting STAT3 phosphorylation. *Int J Oncol*, 2013, 43: 329-337.
- [6] Zhao J, Lin W, Cao Z, et al. Total alkaloids of *Rubus alaeifolius* Poir. inhibit the STAT3 signaling pathway leading to suppression of proliferation and cell cycle arrest in a mouse model of hepatocellular carcinoma. *Oncol Rep*, 2013.
- [7] Pu HH, Duan J, Wang Y, et al. Thymic stromal lymphopoietin promotes the proliferation of human trophoblasts via phosphorylated STAT3-mediated c-Myc upregulation. *Placenta*, 2012, 33: 387-391.
- [8] Niu G, Wright KL, Ma Y, et al. Role of Stat3 in regulating p53 expression and function. *Mol Cell Biol*, 2005, 25: 7432-7440.
- [9] Carbajo-Pescador S, Ordoñez R, Benet M, et al. Inhibition of VEGF expression through blockade of Hif1 α and STAT3 signalling mediates the anti-angiogenic effect of melatonin in HepG2 liver cancer cells. *Br J Cancer*, 2013, 109: 83-91.
- [10] Kortylewski M, Jove R, Yu H, et al. Targeting STAT3 affects melanoma on multiple fronts. *Cancer Metastasis Rev*, 2005, 24: 315-327.
- [11] Masciocchi D, Gelain A, Villa S, et al. Signal transducer and activator of transcription 3 (STAT3): a promising target for anticancer therapy. *Future Med Chem*, 2011, 3: 567-597.
- [12] Johnston PA, Grandis JR. STAT3 signaling: anticancer strategies and challenges. *Mol Interv*, 2011, 11: 18-26.
- [13] Yu H, Jove R. The STATs of cancer-new molecular targets come of age. *Nat Rev Cancer*, 2004, 4: 97-105.
- [14] Vesely MD, Schreiber RD. Cancer immunoediting: antigens, mechanisms, and implications to cancer immunotherapy. *Ann N Y Acad Sci*, 2013, 1284: 1-5.
- [15] O'Sullivan T, Saddawi-Konefka R, Vermi W, et al. Cancer immunoediting by the innate immune system in the absence of adaptive immunity. *J Exp Med*, 2012, 209: 1869-1882.
- [16] Cui W, Liu Y, Weinstein JS, et al. An interleukin-21-interleukin-10-STAT3 pathway is critical for functional maturation of memory CD8⁺ T cells. *Immunity*, 2011, 35: 792-805.
- [17] Luwor RB, Baradaran B, Taylor LE, et al. Targeting Stat3 and Smad7 to restore TGF- β cytosolic regulation of tumor cells in vitro and in vivo. *Oncogene*, 2013, 32: 2433-2441.
- [18] Yu H, Kortylewski M, Pardoll D, et al. Crosstalk between cancer and immune cells: role of STAT3 in the tumour microenvironment. *Nat Rev Immunol*, 2007, 7: 41-51.
- [19] Kortylewski M, Yu H. Stat3 as a Potential Target for Cancer Immunotherapy. *J Immunother*, 2007, 30: 131-139.
- [20] Bhargava A, Mishra D, Banerjee S, et al. Dendritic cell engineering for tumor immunotherapy: from biology to clinical translation. *Immunotherapy*, 2012, 4: 703-718.
- [21] Gabrilovich D. Mechanisms and functional significance of tumour-induced dendritic-cell defects. *Nature Rev Immunol*, 2004, 4: 941-952.
- [22] Zou W. Immunosuppressive networks in the tumour environment and their therapeutic relevance. *Nature Rev Cancer*, 2005, 5: 263-274.
- [23] Wang T, Niu G, Kortylewski M, et al. Regulation of the innate and adaptive immune responses by Stat-3 signaling in tumor cells. *Nat Med*, 2004, 10: 48-54.
- [24] Demoulin S, Herfs M, Delvenne P, et al. Tumor microenvironment converts plasmacytoid dendritic cells into immunosuppressive/tolerogenic cells: insight into the molecular mechanisms. *J Leukoc Biol*, 2013, 93: 343-352.
- [25] Almand B, Clark JI, Nikitina E, et al. Increased production of immature myeloid cells in cancer patients: a mechanism of immunosuppression in cancer. *J Immunol*, 2011, 166: 678-689.
- [26] Lindenberg JJ, Fehres CM, van Crujisen H, et al. Cross-talk between tumor and myeloid cells: how to tip the balance in favor of antitumor immunity. *Immunotherapy*, 2011, 3: 77-96.
- [27] Kortylewski M, Kujawski T, Wang S, et al. Inhibiting Stat3 signaling in the hematopoietic system elicits multicomponent antitumor immunity. *Nat. Med.*, 2005, 11: 1314-1321.
- [28] Oleinika K, Nibbs RJ, Graham GJ, et al. Suppression, subversion and escape: the role of regulatory T cells in cancer progression. *Clin Exp Immunol*, 2013, 171: 36-45.
- [29] Wang R, Han G, Wang J, et al. The role of STAT3 in antigen-IgG inducing regulatory CD4⁺FOXP3⁺T cells. *Cell Immunol*, 2007, 246: 103-109.
- [30] Pallandre JR, Brillard E, Créhange G, et al. Role of STAT3 in CD4⁺CD25⁺FOXP3⁺ regulatory lymphocyte generation: implications in graft-versus-host disease and antitumor immunity. *J Immunol*, 2007, 179: 7593-7604.
- [31] Chaudhry A, Rudra D, Treuting P, et al. CD4⁺ regulatory T cells control TH17 responses in a Stat3-dependent manner. *Science*, 2009, 326: 986-991.
- [32] Zorn E, Nelson E, Mohseni M, et al. IL-2 regulates FOXP3 expression in human CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells through a STAT-dependent mechanism and induces the expansion of these cells in vivo. *Blood*, 2006, 108: 1571-1579.
- [33] Goodman WA, Young AB, McCormick TS, et al. Stat3 phosphorylation mediates resistance of primary human T cells to regulatory T cell suppression. *J Immunol*, 2011, 186: 3336-3345.
- [34] Fujita M, Zhu X, Sasaki K, et al. Inhibition of STAT3 promotes the efficacy of adoptive transfer therapy using type-1 CTLs by modulation of the immunological microenvironment in a murine intracranial glioma. *J Immunol*, 2008, 180: 2089-2098.
- [35] Wei J, Wang F, Kong LY, et al. miR-124 inhibits STAT3 signaling to enhance T cell-mediated immune clearance of glioma. *Cancer Res*, 2013, 73: 3913-3926.
- [36] Molavi O, Ma Z, Hamdy S, et al. Synergistic antitumor effects of CpG oligodeoxynucleotide and STAT3 inhibitory agent JSI-124 in a mouse melanoma tumor model. *Immunol Cell Biol*, 2008, 86: 506-514.

(收稿日期: 2013-09-16)

(本文编辑: 马超)