

STAT протеини у настанку и лечењу малигнитета

Гордана Коњевић

Институт за онкологију и радиологију Србије, Београд, Србија

КРАТАК САДРЖАЈ

Протеини преносиоци сигнала и активатори транскрипције (енгл. *signal transducers and activators of transcription – STAT*) су седмочлана фамилија цитоплазматских транскрипционих фактора који учествују у преносу сигнала иницираних цитокинима, хормонима и факторима раста. Услед овако разнородних функција, *STAT* протеини контролишу најзначајније ћелијске процесе, укључујући пролиферацију, диференцијацију и преживљавање. Велики број цитокина у различитим врстама ћелија активира *STAT1*, *STAT3* и *STAT5* и преко њих регулише процесе пролиферације, диференцијације и преживљавања. За разлику од њих, *STAT4* и *STAT6* имају специфичније дејство и укључени су у диференцијацију Т-помажућих ћелија. С обзиром на критичну улогу *STAT* протеина, многе студије су потврдиле да су *STAT3* и *STAT5* онкогени који могу допринети трансформацији ћелија повећавањем пролиферације и успоравањем апоптозе. С друге стране, *STAT1* је тумор-супресорски ген и губитак његове активности доприноси малигној трансформацији. Првобитно су *STAT* протеини детаљно изучавани у леукемијама, али је касније показана њихова улога и у настанку различитих солидних тумора. Протеини *STAT1*, *STAT3* и *STAT5* се такође могу сматрати молекуларним показатељима за рано откривање одређених врста тумора, прогностичким фактором за одређивање агресивности тумора и предикторима одговора на различите врсте терапије. Подаци о дисрегулацији сигналне путање *STAT* протеина могу послужити као основа за нове циљне молекуларне терапијске стратегије с великим потенцијалом у лечењу солидних тумора и леукемија.

Кључне речи: *STAT*; онкогени; канцерогенеза; тумори код људи; циљна молекуларна антитуморска терапија

УВОД

Први протеини преносиоци сигнала и активатори транскрипције (енгл. *signal transducers and activators of transcription – STAT*) идентификовани су пре десетак година захваљујући својој улози у сигналној путањи која се покреће у одговору на интерфероне [1]. Отада је показано да велики број цитокина користи ову сигналну путању. Идентификовани су следећи *STAT* протеини: *STAT1α* и *STAT1β*, *STAT2*, *STAT3α* и *STAT3β*, *STAT4*, *STAT5A*, *STAT5B* и *STAT6*. Показана је улога појединачних *STAT* протеина у бројним биолошким процесима, укључујући критичну улогу у одговору на стрес и патогене микроорганизме. Сагледавање њихове значајне улоге у регулацији ћелијске пролиферације, диференцијације и преживљавања повећало је интересовање за изучавање њихове активности у малигној трансформацији и онкогенези [2]. У последњих неколико година добијени су нови подаци који потврђују њихов значај у патогенези бројних солидних тумора и леукемија [3, 4].

Интеракција цитокина и њихових специфичних рецептора непосредно активира слободне унутарћелијске неререцепторске ензиме, *Janus* киназе, а затим латентне *STAT* транскрипционе факторе, који преко сигналне путање *JAK/STAT* доводе до експресије бројних gena и регулишу важне ћелијске процесе (Схема 1). Велики број цитокина, фактора раста и хормона у различитим врстама ћелија активира *STAT1*, *STAT3* и *STAT5* и преко њих регулише опште процесе, као што су ћелијска пролиферација, диференцијација и преживљавање. *STAT* протеини попут *STAT4* и *STAT6* имају специфичније дејство и укључени су у диференцијацију Т-помажућих ћелија и одржавање еквилибри-

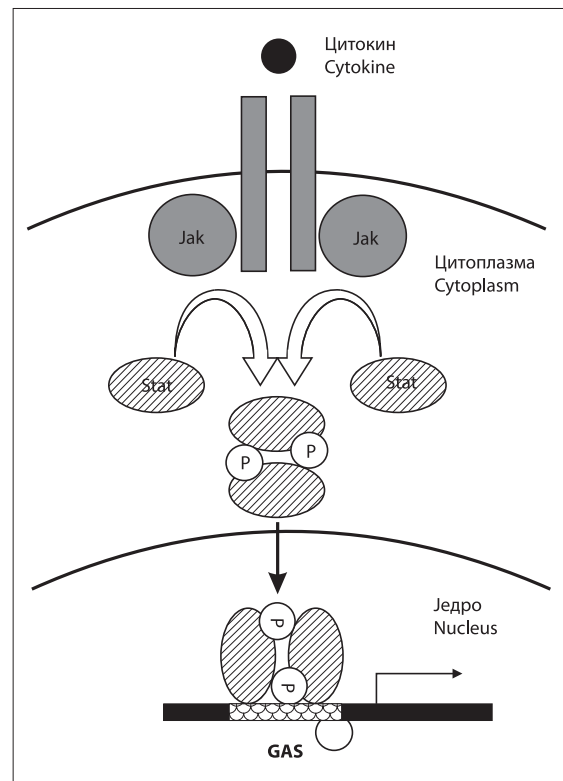


Схема 1. Сигнална путања *STAT/JAK*. Интеракција цитокина и њихових специфичних рецептора активира преко *Janus* киназа (*JAK*) *STAT* транскрипционе факторе, који доводе до експресије бројних gena и регулишу важне ћелијске процесе.
Scheme 1. *STAT/JAK* signaling pathway. Interaction of cytokines and their specific receptors activated by *Janus* kinases (*JAK*) *STAT* transcription factors inducing the expression of numerous genes and regulating important cellular processes.

JAK – *Janus* киназа; *STAT* – преносиоци сигнала и активатори транскрипције; *P* – фосфатна група; *GAS* – интерферон гама асоциране секвенце
JAK – *Janus* kinase; *STAT* – signal transducers and activators of transcription; *P* – phosphate group; *GAS* – interferon gamma-activated sequences

јума *Th1* и *Th2* имунског одговора [5]. Из тих разлога оштећења у молекулима *STAT* протеина доводе до тешких поремећаја у развоју и смрти фетуса. У том смислу је путања *JAK/STAT* важна у нормалном сазревању ћелија. У малигнитетима се често среће поремећај сигналне путање *JAK/STAT* у примарним туморима, али и у лимфоцитима периферне крви [6, 7], а *STAT3* је први идентификован као потенцијални онкоген [2].

Поред различитих фамилија цитокина које укључују интерфероне (интерфероне алфа, бета и гама), цитокине *gp130*, односно *IL-6*, *IL-12*, *IL-23*, цитокине γ C, односно *IL-2*, *IL-15* и *IL-21* [1], *STAT* протеине активирају и рецептори за факторе раста (фамилија тирозинских киназних рецептора, односно рецептор за епидермни фактор раста – *EGFR*, тромбоцитни фактор раста – *PDGF* и др.), као и слободни унутарћелијски ензими (тзв. нерецепторске тирозинске киназе), који укључују онкогене *src* и *bcr-abl* (Схема 2) [8].

РЕГУЛАЦИЈА ФУНКЦИЈЕ *STAT* ПРОТЕИНА

Добро је изучена негативна регулација сигналне путање *JAK/STAT* и показано је да је њихова функција под контролом цитоплазматских и једарних фосфатаза. Поред тога, две новооткривене групе инхибиторних протеина негативно регулишу њихову функцију. Група протеина која у једру инхибира активност молекула *STAT* (енгл. *protein inhibitors of activation of STATs – PIAS*) омета њихово везивање за ДНК, нарочито *STAT1*, или убрзава њихову протеазомску деградацију. Много је познатија група инхибитора која се назива „супресори цитокинских сигнала” (енгл. *suppressors of cytokine signaling – SOCS*) [9, 10]. Како *SOCS* припадају фамилији *STAT* циљних гена с негативним дејством на функцију *STAT* протеина, с њима стварају класичан механизам негативне повратне спреге [11]. Идентификовано је неколико чланова ове фамили-

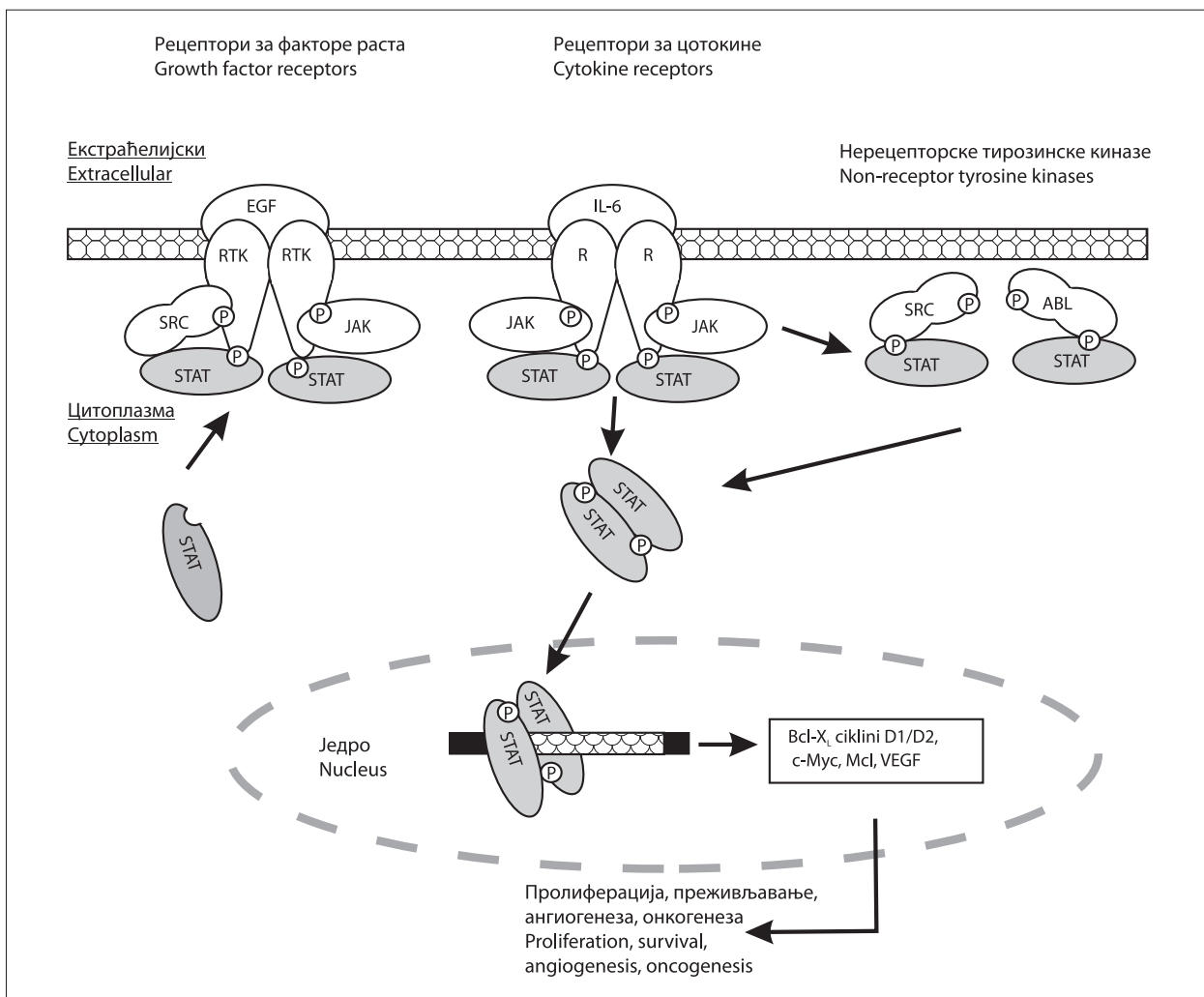


Схема 2. *STAT* протеине осим цитокина активирају и рецептори за факторе раста (фамилија тирозинских киназних рецептора, у које се убрајају рецептор за *EGFR* и тромбоцитни фактор раста – *PDGF-R*), као и слободни унутарћелијски ензими, тзв. нерецепторске тирозинске киназе, односно онкогени *src* и *bcr-abl*.

Scheme 2. *STAT* proteins, besides cytokines, are also activated by receptors for growth factors (family of tyrosine kinase receptors, receptors for *EGFR* and platelet-derived growth factor – *PDGFR*), as well as non-receptor bound, free intracellular enzymes, i.e. non-receptor tyrosine kinases, i.e. oncogenic *src* and *bcr-abl*.

EGF – епидермни фактор раста; *RTK* – рецепторска тирозинска киназа; *R* – рецептор за цитокине; *IL-6* – интерлеукин 6; *STAT* – преносиоци сигнала и активатори транскрипције; *P* – фосфатна група
EGF – epidermal growth factor; *RTK* – receptor tyrosine kinase; *R* – cytokine receptor; *IL-6* – interleukine-6; *STAT* – signal transducer and activator of transcription; *P* – phosphate group

је: *SOCS1*, 2, 3, 4, 5, 6 и 7. Ови регулаторни протеини индиректно негативно регулишу *STAT* протеине тако што инхибирају ензиме који их активирају, нарочито *Janus* киназе (*JAK1*, *JAK2*, *JAK3* и *Tyk2*), као и узводне рецепторе за факторе раста [9]. С обзиром на своју негативну регулаторну улогу, *SOCS* протеини су значајан унутарћелијски механизам за заустављање потенцијално штетних ефеката цитокина у имунским реакцијама [12]. Негативна регулација ових протеина настаје и протеинском модификацијом *STAT*, која се одвија било директном дефосфорилацијом или преко скраћених изоформи без *C*-терминалног дела, које су доминантно негативног дејства. Поред тога, мутације које повећавају функцију њихових активатора или смањују функцију инхибитора могу довести до хиперактивности *STAT* протеина и омогућити им да учествују у малигној трансформацији.

Исто тако, услед алтернативног искрајања *STAT* гена уместо активног *STATα* облика, синтетише се неактиван облик *STATβ*, који компетитивном инхибицијом, односно везивањем за ДНК без могућности транскрипције, онемогућава везивање *STATα* изоформе и транскрипцију циљних гена. И скраћене *STATγ* изоформе ових молекула, које настају протеолизом, компетитивно инхибирају транскрипцију посредованом активном α -формом.

STAT ПРОТЕИНИ У КАНЦЕРОГЕНЕЗИ

Поред своје основне улоге у остваривању дејства цитокина, недавно је показано да *STAT* протеини могу имати велику улогу у настанку тумора, те се сматрају потенцијалним онкогенима. Конститутивна активација *STAT* фамилије, нарочито чланова *STAT3* и *STAT5*, као и губитак *STAT1* сигнала, показана је у великој групи разнородних тумора (Табела 1) [3, 13]. Резултати откривају да *STAT* протеини регулишу бројне путање које су укључене у онкогенезу, као што су прогресија ћелијског циклуса, апоптоза, ангиогенеза, инвазивност тумора, метастазирање и избегавање имунског одговора (Табела 2). Из тих разлога *STAT* протеини постају значајни циљни молекули у новим терапијским приступима у онкологији, јер се директним или индиректним блокирањем ових молекула може утицати на заустављање малигног процеса [14].

Значајно је да се по општем начину деловања *STAT* протеини могу поделити у две групе, које се веома разликују. Група коју чине *STAT2*, *STAT4* и *STAT6* активира мали број цитокина и учествује у развоју Т-ћелија и ефекту интерферона, док се група коју чине *STAT1*, *STAT3* и *STAT5* активира у многим ткивима и врстама ћелија од стране великог броја цитокина и различитих хормона и фактора раста и преко њих се, поред имунских реакција, регулишу многи важни општи процеси, као што су ћелијска пролиферација, диференцијација и преживљавање у ембриогенези, а и током развоја дојке [15]. У том смислу, друга група *STAT* протеина значајна је у малигној трансформацији. Нови резултати показују да активан *STAT1* протеин има ту-

Табела 1. Различити активирани *STAT* протеини нађени у различитим солидним туморима и хематолошким малигнитетима
Table 1. The diversity of activated *STAT* proteins found in various solid and blood tumours

Тип тумора Tumour type		<i>STAT1</i>	<i>STAT3</i>	<i>STAT5</i>
Солидни тумори Solid tumours	Карцином дојке Breast cancer	+	+	+
	Тумори главе и врата Head and neck tumours	+	+	+
	Меланом Melanoma		+	
	Карцином плућа Lung cancer		+	+
	Карцином јајника Ovarian cancer		+	
	Карцином панкреаса Pancreatic cancer		+	
	Карцином простате Prostate cancer		+	+
Хематолошки малигнитети Blood tumours	Мултипли мијелом Multiple myeloma	+	+	
	<i>HTLV-1</i> зависна леукемија <i>HTLV-1</i> dependent leukaemia		+	+
	Акутна мијелоидна леукемија Acute myelogenous leukaemia	+	+	+
	Хронична мијелоидна леукемија Chronic myelogenous leukaemia			+
	<i>LGL</i> леукемија <i>LGL</i> leukaemia		+	
	Акутна лимфобластна леукемија Acute lymphoblastic leukaemia			+
Лимфоми Lymphomas	<i>EBV</i> -повезани и Буркитов лимфом <i>EBV</i> -related and Burkitt's lymphoma		+	
	Т-ћелијски лимфом коже Cutaneous T-cell lymphoma		+	
	Б-ћелијски неходжкински лимфом B-cell non-Hodgkin's lymphoma		+	
	Анапластични <i>LGL</i> лимфом Anaplastic <i>LGL</i> lymphoma		+	

+ = присуство активаног *STAT* протеина
+ = presence of activated *STAT* protein

Табела 2. Антионкогена и онкогена својства *STAT* протеина
Table 2. Antioncogenic and oncogenic characteristics of *STAT* proteins

Својства Characteristics	<i>STAT1</i>	<i>STAT3</i> , <i>STAT5</i>
Ћелијски циклус Cell cycle	↓ (↓ <i>c-myc</i>)	↑ (↑ <i>c-myc</i>)
Апоптоза Apoptosis	↑ (↑ <i>kaspaze/caspases</i>)	↓ (↑ <i>bcl-XL</i>)
Инвазивност Invasiveness	↓ (↓ <i>MMP-2</i> , <i>MMP-9</i>)	↑ (↑ <i>MMP-2</i> , <i>MMP-9</i>)
Ангиогенеза Angiogenesis	↓ (↓ <i>bFGF</i> , <i>MMP-2</i> , <i>MMP-9</i>)	↑ (↑ <i>VEGF</i>)
Имунске реакције Immune reactions	↑ (↑ <i>MCP-1</i>)	↓ (↓ <i>IL-6</i>)

c-myc – онкогени хомолог мијелоцитоматозе; *MMP-2* – матрикс металопротеиназа -2; *MMP-9* – матрикс металопротеиназа -9; *bFGF* – основни фактор раста фибробласта; *VEGF* – васкуларни ендотелни фактор раста; *MCP-1* – хемоатрактант моноцита-1; *IL-6* – интерлеукин 6

c-myc – myelocytomatosis oncogene homologue; *MMP-2* – matrix metalloproteinase -2; *MMP-9* – matrix metalloproteinase -9; *bFGF* – basic fibroblast growth factor; *VEGF* – vascular endothelial growth factor; *MCP-1* – monocyte chemoattractant protein-1; *IL-6* – interleukin-6

мор-супресорска својства, будући да смањује пролиферацију ћелија и повећава апоптозу, те је његова смањена активност повезана са бројним неоплазијама. С друге стране, за *STAT3* и *STAT5* је показано да су прото-онкогени, који активирају онкогене, *c-myc*, циклин *D* и антиапоптотски протеин *Bcl-X_L*, олакшавају пролазак кроз контролну тачку *G1/S* и тако, поред спречавања апоптозе, поспешују пролиферацију и трансформацију ћелија [11].

Недавно је показано да је *STAT3* често активан у хематолошким и малигнитетима епителног порекла. Конститутивна активација *STAT3* доводи до пролиферације туморских ћелија и спречава апоптозу, стварање бројних проинфламаторних цитокина и хемокина и доводи до лучења фактора који спречавају сазревање дендритичних ћелија (ДЂ). У том смислу *STAT3* спречава успостављање адаптивне антитуморске имуности. Поред поремећаја сигналне путање *JAK/STAT* у примарним туморима, сличан налаз се често јавља и у лимфоцитима периферне крви особа оболелих од малигнитета [3, 16].

За инвазивне туморе је познато да је неопходно да модулирају експресију гена на начин који омета активност урођене и стечене имуности у процесу имунског надзора [17, 18]. *STAT3*-позитивни тумори то постижу тако што спречавају стварање проинфламаторних цитокина, односно „сигнала за опасност” (енгл. *danger signals*), као и инхибицијом функционалног сазревања ДЂ. С обзиром на то да је *STAT3* од суштинског значаја током процеса зарастања рана у физиолошким реакцијама на оштећење ткива [19], а како раст тумора такође представља оштећење ткива, *STAT3* у туморском ткиву, услед дисрегулације, испољава нежељено дејство, које уместо зарастања доводи до даљег разарања ткива и изостанка имунског одговора.

ОНКОГЕНА СВОЈСТВА *STAT3* ПРОТЕИНА

STAT3 је онкоген који регулише механизме који омогућавају пролиферацију малигних ћелија [20]. Основна улога *STAT3* протеина је спречавање апоптозе, што се постиже повећањем експресије антиапоптотског молекула *bcl-2* или утицајем на прогресију ћелијског циклуса повећањем експресије *c-myc* и циклина *D1*, који потпомажу пролазак кроз контролну тачку *G1/S*. Ово је показано на туморским ћелијским линијама са делецијом *STAT3* гена (*STAT3^{-/-}*), у којима, услед неактивности *STAT3*, долази до апоптозе јер се повећава ниво каспаза, а смањује ниво *bcl-2*, док се пролиферација смањује услед смањења нивоа циклина *D* и *c-myc* онкогена. *STAT3* такође утиче на инвазивност ћелија тумора повећањем стварања ензима матрикс-металопротеиназа (*MMP-2* и *MMP-9*) [21]. С обзиром на то да до повећане активности *STAT* протеина може доћи и услед активности онкогена из фамилије рецепторских тирозинских киназа, новија изучавања *STAT3* у различитим малигнитетима указују на његову значајну повезаност с малигном трансформацијом, нарочито оном изазваном онкогеном *src*.

Нефедова (*Nefedova*) [23] је 2004. године објавила да фактори које стварају тумори, као што су *VEGF*, *M-CSF*, *GM-CSF*, *IL-10*, *IL-6* и др., доводе до активације *STAT3* протеина и следственог неправилног сазревања мијелоидних ћелија у туморима. Ове незреле мијелоидне ћелије, којима припадају и ДЂ, најзначајније антиген-презентујуће ћелије у имунским реакцијама, делују изразито имуносупресивно и сматрају се основним узроком имуносупресије у туморима, јер омогућавају избегавање имунског одговора од стране тумора. Како инхибиција *STAT3* протеина омогућава сазревање ДЂ и одвијање антитуморских имунских реакција [11], сматра се да је поремећај у сигналној путањи *JAK/STAT* одговоран за ометање сазревања ДЂ у малигнитетима.

ОНКОГЕНА СВОЈСТВА *STAT5* ПРОТЕИНА

STAT5 је првенствено идентификован као транскрипциони фактор који индукује пролактин [23]. Активан је у хематолошким малигнитетима које испољавају онкоген *bcr-abl* и мутирани рецептор за тромбоцитни фактор раста (*PDGF-R*) [24]. Мутације *STAT5* гена повезане су с малигном трансформацијом [11]. Његова хиперактивност потпомаже развој тумора, јер преко повећане активности циклина *D* доводи до дисрегулације ћелијског циклуса, док повећањем *bcl-X_L* доводи до губитка апоптозе, а повећава и инвазивне механизме [13].

ТУМОР-СУПРЕСОРСКА СВОЈСТВА *STAT1* ПРОТЕИНА

STAT1 је антионкоген, тј. тумор-супресорски протеин који зауставља пролиферацију и индукује апоптозу [25]. Његова дисфункција доводи до поремећаја у имунском надзору, до губитка одговора на *IFN-γ* и оштећења у функцији *NK*-ћелија [26, 27]. Недостатак *STAT1* доводи до метастазирања тумора и ангиогенезе, јер се повећава стварање проангиогенезних молекула, као што су базични фибробластни фактор раста (*bFGF*), *MMP-2* и *MMP-9* [21]. Недавно је показано да је механизам који *STAT1* користи у заустављању пролиферације и индукцији апоптозе негативна регулација протеина *Mdm*, што омогућава повећање нивоа *p53*, с обзиром на то да је *Mdm* инхибитор *p53*, који директним везивањем модулира његово дејство [28]. До изостанка тумор-супресорске функције *STAT1* може доћи на неколико начина: алтернативним искрајањем гена, ковалентном модификацијом овог протеина, интеракцијом с протеинима који имају негативну регулаторну улогу или протеолитичком модификацијом која је посредована протеинским фосфатазама. Протеолитички процеси доводе до скраћених, инактивних изоформи *STATγ*, које ометају физиолошку функцију *STAT1α* и, самим тим, онемогућавају имуномодулаторно дејство цитокина, а учествују и у патогенези хематолошких малигнитета.

ПОРЕМЕЋАЈ ФУНКЦИЈЕ STAT ПРОТЕИНА У ПОЈЕДИНИМ МАЛИГНИТЕТИМА

У карциному дојке показана је хиперактивност *STAT1*, *STAT3* и *STAT5*. С обзиром на то да је *STAT3* преко *EGFR* укључен у физиолошки развој дојке, на хелијским линијама карцинома дојке и примарним туморима уочено је да мутације овог рецептора, али и прото-онкогена *src*, доводе до хиперактивности и онкогеног својства *STAT3* [29]. За разлику од блокирања *STAT3*, блокирање активног *STAT1*, као последица мутације *EGFR* у овом малигнитету, није открило повезаност с пролиферацијом [30].

Поред ученог поремећаја *STAT* протеина у туморима, у последње време се изучава и њихов статус у лимфоцитима периферне крви. Резултати испитивања *STAT* протеина у лимфоцитима периферне крви болесника с карциномом дојке указују на конститутивну мању експресију *STAT1*, *STAT3* и *STAT5* зависну од клиничког стадијума и слабију способност индукције ових протеина *Th1* цитокинима [3, 4]. Конститутивно активан *STAT3* смањује и стварање цитокина неопходних за сазревање ДТ, што омогућава избегавање имунског одговора од стране тумора, те на тај начин поспешује његов раст. Из ових разлога процена одређених *STAT* протеина је значајна у предвиђању могућности имуномодулаторног и антитуморског дејства имунотерапије цитокинима код болесника с малигним обољењима.

У туморима главе и врата мутације *EGFR* такође доводе до хиперактивности *STAT3* и укључују га у малигну трансформацију [30]. Исто тако, у немикроцелуларном карциному плућа повећано стварање *TGF α* активира *EGFR*, који затим низводно активира *STAT3* и укључује га у патогенезу овог малигнитета. Хиперактивни онкоген, *src* киназа, у карциному јајника и простате такође активира *STAT3*, који се укључује у настанак ових малигнитета [31]. Значајна је и чињеница да је на туморским линијама карцинома простате показана улога *BRCA1* гена у успостављању хиперактивности *STAT3* [32]. На туморској хелијској линији *B16* мишијег меланома откривен је хиперактивни *STAT3* протеин [33].

STAT хиперактивност је описана и у различитим леукемијама. У акутној мијелоидној леукемији (АМЛ), која се одликује незрелим мијелоидним хелијама у костној сржи, забележена је хиперактивност *STAT3* и *STAT5*. Ово може бити последица превеликог стварања хематопоетских цитокина од стране малигних хелија [34]. Повећан ниво *STAT3 β* изоформе у леукемијским властима у костној сржи установљен је код болесника с овом леукемијом, који имају краће преживљавање [35]. Сматра се да се *STAT5* у АМЛ активира као последица мутације гена *flt3*. Значајан је податак да хиперактиван *STAT3* доводи до повећаног стварања васкуларног ендотелног фактора раста (*VEGF*) у костној сржи акутних и хроничних леукемија, што је у сагласности с уобичајеним налазом повећаног броја крвних судова у костној сржи у овим малигнитетима [36]. Поједини облици акутне промијелоцитне

леукемије уместо уобичајеног патолошког фузионог протеина *PML-RAR α* могу имати и фузиони протеин *RAR α -STAT5b*, који спречава мијелоидну диференцијацију [37]. У хроничној мијелоидној леукемији типична појава филаделфијског хромозома, односно хиперактивног онкогена *bcr-abl*, доводи до активације сигналне путање *JAK/STAT*, чиме поспешује пролиферацију малигног клона [38]. Т-хелијски лимфоми и леукемије који настају у склопу *HIV* инфекције, као и Хочкинови (*Hodgkin*) лимфоми, испољавају активан *STAT3*.

На хелијским линијама других хематолошких малигнитета, као што је Т-хелијски лимфом коже, показано је да већа количина нормалног *STAT5* и конститутивно хиперактиван *STAT3* делују онкогено. У Сезаријевом (*Sézary*) синдрому, индолентном облику овог обољења, *STAT3* протеин је хиперактиван, док слаба активност *STAT4* протеина онемогућава ефикасан имунски одговор на тумор. Значајно је да је у овом обољењу хиперактиван инхибитор *STAT* протеина *SOCS*, што поменути синдром чини неосетљивим на лечење интерфероном, будући да *SOCS* инхибирају *STAT1* и *STAT3*.

До хиперактивности *STAT3* протеина долази услед његове хиперфосфорилације од стране *JAK3*, тако да примена инхибитора *JAK* ензима, тирфостина (*AG490*), инхибира *JAK* и тако смањује експресију рецептора за *IL-2* (*CD25*) на Т-хелијама. Како је *IL-2* најзначајнији цитокин за Т-хелијску пролиферацију, у овом малигнитету овакав приступ делује антипролиферативно [39, 40].

STAT ПРОТЕИНИ КАО ТЕРАПИЈСКИ ЦИЉЕВИ

Како се у малигнитетима поред стандардне хемиотерапије, зрачне и хируршке терапије данас све више уводе нови видови лечења који се заснивају на молекуларном профилу тумора, у лечење различитих тумора се уводе и агенси који на директан или индиректан начин спречавају активност *STAT3* и *STAT5* протеина. Измене гена експерименталних животиња довеле су до сојева који не испољавају поједине *STAT* протеине. Показано је да је за онкологију најрелевантнији *STAT3* негативан фенотип и овај модел се користи за утврђивање његових онкогених одлика. Поред истраживања на експерименталним животињама, бројни онкогени ефекти су откривени у експериментима *in vitro* коришћењем различитих туморских линија, као и на свежим примарним туморима. Многе студије су показале да је могуће на неколико директних начина блокирати *STAT* протеине. Један од њих је путем смањења експресије *STAT* гена преко антисенс олигонуклеотида (ДНК и РНК) или блокирањем самих сигналних протеина путем малих инхибиторних молекула и пептидних аналога (миметика) [41].

С друге стране, хиперактивни *STAT* молекули могу се блокирати и индиректно инхибицијом узводних, било рецепторских или слободних, нерцепторских, тирозинских киназа, које фосфорилишу *STAT* протеине и доводе до успостављања хиперактивног стања ових молекула (Схема 3). У том смислу, поред инхибитора *JAK* ензима, препарата тирфостина *AG490*, користе се инхибитори онкогена *src* – препарат гефитиниб, као

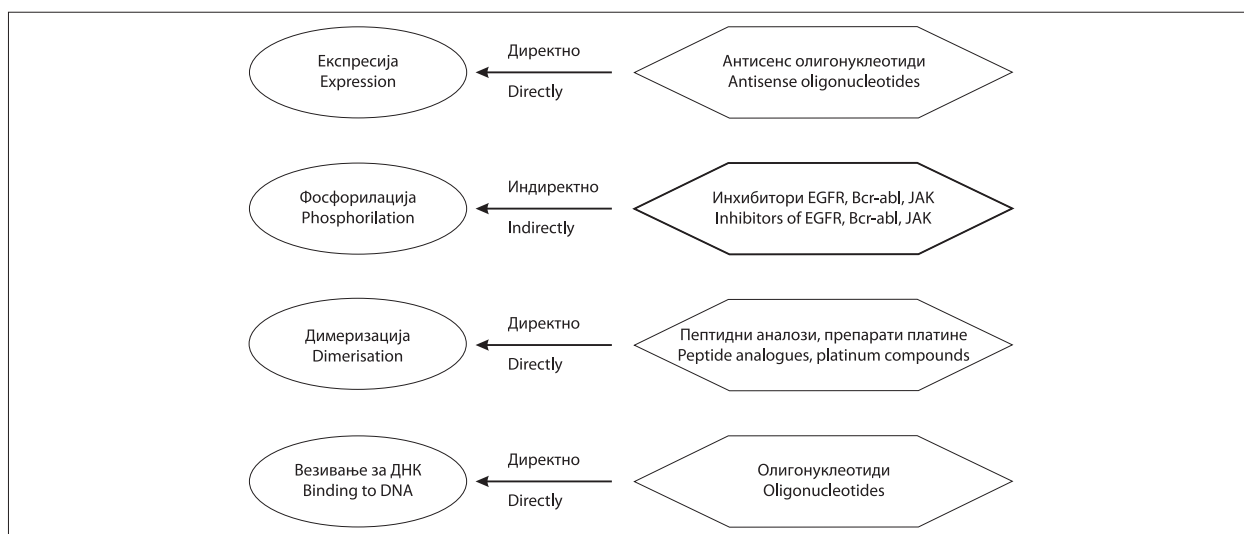


Схема 3. Приступу у савременој циљној молекуларној терапији ометају експресију, фосфорилацију, димеризацију или везивање *STAT* протеина за ДНК и могу смањити њихову активност или је довести на скоро нормалне вредности.

Scheme 3. Principles of the new targeted molecular therapy that disrupt the expression, phosphorylation, dimerisation or binding of *STATs* with DNA may lead to a decrease in their activity and even lower it to normal values.

EGFR – рецептор за епидермни фактор раста; *JAK* – *Janus* киназа; *Bcr-abl* – регион са прекидима фузионисан са *Abl* геном
EGFR – epidermal growth factor receptor; *JAK* – Janus kinase; *Bcr-abl* – breakpoint cluster region fusion with *Abl* gene

инхибитор ензимске активности рецептора за *EGFR*, и препарат иматиниб, као инхибитор онкогена *bcr-abl*, типичног за хроничну мијелоидну леукемију [14].

Друге индиректне методе укључују модулацију активности *STAT* молекула њиховим природним негативним регулаторима. Активност ових сигналних молекула смањује појачана активност протеаза (посебно у случају хиперактивности *STAT5*), повећана количина цитоплазматских и једарних инхибиторних протеина (*SOCS*, *PIAS*) или појачана активност фосфатаза, које их дефосфорилишу [42]. Примена статина доводи до инхибиције ензима хистон-деацетилазе (*HDAC*) и води малигне ћелије у апоптозу, а само везивање статина за *STAT* протеине доводи до њихове ковалентне модификације и убрзава деградацију ових сигналних протеина [43].

Различити приступи у контексту савремене циљне молекуларне терапије тумора смањењем експресије, фосфорилације, димеризације или везивања *STAT* протеина за ДНК могу смањити активност ових важних сигналних молекула или је довести на скоро нормалне вредности. С обзиром на то да инхибиција *STAT3* и *STAT5* зауставља раст и доводи до апоптозе туморских ћелија, овакав приступ може бити значајан и у хемопревенцији тумора. Ова врста савремене циљне молекуларне терапије захтева даље испитивање у клиничким студијама.

ЗАКЉУЧАК

Будући да *STAT* молекули преносе велики и сложен спектар физиолошких сигнала и регулишу основне ћелијске функције, укључујући пролиферацију, диференцијацију и програмирану ћелијску смрт, а како је показано да су ови процеси поремећени у малигнитетима, не изненађују чести поремећаји у сигналној пу-

тањи *STAT* у овим обољењима. У последњих неколико година дошло је до великог напретка у разумевању молекуларних механизма који доводе до дисрегулације *STAT* протеина у различитим малигнитетима. Данас је са сигурношћу утврђена критична улога конститутивно активних *STAT3* и *STAT5* молекула у настанку тумора. Поред тога, *STAT1*, *STAT3* и *STAT5* се могу сматрати молекуларним показатељима за рано откривање одређених типова тумора и прогностичким факторима за одређивање агресивности тумора и одговора на различите врсте лечења.

Подаци који повезују ове молекуле с настанком тумора дају повода за коришћење *STAT* протеина као циљних молекула у лечењу или хемопревенцији малигнитета. Инхибиција онкогених *STAT* протеина напада тумор с више страна и укључује смањење пролиферације, преживљавања, ангиогенезе и избегавања имунског одговора. Блокирање конститутивно активних *STAT* протеина у туморима омогућава уништавање туморских ћелија с најмањим могућим ефектима на здраве ћелије. Значајно је да овај вид молекуларне терапије, која инхибира хиперактивне *STAT* протеине, може повећати одговор на хемотерапију или зрачну терапију. Овакве стратегије лечења, које би се заснивале на блокирању *STAT* протеина, имају велики потенцијал у лечењу солидних тумора и леукемија. Ефикасност терапије *STAT* инхибиторима показале клиничке студије у којима ће се примењивати одговарајући препарати који већ постоје или који ће се тек синтетисати.

НАПОМЕНА

Овај рад је урађен у оквиру пројекта 145056 Министарства за науку и заштиту животне средине Републике Србије.

ЛИТЕРАТУРА

- Darnell JE Jr. STATs and gene regulation. *Science*. 1997;277(5332):1630-5.
- Bowman T, Garcia R, Turkson J, Jove R. STATs in oncogenesis. *Oncogene*. 2000;19(21):2474-88.
- Konjević G, Jović V, Jurisić V, Radulović S, Jelić S, Spuzić I. IL-2-mediated augmentation of NK-cell activity and activation antigen expression on NK- and T-cell subsets in patients with metastatic melanoma treated with interferon-alpha and DTIC. *Clin Exp Metastasis*. 2003;20(7):647-55.
- Konjevic G, Srdic T, Stankovic S, Jelic S, Inic M. Constitutive and clinical stage-dependent down regulation of STAT 1, 3, 4 and 5 expression and induction by Th1 cytokines in breast cancer patients. *Proceedings in Abstract book: AACR Special Conference in Cancer Research, Molecular Diagnostics in Cancer Therapeutic Development: Maximizing Opportunities for Individualized Treatment*, Chicago 2006; abstract No. A31.
- Kaplan MH, Grusby MJ. Regulation of T helper cell differentiation by STAT molecules. *J Leukoc Biol*. 1998;64(1):2-5.
- Konjević G. Uticaj poremećaja STAT signalnih molekula na imunomodulaciju u malignitetima. *Proceedings in Abstract book: V Naučni sastanak Udruženja alergologa i kliničkih imunologa Srbije, Beograd, 2007*; abstrakt. No. IR-P6.
- Konjević G, Spuzić I. The possibilities of modulation of NK cell activity. *Glas SANU*. 2002;47:89-101.
- Quesnelle KM, Boehm AL, Grandis JR. STAT-mediated EGFR signaling in cancer. *J Cell Biochem*. 2007;102(2):311-9.
- Cooney RN. Suppressors of cytokine signaling (SOCS): inhibitors of the JAK/STAT pathway. *Shock*. 2002;17(2):83-90.
- Kile BT, Nicola NA, Alexander WS. Negative regulators of cytokine signaling. *Int J Hematol*. 2001;73:292-8.
- Kisseleva T, Bhattacharya S, Braunstein J, Schindler CW. Signaling through the JAK/STAT pathway, recent advances and future challenges. *Gene*. 2002;285(1-2):1-24.
- Nicola NA, Greenhalgh CJ. The suppressors of cytokine signaling (SOCS) proteins: important feedback inhibitors of cytokine action. *Exp Hematol*. 2000;28(10):1105-12.
- Calò V, Migliavacca M, Bazan V, Macaluso M, Buscemi M, Gebbia N, et al. STAT proteins: from normal control of cellular events to tumorigenesis. *J Cell Physiol*. 2003;197(2):157-68.
- Haura EB, Turkson J, Jove R. Mechanisms of disease: Insights into the emerging role of signal transducers and activators of transcription in cancer. *Nat Clin Pract Oncol*. 2005;2(6):315-24.
- Levy DE, Darnell JE Jr. STATs: Transcriptional control and biological impact. *Nat Rev*. 2002;3:651-62.
- Jurisić V, Spuzić I, Konjević G. A comparison of the NK cell cytotoxicity with effects of TNF-alpha against K-562 cells, determined by LDH release assay. *Cancer Lett*. 1999;138(1-2):67-72.
- Dunn GP, Bruce AT, Ikeda H, Old LJ, Schreiber RD. Cancer immunoediting: from immunosurveillance to tumor escape. *Nat Immunol*. 2002;3(11):991-8.
- Konjević G, Jović V, Vuletić A, Radulović S, Jelić S, Spuzić I. CD69 on CD56+ NK cells and response to chemoimmunotherapy in metastatic melanoma. *Eur J Clin Invest*. 2007;37(11):887-96.
- Sano S, Itami S, Takeda K, Tarutani M, Yamaguchi Y, Miura H, et al. Keratinocyte-specific ablation of Stat3 exhibits impaired skin remodeling, but does not affect skin morphogenesis. *EMBO J*. 1999;18:4657-68.
- Wang T, Niu G, Kortylewski M, Burdelya L, Shain K, Zhang S, et al. Regulation of the innate and adaptive immune responses by Stat-3 signaling in tumor cells. *Nat Med*. 2004;10(1):48-54.
- Konjević G, Stanković S, Srdić T, Inić M. The association of STAT1 and STAT3 in Th1 cytokine/induced production of MMP-2 and MMP-9 by PBL of breast cancer patients. *Proceedings in Abstract book: AACR Special Conference in Cancer Research, Advances in Proteomics in Cancer Research, Amelia Island, 2006*; abstract No. 55.
- Sironi JJ, Ouchi T. STAT1-induced apoptosis is mediated by caspases 2, 3, and 7. *J Biol Chem*. 2004;279(6):4066-74.
- Nefedova Y, Huang M, Kusmartsev S, Bhattacharya R, Cheng P, Salup R, et al. Hyperactivation of STAT3 is involved in abnormal differentiation of dendritic cells in cancer. *J Immunol*. 2004;172(1):464-74.
- Takeda K, Akira S. STAT family of transcription factors in cytokine-mediated biological responses. *Cytokine Growth Factor Rev*. 2000;11:199-207.
- Lin TS, Mahajan S, Frank DA. Stat signaling in the pathogenesis and treatment of leukemias. *Oncogene*. 2000;19:2496-504.
- Kaplan DH, Shankaran V, Dighe AS, Stockert E, Aguet M, Old LJ, et al. Demonstration of an interferon gamma-dependent tumor surveillance system in immunocompetent mice. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1998;95(13):7556-61.
- Konjevic G, Schlesinger B, Cheng L, Olsen KJ, Podack ER, Spuzic I. Analysis of perforin expression in human peripheral blood lymphocytes, CD56+ natural killer cell subsets and its induction by interleukin-2. *Immunol Invest*. 1995;24(3):499-507.
- Liang S, Wei H, Sun R, Tian Z. IFNalpha regulates NK cell cytotoxicity through STAT1 pathway. *Cytokine*. 2003;23(6):190-9.
- Townsend PA, Scarabelli TM, Davidson SM, Knight RA, Latchman DS, Stephanou A. STAT-1 interacts with p53 to enhance DNA damage-induced apoptosis. *J Biol Chem*. 2004;279(7):5811-20.
- Garcia R, Yu CL, Hudnall A, Catlett R, Nelson KL, Smithgall T, et al. Constitutive activation of STAT3 in fibroblasts transformed by diverse oncoproteins and in breast carcinoma cells. *Cell Growth Differ*. 1997;8(12):1267-76.
- Grandis JR, Drenning SD, Chakraborty A, Zhou MY, Zeng Q, Pitt AS, et al. Requirement of Stat3 but not Stat1 activation for epidermal growth factor receptor-mediated cell growth in vitro. *J Clin Invest*. 1998;102(7):1385-92.
- Reddy MVR, Chaturvedi P, Reddy EP. Src kinase mediated activation of STAT3 plays an essential role in the proliferation and oncogenicity of human breast, prostate and ovarian carcinomas. *Proceeding in Abstract book: Proc Am Assoc Cancer Res 1999*; abstract No. 376.
- Gao B, Shen X, Kunos G, Meng Q, Goldberg ID, Rosen EM, et al. Constitutive activation of JAK-STAT3 signaling by BRCA1 in human prostate cancer cells. *FEBS Lett*. 2001;488:179-84.
- Niu G, Bowman T, Huang M, Shivers S, Reintgen D, Daud A, et al. Roles of activated Src and Stat3 signaling in melanoma tumor cell growth. *Oncogene*. 2002;21(46):7001-10.
- Lowenberg B, Touw IP. Hematopoietic growth factors and their receptors in acute leukemia. *Blood*. 1993;81:281-92.
- Xia Z, Sait SN, Baer MR, Barcos M, Donohue KA, Lawrence D, et al. Truncated STAT proteins are prevalent at relapse of acute myeloid leukemia. *Leuk Res*. 2001;25:473-82.
- Niu G, Wright KL, Huang M, Song L, Haura E, Turkson J, et al. Constitutive Stat3 activity up-regulates VEGF expression and tumor angiogenesis. *Oncogene*. 2002;21:2000-8.
- Maurer AB, Wichmann C, Gross A, Kunkel H, Heinzel T, Ruthardt M, et al. The STAT5-RARα fusion protein represses transcription and differentiation through interaction with a corepressor complex. *Blood*. 2002;99(8):2647-52.
- Faderl S, Talpaz M, Estrov Z, O'Brien S, Kurzrock R, Kantarjian HM. The biology of chronic myeloid leukemia. *N Engl J Med*. 1999;341(3):164-72.
- Mitchell TJ, John S. Signal transducer and activator of transcription (STAT) signaling and T-cell lymphomas. *Immunol*. 2005;114(3):301-12.
- Turkson J. STAT proteins as novel targets for cancer drug discovery. *Expert Opin Ther Targets*. 2004;8(5):409-22.
- Hendry L, John S. Regulation of STAT signalling by proteolytic processing. *Eur J Biochem*. 2004;271(23-24):4613-20.
- Chan KK, Oza AM, Siu LL. The statins as anticancer agents. *Clin Cancer Res*. 2003;9(1):10-9.

STAT Proteins in Cancerogenesis and Therapy of Malignancies

Gordana Konjević

Institute of Oncology and Radiology of Serbia, Belgrade, Serbia

SUMMARY

Signal transducers and activators of transcription (STAT) proteins are a 7-member family of cytoplasmic transcription factors that participate in signal transduction by cytokines, hormones, and growth factors. STAT proteins control the most important cellular processes, including survival, proliferation and differentiation. A great number of cytokines and other factors in different cell types activate STAT1, STAT3 and STAT5 and in this manner regulate processes such as cellular proliferation, differentiation and survival. STATs such as STAT4 and STAT6 have a more specific effect and are engaged in the differentiation of T helper cell populations. Given the critical roles of STAT proteins it has been established in many studies that STAT3 and STAT5 are oncogenes that can contribute to cellular transformation by increasing proliferation and slowing-down

apoptosis. On the other hand, STAT1 is a tumour suppressor gene and its inactivation contributes to malignant transformation. Initially STAT proteins were extensively studied in leukaemias, but later their role in the development of different solid tumours has been also shown. Aside from their role in the development of tumours, STAT1, STAT3 and STAT5 can be considered as molecular markers for early detection of certain types of tumours, as well as prognostic factors in the determination of tumour aggressiveness and predictors of response to various types of therapy. Evidence of the deregulation of STAT signalling pathway can serve as a basis for designing novel targeted molecular therapeutic strategies that carry a great potential in the therapy of solid tumours and leukaemias.

Keywords: STAT; oncogenes; cancerogenesis; human tumours; targeted molecular cancer therapy