

磷酸化抑制糖尿病周围神经病变小鼠氧化应激. 中国药理学通报, 2015, 31(5): 26-30.

- [28] Herland A, van der Meer AD, FitzGerald EA, et al. Distinct Contributions of Astrocytes and Pericytes to Neuroinflammation Identified in a 3D Human Blood-Brain Barrier on a Chip[J]. PLoS One, 2016, 11(3): 150-165.

- [29] Abbott NJ, Patabendige AA, Dolman DE, et al. Structure and function of the blood-brain barrier [J]. Neurobiol Dis, 2010, 37(1): 13-25.

- [30] Abbott NJ, Rönnebeck L, Hansson E. Astrocyte-endothelial interactions at the blood-brain barrier [J]. Nat Rev Neurosci, 2006, 7(1): 41-53.

## STAT1 及其相关信号通路对脑胶质瘤生物学特性的影响及机制研究进展

王小刚, 吴勇强 综述 郭庚 审校

山西医科大学第一医院神经外科, 山西 太原 030001

**摘要:** 信号转导子和转录激活子 1 (Signal Transducers and Activators of Transcription1, STAT1) 是一种可以和靶基因调控区 DNA 相结合的胞浆蛋白, 通过参与多种信号通路来调控细胞生长、分化和增殖等基因的表达, 在脑胶质瘤的发生发展中起重要的作用。STAT1 可以双向调控脑胶质瘤增殖, 其异常激活可抑制脑胶质瘤的免疫逃逸和病理性血管生成、促进脑胶质瘤的凋亡。本文就 STAT1 的激活途径及其与脑胶质瘤的恶性生物学特性的关系作一综述。

**关键词:** 脑胶质瘤; STAT1; 信号通路; 功能; 机制

DOI: 10.16636/j.cnki.jinn.2017.04.025

脑胶质瘤是中枢神经系统最常见的原发性恶性肿瘤, 预后极差。近年来即使采用手术全切 + 适形分割放疗 + 替莫唑胺化疗多种手段联合治疗方案, 胶质母细胞瘤 (WHO IV 级) 患者中位生存期仍小于 15 个月<sup>[1]</sup>。信号转导与转录激活因子 (Signal Transducers and Activators of Transcription, STAT) 家族由 STAT1、STAT2、STAT3、STAT4、STAT5a、STAT5b、STAT6 等 7 个成员组成, 广泛表达于不同类型的细胞和组织中, 并参与细胞免疫、炎症反应和细胞增殖等生理过程的调控<sup>[2]</sup>。STAT1 通过参与干扰素 (Interferon, IFN)、酪氨酸激酶 (Janus Kinase, JAK) / STAT、NF- $\kappa$ B<sup>[3]</sup> 等多种信号通路的调控, 在多种生理和病理过程中发挥重要的作用。目前大量研究<sup>[4-6]</sup>表明: STAT1 是一种肿瘤抑制因子, 可抑制肿瘤增殖及病理性血管新生, 促进肿瘤细胞凋亡。本

文将就 STAT1 的激活途径以及 STAT1 对脑胶质瘤的恶性生物学特性的影响作一综述。

### 1 STAT1 的激活途径

STAT1 是信号转导与转录激活因子家族中的重要成员之一, 基因定位于 1 号染色体上, 由 750 个氨基酸残基组成, 编码 91kD 的蛋白质, 它主要包含有 6 个功能区域: N 端的氨基酸保守序列、卷曲螺旋区、DNA 结合域、连接区、SH2 结合域 (Src Homolog 2 domain, SH2) 和 C 端的转录活性域 (Transcriptional Activation Domain, TAD)。其中 SH2 结合域位于第 577 至第 683 位氨基酸残基之间, 可使 STAT1 分子募集到酪氨酸磷酸化受体上, 同时也是 STAT1 酪氨酸磷酸化后相互作用形成二聚体所必需的<sup>[7]</sup>。TAD 区域位于第 684 至第 750 位氨基酸残基之间, 该区域中内的 701 位点酪氨酸磷

**基金项目:** 国家自然科学基金 (81201991); 中国博士后科学基金 (2015M571068、2016T90115); 北京博士后工作经费资助项目 (2015ZZ56、2016ZZ43); 山西省自然科学基金 (201601D011127); 山西省高等学校创新人才支持计划 (晋教科[2013]8 号)

**收稿日期:** 2017-04-29; **修回日期:** 2017-07-20

**作者简介:** 王小刚 (1990-), 男, 在读研究生。研究方向: 脑胶质瘤的基础和临床研究。

**通信作者:** 郭庚 (1980-), 男, 副主任医师, 硕士生导师, 目前为首都医科大学附属北京天坛医院在站博士后。主要从事脑胶质瘤的基础和临床研究。E-mail: guogeng973@163.com

酸化对于 STAT1 同源二聚体形成、核异位以及 DNA 的结合发挥重要作用。此外, TAD 区域内的第 727 位点的丝氨酸磷酸化对于 STAT1 的转录调节活性起着至关重要的作用。

通常情况下, STAT1 以非活化单体形式存在于胞质中, 当有外界刺激时, 胞膜上的受体可以活化 JAK 进而激活 STAT1 发挥效应。研究发现<sup>[8]</sup>, STAT1 可在 IFN 刺激下经磷酸化活化形成异源或同源二聚体状态进行核定位, 进而与特异性顺式作用原件等结合发挥作用。在 IFN- $\gamma$  刺激下, 胞膜上亚型受体促使已经和受体的胞内部分相连的 JAK1 和 JAK2 自身磷酸化及相互磷酸化, 从而为募集 STAT1 提供停泊位点。非活化状态的 STAT1 通过 SH2 结构域结合于停泊位点后, 其 701 位点酪氨酸被 JAK1 磷酸化, 从而形成同源二聚体转入胞核发挥作用。此外, STAT1 的转录活化能力可因其第 727 位点丝氨酸的磷酸化而加强<sup>[4]</sup>。在 IFN- $\alpha$  刺激时, 其亚型受体分别与 JAK1 和 JAK2 结合, 促使 STAT2 第 690 位点和 STAT1 第 701 位点发生磷酸化形成异源二聚体, 该二聚体、IFN 调控因子 9 和 P48/干扰素刺激基因因子 3 (Interferon-stimulated gene factor 3, ISGF3) 结合形成 ISGF3 复合物转入细胞核后作用于靶基因而发挥调控作用<sup>[9]</sup>。

## 2 STAT1 对脑胶质瘤恶性生物学特性的影响

### 2.1 STAT1 抑制脑胶质瘤免疫逃逸

机体可通过免疫监视、免疫应答等机制来抑制肿瘤增殖, 而肿瘤细胞可通过免疫耐受和免疫逃逸来逃脱机体的免疫监视, 从而导致肿瘤的发生、侵袭和转移<sup>[10]</sup>。STAT1 可通过激活免疫系统来抑制脑胶质瘤的进展。IFN- $\gamma$ /STAT1/IRF1 轴的激活可以促进主要组织相容性复合体 (Major Histocompatibility Complex, MHC) I 类分子的表达, 而后者可在脑胶质瘤细胞表面表达并递呈脑胶质瘤特异性抗原。STAT1 还参与形成蛋白酶体亚基 LMP2、LMP7 和抗原加工相关转运体, 有利于肿瘤抗原的加工和提呈<sup>[11]</sup>。因此, IFN- $\gamma$ /STAT1 信号缺失或受损, 可使脑胶质瘤细胞产生抗原提呈错误或缺陷, 从而使脑胶质瘤逃避免疫监视。此外, Adach-Kilon 等<sup>[12]</sup>研究发现 STAT1 被激活后通过参与免疫应答来抑制脑胶质瘤细胞的免疫逃逸, 进而抑制脑胶质瘤的发生发展。综上, STAT1 可通过增强机体的免疫监视能力, 促进脑胶质瘤表面抗原递呈能力从而杀伤脑胶质瘤细胞, 抑制脑胶质瘤免疫逃逸。

### 2.2 STAT1 双向调控脑胶质瘤增殖

研究发现, STAT1 在正常脑组织中高表达, 而在脑胶质瘤细胞中 STAT1 呈现低表达或不表达<sup>[5]</sup>。敲除 STAT1 的小鼠暴露于化学致癌物时, 不仅其肿瘤的发生可能性增加而且肿瘤的生长速度更快<sup>[4]</sup>。STAT1 能够诱导干扰素诱导跨膜蛋白 1、G1/S 期阻断剂锌指蛋白以及 P21/野生型 P53 蛋白激活因子 (wide-type 53-activated factor 1, WAF1) 的表达来调控细胞周期, 其中 P21/WAF1 是细胞周期蛋白依赖性激酶 (Cyclin Dependent Kinase, CDK) 抑制剂。STAT1 被激活后能够与 P21/WAF1 启动子中识别序列特异性结合, 上调 P21/WAF1 的表达水平, 抑制 CDK 活性, 导致细胞周期停滞在 G0/G1 期, 从而抑制细胞增殖<sup>[13]</sup>。Ju 等<sup>[5]</sup>首先用免疫组化方式证实 STAT1 在正常的脑组织中表达水平明显高于脑胶质瘤组织, 接着通过瞬时转染 STAT1 质粒获得 U87/STAT1 细胞体外研究模型, 进一步应用 CCK-8 法发现: 转染 pSTAT1 质粒 24h 后, pSTAT1 组胶质瘤细胞生存率明显下降; 采用 western blot 方法检测发现: STAT1 过表达的 U87MG 细胞中增殖细胞核抗原 (Proliferation Cell Nuclear Antigen, PCNA) 较对照组表达下调, 这表明: STAT1 可能通过刺激 P21/WAF1 的表达抑制 PCNA 活性, 致 DNA 复制及细胞周期停滞, 导致胶质瘤 U87MG 细胞增殖被抑制。Bello 等<sup>[14]</sup>在胶质瘤 U87MG 细胞系中进行体外实验, 利用 HerberPAG (IFN- $\alpha$ /IFN- $\gamma$ Co-Formulation) 干预后发现, STAT1 表达上调可抑制胶质瘤 U87MG 细胞增殖。Zhang 等<sup>[15]</sup>敲低 U251 胶质瘤细胞 miR-221/222 基因表达后, STAT1 和 STAT2 发生核转位并且 STAT1、STAT2 以及磷酸化的 STAT1、STAT2 的表达上调, NF- $\kappa$ B、C-myc、pC-myc、m-TOR 表达降低, 表明抑制 miR-221/222 基因可能部分通过 IFN- $\alpha$  通路上调 STAT1 和 STAT2 的翻译水平, 激活其功能从而抑制胶质瘤增殖。

目前大部分研究表明 STAT1 是一种肿瘤抑制因子, 但也有相关文献报道 STAT1 可以促进脑胶质瘤的发生发展。Thota 等<sup>[16]</sup>在胶质瘤 U251 细胞中敲除胰岛素样生长因子结合蛋白-3 (IGF-binding proteins3, IGFBP-3) 后, STAT1 蛋白表达水平下调, 胶质瘤细胞增殖被抑制。Yang 等<sup>[17]</sup>发现在胶质母细胞瘤, miR203 可抑制 STAT1 的表达而发挥肿瘤抑制作用。Duarte 等<sup>[18]</sup>发现持续性的进行 IFN/

STAT1 信号传递可促进脑胶质瘤细胞的生长,同时还可以增强脑胶质瘤对化疗和放疗的抵抗性。此外,STAT1 过表达还可导致胸膜间皮瘤<sup>[19]</sup>的发生发展。综上,STAT1 过表达对人脑胶质瘤细胞增殖能力影响的差异,说明 STAT1 可能在不同的肿瘤微环境通过不同的信号通路发挥着不同的调控作用,具体机制有待于进一步研究。

### 2.3 STAT1 促进脑胶质瘤凋亡

研究发现,利用肿瘤坏死因子刺激 STAT1 缺陷的细胞,并无细胞凋亡发生,而当 STAT1 基因重新导入 STAT1 缺陷细胞后,这些细胞发生了凋亡,这表明 STAT1 蛋白是细胞发生凋亡或凋亡过程必不可少的一部分<sup>[20]</sup>。Yan 等<sup>[21]</sup>发现 STAT1 可介导细胞凋亡过程的信号转导。STAT1 可被多种细胞因子和生长因子激活,如白细胞介素 4 (IL-4)、白细胞介素 6 (IL-6) 和生长激素,通过多种途径促进细胞凋亡。STAT1 可以通过上调半胱天冬蛋白酶 3 (caspases3)、半胱天冬蛋白酶 6 (caspases6)<sup>[22]</sup>、细胞死亡受体 (death receptor, DR) 等凋亡调控基因来诱导细胞发生凋亡。Licht V 等<sup>[6]</sup>发现 STAT1 可能参与了 caspases 的结构性表达,而这一过程并不依赖于 STAT1 的磷酸化和二聚体的形成。Waibel 等<sup>[23]</sup>研究发现 STAT1 还可以抑制抗凋亡蛋白 Bcl-2 和 Bcl-XL 的表达,上调 Bax 的表达,而 Bax 过表达可以导致胶质瘤细胞发生凋亡<sup>[24]</sup>。Ju 等<sup>[5]</sup>在胶质瘤 U87/STAT1 体外模型中,应用 Annexin V/PI 双染流式和 western blot 检测得出,STAT1 过表达导致 U87 细胞早期和晚期凋亡率均显著提高,同时促凋亡蛋白 caspases3、Bax 表达水平上调,抗凋亡蛋白 Bcl-2 表达水平明显下调。此外,STAT1 还可以与 P53 形成络合物,增强 P53 介导的基因转录活性,促进细胞发生凋亡。Coults 等<sup>[25]</sup>进一步研究发现,P53 和 STAT1 双缺陷的小鼠中,恶性肿瘤生长的速度远远快于单纯 P53 缺陷的小鼠,表明 STAT1 还可与 P53 协同促进细胞发生凋亡。Adamaki M 等<sup>[3]</sup>研究表明,IFN 依赖的 STAT1 信号通路还可以抑制 NF- $\kappa$ B 信号转导来调控细胞凋亡。

### 2.4 STAT1 抑制脑胶质瘤的病理性血管新生

实体肿瘤的生长、侵袭及转移依赖于持续性的病理性血管新生。血管内皮生长因子 (Vascular endothelia growth factor, VEGF) 是血管生成的关键性调节因子,在肿瘤的发生发展中发挥着重要作用。VEGF 可通过与其配体结合激活下游信号,诱导肿

瘤新生血管生成并增加血管通透性。Sun 等<sup>[26]</sup>研究发现 STAT1 蛋白表达水平下调可以增加 VEGF 的表达水平,从而促进肿瘤生长,侵袭以及转移。此外,在胶质瘤细胞系中 STAT1 还可抑制缺氧诱导因子 1 $\alpha$  (hypoxia inducible factor-1 $\alpha$ , HIF-1 $\alpha$ ) 的转录活性,后者可以促进肿瘤新生血管生成<sup>[4]</sup>。Ji 等<sup>[27]</sup>建立了胶质母细胞瘤的鼠异种移植瘤模型,通过分析基因表达谱发现:与对照组相比,贝伐单抗抗性肿瘤中 STAT1/IRF-1 信号传导的转录水平增加,而通过短发夹 RNA (shRNA) 下调 IRF-1 的表达可阻断贝伐单抗介导的自噬作用,表明 STAT1/IRF-1 信号通路可能在胶质瘤细胞的新生血管形成过程发挥重要的作用。

### 3 结语

STAT1 及相关信号通路已被证实与脑胶质瘤的恶性生物学特性关系密切,但目前针对 STAT1 的研究尚处于初级阶段,继续挖掘其在脑胶质瘤中作用的分子机制,深入研究 STAT1 及相关信号通路将为脑胶质瘤的诊治提供新的靶点和理论依据。

### 参 考 文 献

- [1] Darefsky AS, Jr KJ, Dubrow R, et al. Adult glioblastoma multiforme survival in the temozolomide era: a population-based analysis of Surveillance, Epidemiology, and End Results registries. *Cancer*, 2012, 118(8):2163-2172.
- [2] Furqan M, Mukhi N, Lee B, et al. Dysregulation of JAK-STAT pathway in hematological malignancies and JAK inhibitors for clinical application. *Biomark Res*, 2013, 1(1):5.
- [3] Adamaki M, Tsotra M, Vlahopoulos S, et al. STAT, transcript levels in childhood acute lymphoblastic leukemia: STAT1, and STAT3, transcript correlations. *Leuk Res*, 2015, 39(11):1285-1291.
- [4] Meissl K, Macho-Maschler S, Müller M, et al. The good and the bad faces of STAT1 in solid tumours. *Cytokine*, 2017, 89:12-20.
- [5] Ju H, Li X, Li H, et al. Mediation of multiple pathways regulating cell proliferation, migration, and apoptosis in the human malignant glioma cell line U87MG via unphosphorylated STAT1: laboratory investigation. *J Neurosurg*, 2013, 118(6):1239-1247.
- [6] Licht V, Noack K, Schlott B, et al. Caspase-3 and Caspase-6 cleave STAT1 in leukemic cells. *Oncotarget*, 2014, 5(8):2305-2317.
- [7] Meesilpavikkai K, Dik WA, Schrijver B, et al. A Novel Heterozygous Mutation in the STAT1 SH2 Domain Causes Chronic Mucocutaneous Candidiasis, Atypically Diverse Infec-

- tions, Autoimmunity, and Impaired Cytokine Regulation. *Front Immunol*, 2017, 8; 274.
- [ 8 ] Stark GR, Darnell JE Jr. The JAK-STAT pathway at twenty. *Immunity*, 2012, 36(4):503-514.
- [ 9 ] Gambin A, Charzyńska A, Ellert-Miklaszewska A, et al. Computational models of JAK1/2-STAT1 signaling. *JAK-STAT*, 2013, 2(3):e24672.
- [ 10 ] Vesely MD, Schreiber RD. Cancer immunoediting: antigens, mechanisms and implications to cancer immunotherapy. *Ann N Y Acad Sci*, 2013, 1284:1-5
- [ 11 ] Messina NL, Banks KM, Vidacs E, et al. Modulation of antitumour immune responses by intratumoural Stat1 expression. *Immunol Cell Biol*, 2013, 91(9):556-567.
- [ 12 ] Adach-Kilon A, Swiatek-Machado K, Kaminska B, et al. Signal transducer and activator of transcription 1 (Stat1) maintains basal mRNA expression of pro-survival stat3-target genes in glioma C6 cells. *J Cell Biochem*, 2011, 112(12):3685.
- [ 13 ] Napione L, Strasly M, Meda C, et al. IL-12-dependent innate immunity arrests endothelial cells in G0-G1 phase by a p21 (Cip1/Waf1)-mediated mechanism. *Angiogenesis*, 2012, 15(4):713-725
- [ 14 ] Bello C, Vazquez-Blomquist D, Miranda J, et al. Regulation by IFN- $\alpha$ /IFN- $\gamma$  co-formulation (HerberPAG?) of genes involved in interferon-STAT-pathways and apoptosis in U87MG. *Curr Top Med Chem*, 2013, 14(3):351-358.
- [ 15 ] Zhang C, Han L, Zhang A, et al. Global changes of mRNA expression reveals an increased activity of the interferon-induced signal transducer and activator of transcription (STAT) pathway by repression of miR-221/222 in glioblastoma U251 cells. *Int J Oncol*, 2010, 36(6):1503-1512.
- [ 16 ] Thota B, Arimappamagan A, Kandavel T, et al. STAT-1 expression is regulated by IGFBP-3 in malignant glioma cells and is a strong predictor of poor survival in patients with glioblastoma. *J Neurosurg*, 2014, 121(2):374-383.
- [ 17 ] Yang CH, Wang Y, Sims M, et al. MiRNA203 suppresses the expression of protumorigenic STAT1 in glioblastoma to inhibit tumorigenesis. *Oncotarget*, 2016, 7(51):84017-84029.
- [ 18 ] Duarte CW, Willey CD, Zhi D, et al. Expression Signature of IFN/STAT1 Signaling Genes Predicts Poor Survival Outcome in Glioblastoma Multiforme in a Subtype-Specific Manner. *Plos One*, 2012, 7(1):e29653.
- [ 19 ] Arzt L, Kothmaier H, Halbwedl I, et al. Signal transducer and activator of transcription 1 (STAT1) acts like an oncogene in malignant pleural mesothelioma. *Virchows Arch*, 2014, 465(1):79.
- [ 20 ] Fan XM, Zhang SB, Liu CT, et al. STAT1 antisense oligonucleotides inhibit secretion of TNF- $\alpha$ , IL-8 and NO in alveolar macrophages of rats suffering from interstitial pulmonary fibrosis. *Xi Bao Yu Fen Zi Mian Yi Xue Za Zhi*, 2006, 22(4):487-489
- [ 21 ] Yan W, Hua G, Feng S, et al. The effect of miR-146a on STAT1 expression and apoptosis in acute lymphoblastic leukemia Jurkat cells. *Oncol Lett*, 2017, 13(1):151-154.
- [ 22 ] Xu X, Wen H, Hu Y, et al. STAT1-caspase 3 pathway in the apoptotic process associated with steroid-induced necrosis of the femoral head. *J Mol Histol*, 2014, 45(4):473-485.
- [ 23 ] Waibel M, Solomon VS, Knight DA, et al. Combined targeting of JAK2 and Bcl-2/Bcl-xL to cure mutant JAK2-driven malignancies and overcome acquired resistance to JAK2 inhibitors. *Cell Rep*, 2013, 5(4):1047-1059.
- [ 24 ] Yuan J, Tu Y, Mao X, et al. Increased expression of FAT10 is correlated with progression and prognosis of human glioma. *Pathol Oncol Res*, 2012, 18(4):833-839.
- [ 25 ] Coultas DB, Zumwalt RE, Black WC, et al. The epidemiology of interstitial lung diseases. *Am J Respir Crit Care Med*, 2012, 150(4):967.
- [ 26 ] Sun Y, Yang S, Sun N, et al. Differential expression of STAT1 and p21 proteins predicts pancreatic cancer progression and prognosis. *Pancreas*, 2014, 43(4):619-623
- [ 27 ] Ji L, Piao Y, Henry V, et al. Interferon-regulatory factor-1 (IRF1) regulates bevacizumab induced autophagy. *Oncotarget*, 2015, 6(31):31479-31492.