

· 临床研究 ·

STAT3 在食管上皮内瘤变及食管癌组织中的表达及其意义*

刘惠民¹, 郭梅艳², 王彦华¹, 王 蕾¹, 赵琰龙², 韩起廷¹, 瞿 峰², 王智红³, 王秀清²

(1. 河北工程大学医学院病理教研室, 河北邯郸 056002; 2. 河北工程大学附属医院乳腺外科, 河北邯郸 056002; 3. 河北省邯郸市中心血站采血科 056002)

摘要:目的 探讨 STAT3 mRNA 及 STAT3 蛋白在食管上皮内瘤变演变过程中的作用。方法 选取食管癌高发区的食管上皮内瘤变病例 150 例(I、II、III 级各 50 例)及食管癌 100 例进行研究, 将其中 60 例接受食管癌切除术患者的食管上、下残端的正常黏膜组织作为对照。采用原位杂交技术和免疫组织化学法检测正常食管黏膜、食管上皮内瘤变及食管癌组织中 STAT3 在 mRNA 及蛋白水平的表达情况。结果 STAT3 mRNA 在正常食管黏膜、食管上皮内瘤变及食管癌组织中的阳性表达率分别为 3.33%、53.33% 及 89.00%; STAT3 蛋白在上述组织中的阳性表达率分别为 6.67%、60.67% 及 94.00%。不同程度的食管上皮内瘤变病例中, 病变组织中 STAT3 mRNA 及 STAT3 蛋白的表达随食管上皮内瘤变病变程度的加重而增加。STAT3 在 mRNA 和蛋白水平的表达存在一致性($r=0.768, P<0.05$)。结论 STAT3 在食管上皮内瘤变及食管癌组织中高表达, 它可能在食管上皮内瘤变的演变过程中发挥重要作用。

关键词:食管肿瘤; 原位杂交; 免疫组织化学; 食管上皮内瘤变; 信号转导子和转录激活因子

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2012.07.008

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2012)07-0649-02

Expression of STAT3 in tissue of esophageal intraepithelial neoplasia and esophageal neoplasm and its significance*

Liu Huimin¹, Guo Meiyang², Wang Yanhua¹, Wang Lei¹, Zhao Yanlong², Han Qiting¹,
Qu Feng², Wang Zhihong³, Wang Xiuqing²

(1. Department of Pathology, Medical College of Hebei University of Engineering, Handan, Hebei 056002, China;

2. Department of Breast Surgery, Affiliated Hospital of Hebei University of Engineering, Handan, Hebei

056002, China; 3. Department of Blood Collection, Handan Central Blood Station, Handan, Hebei 056002, China)

Abstract: Objective To explore the role of STAT3 mRNA and STAT3 protein in the evolution of esophageal intraepithelial neoplasia. Methods 150 cases of esophageal intraepithelial neoplasia(grade I, II and III with 50 cases in each) and 100 cases of esophageal neoplasm in area with high incidence of esophageal neoplasia were selected. The normal mucosal tissue in upper and lower esophageal stump of 60 patients among them who had undergone esophageal carcinoma resection served as control. In situ hybridization and immunohistochemistry were employed to detect STAT3 expression at mRNA and protein levels in tissue of normal esophageal mucosa, esophageal intraepithelial neoplasia and esophageal neoplasm. Results The positive expression rates of STAT3 mRNA in tissue of normal esophageal mucosa, esophageal intraepithelial neoplasia and esophageal neoplasm were 3.33%, 53.33% and 89.00%, respectively, and those of STAT3 protein in tissue above were 6.67%, 60.67% and 94.00%, respectively. In different degrees of esophageal intraepithelial neoplasia cases, expressions of STAT3 mRNA and STAT3 protein in pathological tissue enhanced with severity of esophageal intraepithelial neoplasia increasing. There was consistency in STAT3 expression at mRNA and protein levels($r=0.768, P<0.05$). Conclusion Highly expressed STAT3 in tissue of esophageal intraepithelial neoplasia and esophageal neoplasm probably plays important roles in evolution of esophageal intraepithelial neoplasia.

Key words: esophageal neoplasms; in situ hybridization; immunohistochemistry; esophageal intraepithelial neoplasia; signal transducers and activators of transcription

癌变是细胞分化异常与增殖过度的结果, 信号转导通路的改变在这一过程中发挥重要作用。STAT3 是信号转导子和转录激活因子(signal transducers and activators of transcription, STAT)家族的重要成员, 参与调节细胞的增殖、分化与凋亡, 介导细胞的恶性转化, 被确认为癌基因^[1]。目前, 国内、外学者就 STAT3 在肿瘤细胞中的表达进行了相关报道^[2-4], 但尚缺乏 STAT3 在食管上皮内瘤变演变过程中作用的研究。为此, 本研究采用原位杂交技术和免疫组织化学法检测 STAT3 在食管癌高发区食管上皮内瘤变及食管癌患者病变组织中的表达情况, 以探讨其在疾病转归过程中的作用。

1 资料与方法

1.1 一般资料 从河北工程大学附属医院病理科 2004~2009 年的存档蜡块中, 按病史及病理资料选取食管癌高发区(河北省太行山区)的食管上皮内瘤变病例 150 例(I、II、III 级各 50 例)及食管癌 100 例进行研究, 将其中 60 例接受食管癌切除术患者食管上、下残端的正常黏膜组织作为对照。由 2 位高年资病理医师按照 WHO 标准^[5]对全部病例切片进行复查。

1.2 原位杂交检测 操作步骤按 STAT3 原位杂交检测试剂盒(武汉博士德生物工程有限公司)说明书进行, 切片常规脱蜡至水, 预杂交, 杂交, 二氨基联苯胺(3, 3'-diaminobenzidine,

* 基金项目: 河北省科学技术研究与发展计划基金资助项目(11276103D-32); 邯郸市科技局计划基金资助项目(1123108077-2)。

DAB)显色。未采用探针和 RNA 酶处理的切片作为阴性对照。

1.3 免疫组织化学检测 采用链霉亲和素-生物素-过氧化物酶复合物(streptavidin biotin-peroxidase complex, SABC)试剂盒(北京中杉金桥生物技术有限公司)对全部样本进行免疫组织化学染色,实验步骤按试剂盒说明书进行,将 4 μm 厚的切片常规脱蜡至水,滴加兔抗人 STAT3 多克隆抗体(北京中杉金桥生物技术有限公司),其稀释度为 1:80, DAB 显色,苏木素复染,封片。以乳腺癌组织切片作为阳性对照,以磷酸缓冲盐溶液(phosphate-buffered saline, PBS)代替第一抗体作为阴性对照。

1.4 结果判定 STAT3 mRNA 及 STAT3 蛋白的阳性表达主要定位于细胞质,染色结果根据染色强度和阳性细胞的百分比进行半定量综合计分。在光学显微镜下随机选取 5 个高倍视野对阳性细胞进行计数,取阳性细胞百分比的平均值进行计分:无阳性细胞计 0 分, $\leq 25\%$ 计 1 分, $> 25\% \sim 50\%$ 计 2 分, $> 50\% \sim 75\%$ 计 3 分, $> 75\%$ 计 4 分;按多数阳性细胞呈现的着色强度计分:无着色计 0 分,淡黄色计 1 分,棕黄色计 2 分,棕褐色计 3 分;将阳性细胞百分比和着色强度的分值相加: $0 \sim 2$ 分为阴性(-), ≥ 3 分为阳性(+).

1.5 统计学处理 采用 SPSS13.0 软件进行统计学分析,组间比较采用 χ^2 检验,用 Fisher 确切概率法及斯皮尔曼等级相关(Spearman rank correlation)进行统计学处理,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 正常食管黏膜、食管上皮内瘤变及食管癌组织中 STAT3 mRNA 的表达 STAT3 mRNA 的阳性表达主要位于细胞质和细胞膜,呈棕黄色。STAT3 mRNA 在正常食管黏膜、食管上皮内瘤变及食管癌组织中的阳性表达率分别为 3.33%、53.33% 及 89.00%。食管上皮内瘤变及食管癌组织中 STAT3 mRNA 的阳性表达率均明显高于正常食管黏膜($P < 0.05$),食管癌组织中 STAT3 mRNA 的阳性表达率明显高于食管上皮内瘤变($P < 0.05$),见表 1。不同程度的食管上皮内瘤变病例中,病变组织 STAT3 mRNA 的表达随食管上皮内瘤变程度的加重而增加($P < 0.05$),见表 2。

表 1 STAT3 mRNA 和 STAT3 蛋白在正常食管黏膜、食管上皮内瘤变及食管癌组织中的表达

组别	n	STAT3 mRNA [n(%)]	STAT3 蛋白 [n(%)]
正常食管黏膜	60	2(3.33)	4(6.67)
食管上皮内瘤变	150	80(53.33)*	91(60.67)*
食管癌	100	89(89.00)*#	94(94.00)*#

*: $P < 0.05$, 与正常食管黏膜组比较; #: $P < 0.05$, 与食管上皮内瘤变组比较。

2.2 正常食管黏膜、食管上皮内瘤变及食管癌组织中 STAT3 蛋白的表达 STAT3 蛋白的阳性表达主要位于细胞质和细胞膜,呈棕黄色。STAT3 蛋白在正常食管黏膜、食管上皮内瘤变及食管癌组织中的阳性表达率分别为 6.67%、60.67% 及 94.00%。食管上皮内瘤变及食管癌组织中 STAT3 蛋白的阳性表达率均明显高于正常食管黏膜($P < 0.05$),食管癌组织中 STAT3 蛋白的阳性表达率明显高于食管上皮内瘤变($P <$

0.05),见表 1。不同程度的食管上皮内瘤变病例中,病变组织中 STAT3 蛋白的表达随食管上皮内瘤变程度的加重而增加($P < 0.05$),见表 2。

表 2 STAT3 mRNA 和 STAT3 蛋白在不同程度的食管上皮内瘤变组织中的表达

组别	n	STAT3 mRNA [n(%)]	STAT3 蛋白 [n(%)]
食管上皮内瘤变 I 级	50	11(22.00)*	14(28.00)*
食管上皮内瘤变 II 级	50	27(54.00)*#	29(58.00)*#
食管上皮内瘤变 III 级	50	41(82.00)	44(88.00)

*: $P < 0.05$, 与食管上皮内瘤变 III 级组比较; #: $P < 0.05$, 与食管上皮内瘤变 I 级组比较。

2.3 正常食管黏膜、食管上皮内瘤变及食管癌组织中 STAT3 mRNA 及 STAT3 蛋白表达的关系 正常食管黏膜组织中未见 STAT3 在 mRNA 及蛋白水平的共表达。随着食管上皮内瘤变程度的加重,STAT3 在 mRNA 和蛋白水平的共表达率增加($r = 0.768, P < 0.05$),STAT3 在 mRNA 和蛋白水平的表达具有一致性($P < 0.05$),见表 3。

表 3 STAT3 mRNA 和 STAT3 蛋白表达的关系(n)

STAT3 蛋白	STAT3 mRNA	
	阴性	阳性
阴性	112	9
阳性	27	162

3 讨论

食管癌具有明显的地域分布差异,河北省太行山区是中国食管癌的高发地区,过去对该地区的随访研究显示食管上皮内瘤变是多基因参与的,多阶段的发展进行性过程,其发病机制是人们关注的焦点。

STAT3 是 STAT 家族的重要成员。作为一种重要的核转录因子,STAT3 的持续激活导致细胞异常增殖及恶性转化。有研究发现 STAT3 在食管癌组织中的表达异常^[6-9],提示 STAT3 过度表达与食管癌的演变过程有关。另有研究也证实 STAT3 与早期食管鳞癌具有相关性^[10],在食管正常黏膜上皮、非典型增生、鳞状细胞癌的演变过程中,STAT3 的磷酸化水平逐渐增加。王新华等^[11]发现,在食管鳞癌 ECA-109、EC9706 细胞的增殖过程中,STAT3 蛋白表达的活性增强,提示 STAT3 过度表达和持续活化可能与食管癌的发生、发展有关。本研究显示,随着食管上皮内瘤变程度的加重和食管癌的出现,STAT3 mRNA 及 STAT3 蛋白的阳性表达率呈逐渐增加的趋势,且二者均高于正常食管黏膜组,同时,研究还显示在食管上皮内瘤变程度加重的过程中 STAT3 mRNA 和 STAT3 蛋白的共表达率增加,STAT3 在 mRNA 及蛋白水平的表达具有一致性,提示 STAT3 参与了食管上皮内瘤变的发生及演变过程。在正常食管黏膜中 STAT3 的激活水平很低,其信号强度远不如食管上皮内瘤变组织中的 STAT3 明显。食管上皮内瘤变及食管癌组织中 STAT3 的持续高表达表明,从食管上皮内瘤变到食管癌的演变过程中,不同阶段均存在 STAT3 的高水平激活,使细胞维持高增殖状态,导致恶性转化;这也提示 STAT3 的异常表达为早期(下转第 653 页)

膀胱癌发生、发展及转移密切相关,可作为临床早期诊断、治疗措施选择及预后评估的辅助指标。

参考文献:

- [1] Ku JH, Kwak C, Lee HS, et al. Expression of survivin, a novel inhibitor of apoptosis, in superficial transitional cell carcinoma of the bladder[J]. *J Urol*, 2004, 171(2 Pt 1): 631-635.
- [2] 赵长林, 殷江霞, 刘贤奎, 等. 膀胱癌 Survivin 和 VEGF 的表达与血管生成关系的研究[J]. *临床肿瘤学杂志*, 2007, 12(12): 902-905.
- [3] 刘禄成, 李香云, 范海涛, 等. VEGF/VEGFR 在膀胱癌中表达的研究[J]. *中国免疫学杂志*, 2006, 22(7): 633-635.
- [4] 范志强, 姜佑三, 徐勇, 等. PCNA、MMP9 和 E-cd 在膀胱移行上皮癌中表达及意义[J]. *天津医药*, 2005, 33(7): 405-407.
- [5] 张景华, 张德才, 何津, 等. 乳腺癌中 VEGF 基因 mRNA 的表达及其与临床病理因素的关系[J]. *实用癌症杂志*, 2011, 26(2): 140-143.
- [6] Bernardini S, Fauconnet S, Chabannes E, et al. Serum levels of vascular endothelial growth factor as a prognostic factor in bladder cancer[J]. *J Urol*, 2001, 166(4): 1275-1279.
- [7] 周四维, 杨为民, 李家贵, 等. 现代膀胱肿瘤学[M]. 北京: 人民军医出版社, 2005: 582.
- [8] Mitselou A, Ioachim E, Kitsou E, et al. Immunohistochemical study of apoptosis-related Bcl-2 protein and its correlation with proliferation indices (Ki67, PCNA),

tumor suppressor genes (p53, pRb), the oncogene c-erbB-2, sex steroid hormone receptors and other clinicopathological features, in normal, hyperplastic and neoplastic endometrium[J]. *In Vivo*, 2003, 17(5): 469-477.

- [9] 徐骏飞, 江颖, 倪启超, 等. 乳腺癌组织中 FOXO3a、 β -Catenin、PCNA 的表达及临床意义[J]. *山东医药*, 2011, 51(27): 16-18.
- [10] Ambrosini G, Adida C, Altieri DC. A novel anti-apoptosis gene, survivin, expressed in cancer and lymphoma[J]. *Nat Med*, 1997, 3(8): 917-921.
- [11] 刘伟, 黄超, 邢伟. 大肠癌中 Survivin 和 nm23-H1 的表达及其联合检测的临床意义[J]. *第三军医大学学报*, 2011, 33(19): 2074-2076.
- [12] 曾柯, 吴小候, 杜虎. survivin 靶向 siRNA 对膀胱癌细胞增殖和凋亡作用的体外研究[J]. *重庆医学*, 2007, 36(14): 1360-1362.
- [13] Lehner R, Lucia MS, Jarboe EA, et al. Immunohistochemical localization of the IAP protein survivin in bladder mucosa and transitional cell carcinoma[J]. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*, 2002, 10(2): 134-138.
- [14] 徐建平, 黎清, 罗新, 等. 凋亡基因 Survivin 在子宫肌瘤组织中的表达及意义[J]. *广东医学*, 2007, 28(12): 1980-1981.
- [15] 李奕璇, 陈全, 朱大冕. 肿瘤特异性 hTERT 启动子与 Survivin 启动子在肺癌 A549 细胞中的转录活性研究[J]. *重庆医科大学学报*, 2009, 34(2): 168-173.

(收稿日期: 2011-10-29 修回日期: 2011-12-01)

(上接第 650 页)

事件,在促进食管上皮内瘤变的发生及向食管癌的转变过程中发挥重要作用。

本课题从 mRNA 及蛋白水平研究了 STAT3 在食管上皮内瘤变及食管癌组织中的表达,初步探讨了 STAT3 的异常活化在食管上皮内瘤变演变过程中的作用。但是,STAT3 及其下游相关基因在食管癌发生、发展过程中的作用还有待进一步研究。

参考文献:

- [1] Bromberg JF, Wrzeszczynska MH, Devgan G, et al. Stat3 as an oncogene[J]. *Cell*, 1999, 98(3): 295-303.
- [2] Ma XT, Wang S, Ye YJ, et al. Constitutive activation of Stat3 signaling pathway in human colorectal carcinoma [J]. *World J Gastroenterol*, 2004, 10(11): 1569-1573.
- [3] 吴文新, 刘惠民, 张祥宏, 等. Stat3 通路相关基因在散发性大肠管状腺瘤癌变中的表达及意义[J]. *肿瘤防治研究*, 2009, 36(5): 388-390.
- [4] Proietti C, Salatino M, Rosembli C, et al. Progestins induce transcriptional activation of signal transducer and activator of transcription 3 (Stat3) via a Jak- and Src-dependent mechanism in breast cancer cells[J]. *Mol Cell*

Biol, 2005, 25(12): 4826-4840.

- [5] 朱雄增. 胃肠道癌前病变和癌的 WHO 诊断新标准[J]. *中华病理学杂志*, 2003, 32(2): 168-169.
- [6] 王新华, 李珊珊, 郭燕萍, 等. 食管鳞癌组织中 STAT3 蛋白的表达及临床意义[J]. *山东医药*, 2005, 45(33): 13-14.
- [7] 贵永贤, 李小环, 赵立群, 等. 食管肿瘤癌变过程中 Stat3 和 Ki-67 基因表达变化及意义[J]. *山东医药*, 2008, 48(26): 29-31.
- [8] 李素梅, 钟雪云, 林琛莅, 等. Stat3、CyclinD1 及 Bcl-2 在食管鳞癌组织芯片中的表达及意义[J]. *现代肿瘤医学*, 2009, 17(4): 681-684.
- [9] 高远, 轩小燕, 张红燕, 等. STAT3 信号蛋白与食管鳞癌上皮间质转化的关系及其意义[J]. *世界华人消化杂志*, 2010, 18(5): 447-452.
- [10] 刘俊茹, 王原, 左连富, 等. COX-2、P-Stat3 及 p-Stat5 在食管癌组织中的表达及其意义[J]. *癌症*, 2007, 26(5): 458-462.
- [11] 王新华, 李珊珊, 阎爱华, 等. 食管鳞癌细胞系中 STAT3 的激活及 VEGF 和 Bcl-2 的表达[J]. *中国肿瘤临床*, 2006, 33(6): 325-328.

(收稿日期: 2011-09-06 修回日期: 2011-11-03)