

· 综述 ·

STAT3 与肿瘤关系的研究进展

陈越, 季鸣, 陈晓光*

(中国医学科学院、北京协和医学院药物研究所, 天然药物活性物质与功能国家重点实验室, 北京 100050)

摘要: 信号传导与活化转录因子 3 (signal transducers and activators of transcription 3, STAT3) 是信号传导活化转录因子家族的重要成员, 在细胞中起到传递信号和启动基因转录的双重作用。许多研究已经证明, 组成型 STAT3 在多种人类肿瘤中激活。有证据表明, 异常 STAT3 信号通过抑制凋亡, 诱导细胞增殖、血管生成、侵袭和转移, 诱发炎症和免疫抑制来促进人类癌症的发生和进展。目前针对 STAT3 为靶点开发出一些特异性小分子抑制剂, 然而还没有药物进入临床阶段。鉴定和开发靶向抑制 STAT3 激活的新型药物仍然是一个重要的科学和临床挑战。本文介绍了 STAT3 与肿瘤发生之间的关系及新的 STAT3 抑制剂的研究进展。

关键词: 肿瘤发生; 信号传导活化转录因子 3; 细胞增殖

中图分类号: R966

文献标识码: A

文章编号: 0513-4870 (2017) 09-1351-08

Research progress of relationship between STAT3 and tumor

CHEN Yue, JI Ming, CHEN Xiao-guang*

(State Key Laboratory of Bioactive Substances and Functions of Natural Medicines, Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100050, China)

Abstract: Signal transducers and activators of transcription (STAT3) is an important member of the family of signal transducers and activators of transcription, which plays a dual role in signaling and initiating gene transcription in cells. Numerous studies have demonstrated constitutive activation of STAT3 in a wide variety of human tumors. There is strong evidence to suggest that aberrant STAT3 signaling promotes initiation and progression of human cancers by either inhibition of apoptosis or induction of cell proliferation, angiogenesis, invasion, metastasis, inflammation and immunosuppression. At present, some specific small molecule inhibitors have been developed to target STAT3. However, no drugs have been used in the clinical stage. The identification and development of novel drugs that can target deregulated STAT3 activation effectively remains an important scientific and clinical challenge. This article provides a summary on progress about STAT3 in tumor genesis and new inhibitors of STAT3.

Key words: carcinogenesis; STAT3 transcription factor; cell proliferation

信号传导与活化转录因子 (signal transducers and activators of transcription, STATs) 家族是一种存在于胞浆、通过激活转入核内结合 DNA 的蛋白家族, 在

细胞中起到传递信号和启动基因转录的双重作用^[1]。STAT3 是信号传导与转录激活因子家族的重要成员, 广泛表达于不同类型的组织和细胞中^[2]。近年来, STAT3 信号通路与肿瘤的关系日益受到人们的重视。STAT3 在肿瘤的发生发展中起了至关重要的作用。

1 STAT3 的结构和生物功能

STAT 家族具有信号转导和转录激活的双重作用, 是 JAK-STAT 信号途径的重要环节。STAT 家族已被

收稿日期: 2017-04-12; 修回日期: 2017-05-16.

基金项目: 中国医学科学院医学与健康科技创新工程 (2016-12M-3-008).

*通讯作者 Tel / Fax: 86-10-63165207, E-mail: chxg@imm.ac.cn

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2017-0354

确认的成员有 7 个, 分别是 STAT1、STAT2、STAT3、STAT4、STAT5A、STAT5B 和 STAT6, 它们各由不同的基因编码。而 STAT1 和 STAT3 的 C 端缺失会形成野生型 STAT 蛋白, 比如 STAT1 β 和 STAT3 β ^[3]。

1.1 STAT3 的结构

STAT3 的编码基因定位于人类第 17 号染色体中, STAT3 蛋白由 750~795 个氨基酸组成, 分子质量为 89~92 kDa。STAT3 的结构与其他 STAT 蛋白类似, 主要由 7 个部分构成 (图 1): ① Src 同源功能域 2 区 (Src homology 2, SH2), 位于第 600~700 位氨基酸, 主要促使 STAT3 与活化的受体形成复合物, 使 STAT3 形成二聚体, 转移至细胞核, 识别并结合 DNA, 诱导特定靶基因的转录; ② Src 同源功能域 3 区, 位于第 500~600 位氨基酸, 保守性较差, 功能尚不清楚; ③ 羧基端第 705 位的酪氨酸磷酸化位点, 该位点磷酸化后激活 STAT3 并形成 STAT3 二聚体, 转入核内调节靶基因的转录; ④ DNA 结合区, 位于分子中部第 400~500 位氨基酸之间, 这个区域决定了 STAT3 与 DNA 结合的特异性; ⑤ 保守性较差的羧基端, 含有转录激活区, 与转录激活有关; ⑥ 第 727 位的丝氨酸磷酸化位点; ⑦ 保守的氨基酸序列^[4]。

1.2 STAT3 的生物功能

在正常细胞中, STAT3 的活化被严格控制以防止基因调控异常。在生理条件下, 受体诱导的 STAT3 活化是一个紧密调控的瞬间过程, STAT3 磷酸化的高峰期发生在细胞因子刺激后 15~60 min 内, 之后即使细胞因子持续刺激, STAT3 的活化依然会持续衰减^[5]。这个过程由几个负调节蛋白家族紧密调节, 包括细胞因子蛋白抑制剂 (suppressor of cytokine signaling proteins, SOCS1-7)、STATs 蛋白活化抑制剂 (protein inhibitors of activated STATs, PIAS) 及蛋白质酪氨酸磷酸酶 (protein tyrosine phosphatases, PTPs) 等^[6]。

STAT3 可被多种细胞因子, 如 IL-6、LIF、cardiotrophin-1 (心肌营养素-1)、IL-5、IL-9、IL-10、IL-11、IL-12、IL-21、IL-22、IFN- γ 、TNF- α 和生长因子 (如 EGF、TGF α 、PDGF、IGF-1、G-CSF 和 M-CSF) 等活化^[7], 可激活 STAT3 的生长因子受体包括表皮生长因子受体 (EGFRs)、成纤维细胞生长因子受体 (FGFRs)、胰岛素样生长因子受体 (IGFRs)、肝细胞

生长因子受体 (HGFRs)、血小板衍生生长因子受体 (PDGFRs) 及血管内皮生长因子受体 (VEGFRs)^[8]。STAT3 与受体磷酸化位点结合导致了 STAT3 C 末端区域 705 位酪氨酸位点磷酸化, 从而活化 STAT3^[9]。同时, 其他非受体蛋白酪氨酸激酶也被报道可以激活 STAT3, 比如 Src 激酶家族, 包括 Src、Lck、Hck、Lyn 和 Fyn 等。Tyr705 位的磷酸化使得 STAT3 从非活化形式向活化形式转变, 磷酸化的 Tyr705 位与另一个 STAT3 的 SH2 域结合从而发生二聚化^[10]。

二聚化的 STAT3 从受体上解离出来, 并且转位到细胞核内。输入蛋白 $\alpha 5/NPI-1$ 的 C 端有一个 STAT3 结合区域, 可以转运 STAT3 入核。在细胞核内, 二聚化的 STAT3 与 DNA 结合, 并识别特殊 DNA 反应元件的大沟区, 这些反应元件包括与细胞增殖、分化和凋亡有关的目的基因启动子^[11]。STAT3 二聚体可以识别一个 8~10 个碱基对的反向重复序列 DNA 元件, 这个序列有一致的 5-TT (N) AA-3 碱基^[12]。

此外, 也已观察到潜在的或者非磷酸化形式的 STAT 二聚体在细胞信号的各个方面扮演重要角色。与其他 STATs 不同的是, STAT3 能够以非磷酸化形式进入细胞核内, 但是活化的 STATs 穿梭核孔更加频繁^[13, 14]。

2 STAT3 在肿瘤发生中的作用

2.1 STAT3 与肿瘤生物功能的关系进展

在所有 STAT 家族成员中, STAT3 与肿瘤发生发展紧密相关, 属于致癌基因^[15]。有报道认为, 在人类肿瘤细胞系中 STAT3 与正常细胞中 STAT3 的短暂激活相反, 呈持续活化状态, 这些肿瘤包括白血病、淋巴瘤、多发性骨髓瘤、神经胶质瘤、黑色素瘤、头颈部瘤、乳腺癌、卵巢癌、子宫内膜癌、宫颈癌、结肠癌、胰腺癌、肺癌、脑癌、肾癌及前列腺癌等^[16]。

2.1.1 增殖 STAT3 蛋白在细胞因子诱导的增殖中起到重要作用。在乳腺癌细胞中, 自分泌调节的 STAT3 活化与细胞增殖有关。活化后的 STAT3 促进增殖主要是通过激活肿瘤细胞中细胞周期相关基因如 cyclin D1、cyclin B 和 Cdc2 的转录。活化的 STAT3 通过上调 cyclin D1 的表达促进 G₁/S 期的过渡, cyclin D1 与 Cdk4 或 Cdk6 协同促进胃癌和结直肠癌细胞 G₁ 期到 S 期的进程^[17]。针对膀胱癌细胞中的 STAT3

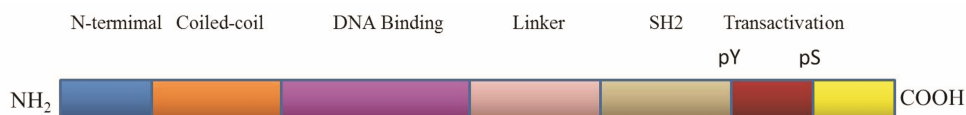


Figure 1 The domain structure of STAT3

信号通路,抑制 STAT3 可以下调 cyclin D1 的表达,进而抑制细胞生长并诱导细胞凋亡^[18]。在人头颈部鳞癌细胞中,STAT3 的持续活化对 cyclin D1 的持续表达起到关键的作用^[19]。研究发现组成型 STAT3 的磷酸化可以诱导结直肠癌和乳腺癌中目的基因如 Cdc2、cyclin B1、m-Ras 和 E2F-1 的过表达。在细胞因子诱导的 G₁ 到 S 期细胞周期过渡中,STAT3 起着重要的作用,这个过程伴随着 cyclin D2、D3、A 和 Cdc25A 的上调及 p21 和 p27 的下调,p21 的抑制由 STAT3 调控的几个信号分子控制^[20,21]。

2.1.2 生存 肿瘤细胞特性之一是可以避免细胞程序性死亡。Bcl-2 蛋白家族是重要的一类细胞凋亡调节因子,在众多种类的肿瘤中,Bcl-2 家族成员异常表达^[22]。发现在多个骨髓瘤细胞中 STAT3 信号通路能促进组织凋亡信号通路,其中组成型 STAT3 能够促进 Bcl-xL 表达。STAT3 的靶基因如 survivin 和 Bcl 家族成员 (Bcl-xL、Bcl-2 和 Mcl-1),对细胞的生存至关重要^[23]。人骨髓瘤细胞 U266 能表达高水平的抗凋亡蛋白 Bcl-xL,抵抗 Fas 介导的凋亡。抑制 Jak2/STAT3 信号通路,可抑制 Bcl-xL 的表达,诱导凋亡,这表明 STAT3 对骨髓瘤细胞的生存是必不可少的。

Mcl-1 是 Bcl-2 家族的另一个抗凋亡蛋白。抑制人肿瘤细胞中的 STAT3 可下调 Mcl-1,进而引起肿瘤细胞凋亡。Survivin 是凋亡蛋白家族的抑制因子,既能阻止凋亡,又可调控有丝分裂。Survivin 在 G₂/M 期选择性表达,磷酸化后与 Cdc2 协同发挥作用。抑制 STAT3 可明显降低 survivin 表达,而在人胃癌细胞中过表达 survivin 能够拮抗由 STAT3 抑制引起的细胞凋亡^[24-26]。

2.1.3 侵袭转移 STAT3 主要是在细胞骨架重组和细胞黏附两方面参与调节细胞运动^[27]。最近的研究表明 STAT3 活性的增加能增强细胞间接触,这提示 STAT3 可能是肿瘤细胞相互接触的传感器,能够上调肿瘤细胞侵袭和转移相关基因的表达^[27,28]。

在人皮肤鳞状细胞癌中,STAT3 磷酸化水平与肿瘤抑制基因 E-cadherin 的表达呈负相关^[29]。整合素是肿瘤生长、黏附和侵袭的重要介质,STAT3 能够阻断上皮黏附并且激活下游的 ErbB2/integrins β 4 信号通路,使得乳腺癌大量增生。前列腺上皮细胞中持续活化的组成型 STAT3-C 变体能降低 E-cadherin 水平,增加板状伪足和应力纤维的含量,同时通过诱导整合素 β 6 和纤连蛋白促进肿瘤形成及其迁移^[30,31]。细胞间黏附分子 1 (intercellular adhesion molecule-1, ICAM-1/CD54) 是调节细胞间相互作用的细胞表面

糖蛋白,它的高表达与肿瘤的侵袭和恶化相关。据文献^[32]报道,射线能显著增加人胶质瘤细胞核中磷酸化 p65 和磷酸化 STAT3 的相互作用,并伴随着细胞黏附分子-1 水平的增高,肿瘤细胞迁移和侵袭能力的增强。

肿瘤细胞分泌的金属基质蛋白酶 (matrix metalloproteinases, MMPs) 在肿瘤细胞的侵袭转移中扮演重要角色。STAT3 的靶基因包括多种 MMP 家族蛋白,其对肿瘤的侵袭、血管再生和迁移有重要贡献。STAT3 与 Fra-1/c-Jun 相互作用,并结合到 MMP-9 基因的启动子区域,导致乳腺癌细胞系中 MMP-9 转录激活。在高转移的黑色素瘤细胞中,STAT3 能够直接结合到 MMP-2 基因的启动子并上调基因表达^[33]。阻断 STAT3 能明显下调 MMP-2 表达进而抑制裸鼠中肿瘤的生长和侵袭。活化的 STAT3 与 c-Jun 相互作用,结合到 MMP-1 的启动子区域,诱导膀胱癌中 MMP-1 的表达^[34]。STAT3 与结直肠癌恶性肿瘤的进展紧密相关,激活 STAT3 既能提高 MMP-1 mRNA 水平,又能增加 MMP-1 分泌酶的活性。而通过利用 RNAi 抑制 STAT3 活性,能够降低人乳腺癌细胞的迁移和侵袭^[35]。

2.1.4 血管生成 肿瘤细胞的内在能力不止是过度增殖和抵抗凋亡。肿瘤要满足自身的生长,就需要从新形成的血管中得到氧和营养素的供养。活化的癌基因在刺激血管生成方面起到关键的作用,其中 VEGF 起着至关重要的作用。STAT3 在胶质瘤和成神经管细胞瘤中组成型表达,并且被认为在自分泌活化 VEGF 中起到核心作用。最早支持 STAT3 与血管生成相关的证据来源于粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子 (granulocyte-macrophage colony stimulating factor, GM-CSF),它能刺激鸡绒毛膜尿囊膜表面,诱导鸡主动脉环上血管大量生成^[36]。将组成型的 STAT3-C 变体转入细胞,增加 VEGF 的表达,同时诱导体内的血管生成。在诸多的血管前因子中,VEGF 和缺氧诱导因子 1 α (hypoxia-inducible factor-1 α , HIF-1 α) 是 STAT3 的主要转录靶点,并且 HIF-1 α 行使功能需要 STAT3 的参与。阻断 STAT3 信号通路能够抑制 Src 调节的 VEGF 上调,并且能完全抑制肿瘤细胞 VEGF 依赖的血管渗透性。在非小细胞肺癌中,STAT3 信号通路活化后通过上调 VEGF 和 bFGF 来调节肿瘤血管生成^[37]。HIF-1 α 是肿瘤 VEGF 上调的最后关卡,STAT3 也会直接与 HIF-1 α 相互作用,然后在低氧环境下被招募到人 VEGF 启动子上,这说明在人肾癌细胞中 STAT3 能促进低氧诱导的血管生成。组成型 STAT3 通过结

合到 *p53* 启动子上抑制 *p53* 表达, 同样, 阻断 STAT3 信号通路可能会增加 HIF-1 α 的降解从而降低 HIF-1 α 的活性^[38]。

2.2 STAT3 与肿瘤免疫微环境的关系进展

2.2.1 炎症

STAT3 信号通路是一条很重要的内源性肿瘤炎症通路, 它经常在与肿瘤相关的免疫和炎症细胞中被激活。细胞因子、趋化因子及调节剂, 例如 IL-6、IL-1 β 、巨噬细胞集落刺激因子、前列腺素和环氧酶-2 (COX-2) 对于诱导和维持肿瘤炎症环境至关重要, 而 STAT3 对这些因子的分泌起到关键作用。在肿瘤微环境中, 肿瘤细胞激活的 STAT3 使得细胞因子、趋化因子和生长因子大量产生, 这些因子与基质炎性细胞的受体结合后又会反过来激活 STAT3, 从而释放炎性介质到肿瘤微环境中。IL-6 是个重要的炎症介质, 它的下游产物导致慢性炎症的产生, 而这与很多种类的肿瘤有着密切的联系。IL-6 通过激活 gp130/JAK/STAT3 信号通路发挥调节作用。STAT3 诱导鞘氨醇-1-磷酸受体 1 (S1PR1) 上调, 该受体能反馈激活 STAT3, 导致 IL-6 不断生成从而刺激黑色素瘤 B16 和膀胱癌 MB49 的生长和侵袭^[27]。IL-11 能够促进慢性胃炎和胃上皮细胞中肿瘤的发生, 而这与 STAT3 过度激活密切相关。在非小细胞肺癌中, IL-6 诱导的 STAT3 活化具有 COX-2 依赖性。在大鼠巨噬细胞系中, LPS 介导的 IL-1 β 和 IL-6 生成依赖于 STAT3 的磷酸化。转基因鼠肺泡 II 型细胞中 STAT3C 变异体的过表达会导致严重的肺部炎症, 包括免疫细胞的渗透及肺部免疫前细胞因子和趋化因子的表达上调, 从而自发地导致支气管肺泡腺癌的发生^[28]。

2.2.2 免疫逃逸

经过对多种实体瘤的研究发现, p-STAT3 能促进一些肿瘤源性因子如 IL-6、IL-10、TGF- β 、VEGF 和 CCL22 等产生, 对细胞毒性 T 淋巴细胞 (CTLs) 和 NK 细胞的活性及树突状细胞 (dendritic cells, DCs) 的成熟起着抑制作用, 同时又可促进肿瘤微环境中 DCs、髓样来源的抑制细胞 (MDSC)、肿瘤相关巨噬细胞 (tumor-associated macrophages, TAMs) 和调节性 T 细胞 (Treg) 等细胞的募集和活化, 释放更多的免疫抑制性分子, 招募更多的免疫抑制性细胞, 从而形成一个恶性循环的免疫抑制肿瘤微环境。在 B16 肿瘤细胞和成纤维细胞中, STAT3 的活化形式 STAT3C 能作用于 VEGF 的启动子从而加强 VEGF 的表达, VEGF 诱导 DC 中的 STAT3 活化, 从而抑制 DC 的分化成熟, 使用 VEGF 抗体可以解除对 DCs 分化成熟的抑制^[39]。

在体内正常的巨噬细胞可以吞噬肿瘤细胞, 向 T

淋巴细胞呈递抗原, 并表达细胞因子从而活化 T 淋巴细胞及 NK 细胞。而在肿瘤微环境中, 巨噬细胞会转变为 M2 型巨噬细胞。M2 型巨噬细胞可以产生 Th2 型细胞因子, 促进肿瘤免疫逃逸的发生, 如 M-CSF、IL-4、IL-13 和 IL-10; M2 型巨噬细胞还可产生直接促进肿瘤细胞增殖的 IL-1 β 、TNF- α 和 IL-6, 此外还分泌与血管生成相关的因子, 如 TNF- α 、CXCL8、IL-6 和 IL-23, 促进了肿瘤血管的生成。TAMs 中表达的 STAT3 能抑制宿主的抗肿瘤免疫反应, 从黑色素瘤小鼠模型肿瘤组织中分离出的巨噬细胞中存在 STAT3 过度活化, 通过 VEGF 和 bFGF 诱导了血管生成^[40]。

Treg 细胞是具有特定表型 (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。肿瘤浸润的 Treg 细胞中 STAT3 活性明显增加, 其分泌的 TGF- β 和 IL-10 能够直接抑制 CD8⁺ T 淋巴细胞活化或间接通过 DCs 抑制 CD8⁺ T 淋巴细胞活化。此外, Treg 细胞能促进抗原提呈细胞失活, 并抑制 Th1 细胞和细胞毒性 T 淋巴细胞的抗肿瘤活性。肿瘤微环境中产生的 IL-23, 通过 IL-23 受体依赖 STAT3 途径增强了 Treg 细胞的免疫抑制作用。STAT3 可能通过 IL-10、TGF- β 及 IL-23 等细胞因子参与 Treg 细胞的分化及活化, 促进肿瘤免疫逃逸的发生^[41]。

MDSC 是由未成熟的骨髓细胞因分化受阻所形成的一群异质性细胞, 在肿瘤微环境中参与免疫抑制和促进肿瘤血管生成, 其分化和功能也受到 STAT3 的调节。肿瘤微环境中 CCL2、CXCL2、IL-1 β 、钙结合蛋白 S100A9 和 S100A8 的表达将 MDSC 招募到肿瘤灶, 同时抑制 MDSC 向成熟的 DC 细胞分化, 使得 MDSC 的数量不断增多^[42]。

3 STAT3 合成特异性小分子抑制剂

如前所述, STAT3 的异常活化在不同肿瘤的发生、发展和转移中起了关键作用, STAT3 已经成为肿瘤治疗的新靶点。

Stattic (图 2) 是非肽类的小分子抑制剂, 通过结合到 SH2 区域选择性抑制 STAT3, SH2 区域对于 STAT3 的活化和核转位至关重要。10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ stattic 使 STAT3 依赖性的 MDA-MB-231 细胞 G₁ 期阻滞增加 7.6 倍, 而 MDA-MB-435s 细胞 G₁ 期阻滞增加 14.4 倍, 而在 STAT3 非依赖性的 MDA-MB-453 中则只有轻微的增长。TUNEL 结果表明 stattic 处理 24 h 后, MDA-MB-435s 发生了显著的凋亡。Stattic 能抑制酪氨酸磷酸化位点与 STAT3 SH2 区域结合, 阻止二聚化以及 STAT3 的 DNA 结合^[43]。

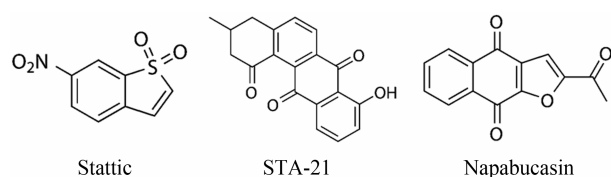


Figure 2 Several small molecular targeted STAT3 inhibitors

阿斯利康的 AZD9150 是一种反义寡核苷酸, 可抑制 STAT3 表达, 最近临床数据表明, 系统给药的反义寡核苷酸能作用于肝脏的基因。体内给予 AZD9150 后, 能够降低一系列临床前肿瘤模型的 STAT3 表达, 并且在淋巴瘤和肺癌模型中表现出抗肿瘤效果^[44]。

小分子化合物 STA-21 (图 2) 在细胞中能抑制 STAT3 的 DNA 结合活性、STAT3 二聚化及 STAT3 依赖性的荧光素酶活性。STA-21 有效地抑制了乳腺癌肿瘤细胞系的生长和存活, 如表达持续活化 STAT3 的 MDA-MB-231、MDA-MB-435s 及 MDA-MB-468 细胞。在 RH30 和 RD2 细胞中, STA-21 通过对 caspase 3、caspase 8 和 caspase 9 的调节抑制细胞的活性和生长, 同时诱导了细胞凋亡^[45]。

日本大冢公司开发的口服 STAT3 抑制剂 OPB-51602, 正在进行治疗难治复发淋巴瘤的 I 期临床试验, 20 例临床患者使用不同的剂量分别为 1、2、3、4 和 6 mg。结果表明, 最大耐受剂量为 6 mg, 患者在 1~4 mg 内能够很好地耐受。

小分子化合物 napabucasin (图 2) 是一种口服有

效的 STAT3 和癌细胞多能性抑制剂, 半数抑制浓度 (IC₅₀) 范围为 0.291~1.19 μmol·L⁻¹。Napabucasin 能显著抑制肿瘤细胞增殖, 下调肿瘤基因的表达。同时也能抑制结直肠癌的自发性肝转移, 延缓胰腺癌的复发。目前, napabucasin 已经进入 III 期临床试验, 用于胰腺癌、非小细胞肺癌和结直肠癌的治疗^[46]。

4 天然产物 STAT3 抑制剂

除了合成的小分子抑制剂外, 从天然产物中提取分离的小分子化合物也能很好地抑制肿瘤中 STAT3 信号通路的活化。下面介绍几种能阻止 STAT3 活化和肿瘤生长侵袭的天然小分子化合物 (图 3)。

4.1 白桦脂酸

白桦脂酸 (betulinic acid) 是从台湾青枣中提取出来的五环三萜烯, 最先被报道对黑色素瘤有特异性细胞毒性。另外, 在过去的 10 年中, 大量的研究发现其能诱导甲状腺癌、乳腺癌、肺癌、结肠癌、白血病和多发性骨髓瘤的细胞凋亡。白桦脂酸同样可以下调 STAT3 下游产物的表达, 如 Bcl-xL、Bcl-2、cyclin D1 和 survivin。它还能增加 caspase-3 诱导的 PARP 剪切, 诱导凋亡和 G₁ 期细胞周期阻滞^[47]。

4.2 紫柳花素

紫柳花素 (butein) 在韩国、日本和中国等地区被广泛用于治疗疼痛、血栓、胃炎和胃部肿瘤等。有报道指出紫柳花素能抑制乳腺癌、结肠癌、骨肉瘤、淋巴瘤、急性骨髓性白血病和黑色素瘤等肿瘤的增

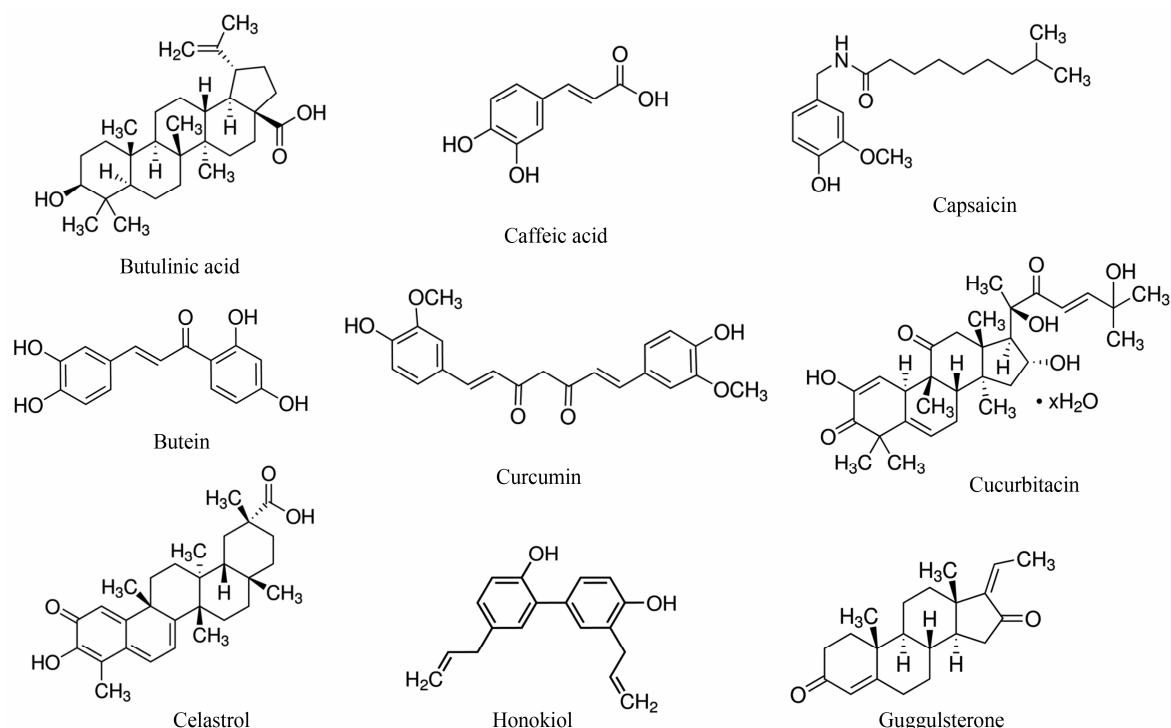


Figure 3 Chemical structures of selected natural blockers of STAT3 activation cascade

殖。紫柳花素能抑制 HepG2 细胞中 STAT3 的活化, 并且呈浓度和时间依赖性^[48]。

4.3 咖啡酸

咖啡酸 (caffeic acid) 的抗氧化和抗炎作用已被广泛研究。咖啡酸及其衍生物显著抑制 STAT3 活性。STAT3 Tyr705 在低氧条件下磷酸化增加, 而在咖啡酸作用下呈剂量依赖性降低^[49]。

4.4 辣椒素

辣椒素 (capsaicin) 被报道在肿瘤化学预防上有积极作用。辣椒素通过下调 STAT3 相关下游蛋白, 如 Bcl-2、Bcl-xL 和 survivin 的表达来诱导多种肿瘤细胞的凋亡。辣椒素抑制多种肿瘤细胞中的 STAT3 活性, 且呈现剂量和时间依赖性。辣椒素下调 cyclin D1、Bcl-2、Bcl-xL、survivin 和 VEGF 的表达, 而且能诱导细胞 G₁ 期阻滞, 从而抑制细胞增殖, 诱导凋亡^[50]。

4.5 南蛇藤醇

南蛇藤醇 (celastrol) 是从中药植物昆明山海棠中提取获得, 据报道体内外均能抑制多种肿瘤细胞增殖、诱导凋亡、抑制侵袭转移及血管生成。HepG2 细胞与不同浓度的南蛇藤醇共培养 6 h, 可剂量依赖性地抑制组成型 STAT3 的活化。此外, 南蛇藤醇也能时间依赖性抑制 STAT3 的 DNA 结合能力, 同时抑制 STAT3 的核转位, 从而抑制转录因子功能^[51]。

4.6 葫芦素类

葫芦素 (cucurbitacins) 是很多中药含有的成分, 具有抗炎、抗微生物和抗肿瘤的作用。最近有报道葫芦素 B 能抑制多种人肿瘤细胞和异位移植瘤的生长。在人肝癌细胞中, 葫芦素 B 能降低 STAT3 磷酸化水平, 并下调下游产物 cyclin B1 和 Bcl-2 等表达^[52]。

4.7 其他

除了上述几种天然化合物外, 还有如姜黄素 (curcumin)、没药甾酮 (guggulsterone) 与和厚朴酚 (honokiol) 等也表现出 STAT3 抑制活性。脑胶质瘤是最常见和最致命的脑部肿瘤。姜黄素能剂量依赖性抑制鼠脑胶质瘤细胞中 JAK1、JAK2 和 STAT3 酪氨酸磷酸化。下调 STAT3 靶基因, 如 c-Myc、MMP-9、Snail、Twist 和 Ki67 的转录。此外, 姜黄素能诱导 G₂/M 期细胞周期阻滞, 从而抑制细胞增殖。没药甾酮能呈剂量和时间依赖性地抑制 U266 肿瘤细胞中组成型 STAT3 的活性, 10~25 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 作用 4 h 时抑制效果最强。和厚朴酚能够剂量和时间依赖性地抑制 HepG2 细胞中组成型的 STAT3 活化, 最大抑制浓度为 50 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, 最大抑制时间在 6 h。和厚朴酚呈时间依赖性下调 HepG2 细胞中细胞周期蛋白 cyclin D1 和抗凋

亡蛋白 Bcl-2、Bcl-xL、survivin、Mcl-1 和 VEGF 的表达, 最大抑制效果在 24 h 左右^[53]。

5 总结与展望

肿瘤细胞 STAT3 异常活化会打乱正常的细胞生长、增殖、血管生成和免疫功能, 相反, 阻断了 STAT3 的活化则会导致细胞凋亡、抑制细胞增殖、抑制血管生成和刺激免疫反应。由于 STAT3 二聚化和结合到 DNA 上才能发挥作用, 所以针对能消除蛋白相互作用或者减弱 DNA 结合能力的 STAT3 抑制剂可能会更有前景。STAT3 抑制剂的临床前研究已经有 10 多年, 但是进入到临床阶段的却很少, 所以设计和发现真正有针对性的 STAT3 抑制剂依然是一个很有挑战的过程。很多对 STAT3 有抑制活性的天然产物可以用作先导化合物, 以此为基础合成更有效的小分子化合物。进一步筛选、综合、评价和选择最优的阻断抑制剂, 将中西药物治疗与传统的放疗、化疗结合进一步研发低毒高效的治疗药物和方法, 可能是今后的研究方向之一, 这将为人类治疗肿瘤揭开新的篇章。

References

- [1] Aggarwal BB, Sethi G, Ahn KS, et al. Targeting signal transducer and activator of transcription 3 for prevention and therapy of cancer: modern target but ancient solution [J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2006, 1091: 151–169.
- [2] Yu H, Jove R. The STATs of cancer – new molecular targets come of age [J]. *Nat Rev Cancer*, 2004, 4: 97–105.
- [3] Turkson J, Jove R. STAT proteins: novel molecular targets for cancer drug discovery [J]. *Oncogene*, 2000, 19: 6613–6626.
- [4] Yi Z, James T, Christin C, et al. Activation of STAT3 in v-Src transformed fibroblasts requires cooperation of Jak 1 kinase activity [J]. *Biol Chem*, 2000, 275: 24–35.
- [5] Siveen KS, Sikka S, Surana R, et al. Targeting the STAT3 signaling pathway in cancer: role of synthetic and natural inhibitors [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2014, 1854: 136–154.
- [6] Jarnicki AI, Putoczki T, Ernst M. STAT3: linking inflammation to epithelial cancer - more than a “gut” feeling? [J]. *Cell Div*, 2010, 17: 14.
- [7] Heinrich PC, Behrmann I, Müller-Newen G, et al. Interleukin-6-type cytokine signaling through the gp130/Jak/STAT pathway [J]. *Biochem*, 1998, 334: 297–314.
- [8] Debnath B, Xu S, Neamati N. Small molecule inhibitors of signal transducer and activator of transcription 3 (STAT3) protein [J]. *Med Chem*, 2012, 55: 6645–6668.
- [9] Johnston PA, Grandis JR. STAT3 signaling: anticancer

- strategies and challenges [J]. *Mol Interv*, 2011, 11: 18–26.
- [10] Silva CM. Role of STATs as downstream signal transducers in Src family kinase-mediated tumorigenesis [J]. *Oncogene*, 2004, 23: 8017–8023.
- [11] Ma J, Cao X. Regulation of STAT3 nuclear import by importin $\alpha 5$ and importin $\alpha 7$ via two different functional sequence elements [J]. *Cell Signal*, 2006, 18: 1117–1126.
- [12] Subramaniam A, Shanmugam MK, Perumal E, et al. Potential role of signal transducer and activator of transcription (STAT) 3 signaling pathway in inflammation, survival, proliferation and invasion of hepatocellular carcinoma [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2013, 1835: 46–60.
- [13] Masciocchi D, Gelain A, Villa S, et al. Signal transducer and activator of transcription 3 (STAT3): a promising target for anticancer therapy [J]. *Future Med Chem*, 2011, 3: 567–597.
- [14] Ivanov VN, Krasilnikov M, Ronai ZE. Regulation of Fas expression by STAT3 and c-Jun is mediated by phosphatidylinositol 3-kinase-AKT signaling [J]. *Biol Chem*, 2002, 277: 4932–4944.
- [15] Chai SK, Nichols GL, Rothman P. Constitutive activation of JAKs and STATs in BCR-Abl-expressing cell lines and peripheral blood cells derived from leukemia patients [J]. *Immunol*, 1997, 159: 4720–4728.
- [16] Abdulghani J, Gu L, Dagvadorj A, et al. STAT3 promotes metastatic progression of prostate cancer [J]. *Pathol*, 2008, 172: 1717–1728.
- [17] Bollrath J, Pesse TJ, Burstin VA, et al. gp130-mediated STAT3 activation in enterocytes regulates cell survival and cell-cycle progression during colitis-associated tumorigenesis [J]. *Cancer Cell*, 2009, 15: 91–102.
- [18] Chen CL, Cen L, Kohout J, et al. Signal transducer and activator of transcription 3 activation is associated with bladder cancer cell growth and survival [J]. *Mol Cancer*, 2008, 7: 78.
- [19] Masuda M, Suzui M, Yasumatu R, et al. Constitutive activation of signal transducers and activators of transcription 3 correlates with cyclin D1 overexpression and may provide a novel prognostic marker in head and neck squamous cell carcinoma [J]. *Cancer Res*, 2002, 62: 3351–3355.
- [20] Jinsu K, Seungho C, Nishant S, et al. Regulation of STAT3 and NF- κ B activations by S-nitrosylation in multiple myeloma [J]. *Free Radic Biol Med*, 2017, 106: 245–253.
- [21] Fukada T, Ohtani T, Yoshida Y, et al. STAT3 orchestrates contradictory signals in cytokine-induced G₁ to S cell-cycle transition [J]. *EMBO J*, 1998, 17: 6670–6677.
- [22] Zhao SH, Zhao F, Zheng JY, et al. Knockdown of STAT3 expression by RNAi inhibits *in vitro* growth of human ovarian cancer [J]. *Radiol Oncol*, 2011, 45: 196–203.
- [23] Xiong H, Zhang ZG, Tian XQ, et al. Inhibition of JAK1, 2/STAT3 signaling induces apoptosis, cell cycle arrest, and reduces tumor cell invasion in colorectal cancer cells [J]. *Neoplasia*, 2008, 10: 287–297.
- [24] Kanda N, Seno H, Konda Y, et al. STAT3 is constitutively activated and supports cell survival in association with survivin expression in gastric cancer cells [J]. *Oncogene*, 2004, 23: 4921–4929.
- [25] Zorzi E, Bonvini P. Inducible Hsp70 in the regulation of cancer cell survival: analysis of chaperone induction, expression and activity [J]. *Cancer*, 2011, 3: 3921–3956.
- [26] Nicholas D, Felicia M, Ilsa C, et al. Expression of STAT3 in prostate cancer metastases [J]. *Eur Urol*, 2017, 71: 313–316.
- [27] Lee H, Deng J, Kujawski M, et al. STAT3-induced S1PR1 expression is crucial for persistent STAT3 activation in tumors [J]. *Nat Med*, 2010, 16: 1421–1428.
- [28] Li Y, Du H, Qin Y, et al. Activation of the signal transducers and activators of the transcription 3 pathway in alveolar epithelial cells induces inflammation and adenocarcinomas in mouse lung [J]. *Cancer Res*, 2007, 67: 8494–8503.
- [29] Emily J, Huiyuan Z, Haiyan S, et al. STAT3 signaling in immunity [J]. *Cytokine Growth Factor Rev*, 2016, 31: 1–15.
- [30] Dauer DJ, Ferraro B, Song L, et al. STAT3 regulates genes common to both wound healing and cancer [J]. *Oncogene*, 2005, 24: 3397–3408.
- [31] Wu HX, Yan SX, Chen JY, et al. JAK1-STAT3 blockade by JAK inhibitor SHR0302 attenuates inflammatory responses of adjuvant-induced arthritis rats and decreases Th17 and total B cells [J]. *Joint Bone Spine*, 2016, 83: 525–532.
- [32] Kesanakurti D, Chetty C, Maddirela DR, et al. Essential role of cooperative NF- κ B and STAT3 recruitment to ICAM-1 intronic consensus elements in the regulation of radiation-induced invasion and migration in glioma [J]. *Oncogene*, 2012, 32: 5144–5155.
- [33] Song Y, Qian L, Song S, et al. Fra-1 and STAT3 synergistically regulate activation of human MMP-9 gene [J]. *Mol Immunol*, 2008, 45: 137–143.
- [34] Daniel J, Garama, Christine L, et al. Mitochondrial STAT3: powering up a potent factor [J]. *Cytokine*, 2016, 87: 20–25.
- [35] Xie TX, Wei D, Liu M, et al. STAT3 activation regulates the expression of matrix metalloproteinase-2 and tumor invasion and metastasis [J]. *Oncogene*, 2004, 23: 3550–3560.
- [36] Valdembri D, Serini G, Vacca A, et al. *In vivo* activation of JAK2/STAT-3 pathway during angiogenesis induced by GM-CSF [J]. *FASEB J*, 2002, 16: 225–227.

- [37] Edna Z, Muthu K, Frank A, et al. Targeting transcription factor STAT3 for cancer prevention and therapy [J]. *Pharmacol Ther*, 2016, 162: 86–97.
- [38] Niu G, Wright KL, Ma Y, et al. Role of STAT3 in regulating p53 expression and function [J]. *Mol Cell Biol*, 2005, 25: 7432–7440.
- [39] Bauer K, Binder S, Klein C, et al. Inhibition of dendritic cell maturation and activation is mediated by STAT3 [J]. *Cell Commun Signal*, 2009, 7: 68.
- [40] Sansone P, Bromberg J. Environment, inflammation and cancer [J]. *Curr Opin Genet Dev*, 2012, 21: 80–85.
- [41] Marcin K, Hong X, Maciej K, et al. Regulation of the IL-23 and IL-12 balance by STAT3 signaling in the tumor microenvironment [J]. *Cancer Cell*, 2009, 15: 81–83.
- [42] Thomas C, Dmitry I. Gavrilovich molecular mechanisms regulating myeloid-derived suppressor cell differentiation and function [J]. *Trends in Immunol*, 2011, 32: 19–25.
- [43] Schust J, Sperl B, Hollis A, et al. Stattic: a small-molecule inhibitor of STAT3 activation and dimerization [J]. *Chem Biol*, 2006, 13: 1235–1242.
- [44] Hong D, Kurzrock R, Kim Y, et al. AZD9150, a next-generation antisense oligonucleotide inhibitor of STAT3 with early evidence of clinical activity in lymphoma and lung cancer [J]. *Clin Transl Med*, 2015, 11: 314–318.
- [45] Song H, Wang R, Wang S, et al. A low-molecular-weight compound discovered through virtual database screening inhibits STAT3 function in breast cancer cells [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2005, 102: 4700–4705.
- [46] Li Y, Roqoff HA, Keates S, et al. Suppression of cancer relapse and metastasis by inhibiting cancer stemness [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2005, 2: 1839–1844.
- [47] Pandey MK, Sung B, Aggarwal BB. Betulinic acid suppresses STAT3 activation pathway through induction of protein tyrosine phosphatase SHP-1 in human multiple myeloma cells [J]. *Int J Cancer*, 2010, 127: 282–292.
- [48] Wang Y, Chan FL, Chen S, et al. The plant polyphenol butein inhibits testosterone-induced proliferation in breast cancer cells expressing aromatase [J]. *Life Sci*, 2005, 77: 39–51.
- [49] Jung JE, Kim HS, Lee CS, et al. Caffeic acid and its synthetic derivative CADPE suppress tumor angiogenesis by blocking STAT3-mediated VEGF expression in human renal carcinoma cells [J]. *Carcinogenesis*, 2007, 28: 1780–1787.
- [50] Bhutani M, Pathak AK, Nair AS, et al. Capsaicin is a novel blocker of constitutive and interleukin-6-inducible STAT3 activation [J]. *Clin Cancer Res*, 2007, 13: 3024–3032.
- [51] Moran DM, Mattocks MA, Cahill PA, et al. Interleukin-6 mediates G₀/G₁ growth arrest in hepatocellular carcinoma through a STAT3-dependent pathway [J]. *Surg Res*, 2008, 147: 23–33.
- [52] Liu T, Zhang M, Zhang H, et al. Inhibitory effects of cucurbitacin B on laryngeal squamous cell carcinoma [J]. *Eur Arch Otorhinolaryngol*, 2008, 265: 1225–1232.
- [53] Bharti AC, Donato N, Aggarwal BB. Curcumin (diferuloylmethane) inhibits constitutive and IL-6-inducible STAT3 phosphorylation in human multiple myeloma cells [J]. *Immunol*, 2003, 171: 3863–3871.