

论著·临床研究

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2023.09.010

网络首发 [https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20230417.1355.006.html\(2023-04-17\)](https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20230417.1355.006.html(2023-04-17))

p-STAT3、PD-L1 在膀胱尿路上皮癌中的表达及与临床病理特征的关系*

牟东云^{1,2}, 张艳金³, 蒋立人¹, 孙娟娟¹, 曹毅⁴, 高峰^{1△}

(1. 上海市第一人民医院病理中心 200080; 2. 遵义医药高等专科学校病理教研室, 贵州遵义 563006; 3. 贵州航天医院骨一科, 贵州遵义 563003; 4. 遵义医药高等专科学校卫管流行病学与卫生统计学教研室, 贵州遵义 563006)

[摘要] **目的** 探讨磷酸化信号转导和转录活化因子 3(p-STAT3)、程序性死亡分子 1 配体(PD-L1)在膀胱高级别浸润性尿路上皮癌组的表达及其临床意义。**方法** 选取上海市第一人民医院病理中心 2013 年 1 月至 2018 年 12 月病理诊断的膀胱高级别浸润性尿路上皮癌患者 74 例, 采用免疫组织化学法检测 p-STAT3、PD-L1 表达情况; 采用 Pearson 相关分析膀胱高级别浸润性尿路上皮癌组织 p-STAT3、PD-L1 表达相关性; 收集患者临床病理资料, 分析 p-STAT3、PD-L1 表达与患者临床病理特征的关系。**结果** 膀胱高级别浸润性尿路上皮癌组织 p-STAT3、PD-L1 阳性率分别为 63.5%、66.2%; 膀胱高级别浸润性尿路上皮癌组织 p-STAT3 与 PD-L1 表达呈正相关($r=0.248, P=0.033$); p-STAT3、PD-L1 阳性表达与患者肿瘤分期有关($P<0.05$)。**结论** 膀胱高级别浸润性尿路上皮癌组织 p-STAT3、PD-L1 表达上调, p-STAT3 可能参与 PD-L1 的表达调控。

[关键词] 膀胱癌; 信号转导及转录激活因子; 磷酸化; p-STAT3; 程序性死亡受体配体 1; 临床病理特征; 免疫组织化学

[中图法分类号] R737.14

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2023)09-1330-04

Expression of p-STAT3 and PD-L1 in urothelial carcinoma of bladder and their relationship with clinicopathological characteristics*

MU Dongyun^{1,2}, ZHANG Yanjin³, JIANG Liren¹, SUN Juanjuan¹, CAO Yi⁴, GAO Feng^{1△}

(1. Pathology Center, Shanghai General Hospital, Shanghai 200080, China; 2. Department of Pathology, Zunyi Medical and Pharmaceutical College, Zunyi, Guizhou 563006, China; 3. The First Ward of Department of Orthopaedics, Guizhou Aerospace Hospital, Zunyi, Guizhou 563000, China; 4. Teaching and Research Office of Health Management Epidemiology and Health Statistics, Zunyi Medical and Pharmaceutical College, Zunyi, Guizhou 563006, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the expression and clinical significance of phosphorylated signal transduction and transcriptional activation factors-3 (p-STAT3) and programmed death molecule ligand-1 (PD-L1) in high grade invasive urothelial carcinoma of bladder. **Methods** A total of 74 patients with high-grade invasive urothelial carcinoma of bladder were selected from the Pathology Center of Shanghai General Hospital from January 2013 to December 2018. The expression of p-STAT3 and PD-L1 protein was detected by immunohistochemistry. Pearson correlation was used to analyze the correlation of p-STAT3 and PD-L1 expression in high-grade invasive urothelial carcinoma of bladder. The clinicopathologic data of the patients were collected to analyze the relationship between p-STAT3 and PD-L1 expression and clinicopathologic features. **Results** The positive rates of p-STAT3 and PD-L1 in high-grade invasive urothelial carcinoma of bladder were 63.5% and 66.2%, respectively ($P<0.05$). The p-STAT3 expression was positively correlated with PD-L1 expression in high-grade invasive urothelial carcinoma of bladder ($r=0.248, P=0.033$). The positive expressions of p-STAT3 and PD-L1 were correlated with tumor stage ($P<0.05$). **Conclusion** The expressions of p-STAT3 and PD-L1 were up-regulated in high-grade invasive urothelial carcinoma of bladder, and p-STAT3 may be involved in the regulation of PD-L1 expression.

* 基金项目:遵义市科技合作项目[HZ字(2019)201];遵义市科技创新人才团队项目([2022]5号)。 作者简介:牟东云(1984-),主治医师/讲师,硕士,主要从事膀胱癌临床病理诊断及基础研究。 △ 通信作者, E-mail: gaof891@aliyun.com。

[Key words] carcinoma of bladder; signal transduction and activator of transcription; phosphorylation; p-STAT3; programmed death-ligand 1; clinicopathological features; immunohistochemistry

全球每年膀胱癌新发病例居常见癌症第10位,约为55万,且男性约为女性的4倍,男性发病率和病死率分别位居男性癌症的第7位和第9位,膀胱癌严重威胁着人们的健康^[1]。膀胱尿路上皮癌是最常见的组织学类型,尤其高级别浸润性尿路上皮癌,侵袭性强、进展快,预后更差^[2]。目前,膀胱癌的一线治疗方案是基于顺铂的化疗,然而对于顺铂耐药和因肾功能不全不能耐受治疗的患者,治疗效果较差^[3]。近年来,新型免疫治疗程序性死亡分子1/程序性死亡分子1配体(programmed death 1, PD1/programmed death-ligand 1, PD-L1)抑制剂可阻断PD1/PD-L1诱导的免疫抑制,防止肿瘤发生免疫逃逸,成为治疗膀胱癌的又一大利器,显示了良好的抗肿瘤活性,其不足之处为存在总体反应率较低、副作用较大及耐药等问题^[4-6],因此,亟须对PD-L1的调控机制进行深入研究,以期找到更有效的治疗或联合治疗靶点。

信号转导和转录活化因子(signal transducers and activators of transcription, STATs)家族是一种具有信号转导和转录调控双重功能的蛋白家族。STAT3是STATs家族成员之一,在多种恶性肿瘤中异常激活,被视为“癌基因”,参与肿瘤细胞增殖、血管生成及侵袭转移等过程^[7-8]。在肺腺癌研究中发现,磷酸化STAT3(p-STAT3)和PD-L1具有较高的表达率且二者呈正相关^[9]。目前国内外关于膀胱癌p-STAT3、PD-L1表达情况及临床意义的研究较少。本研究以膀胱高级别浸润性尿路上皮癌患者为研究对象,采用免疫组织化学(IHC)法检测肿瘤组织中p-STAT3、PD-L1表达情况,并分析二者的相关性,以及二者与临床病理特征的关系,以期为膀胱癌PD1/PD-L1抑制剂联合STAT3靶向治疗的应用寻找理论依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取上海市第一人民医院病理中心2013年1月至2018年12月病理诊断膀胱高级别浸润性尿路上皮癌患者74例,取膀胱癌石蜡标本切片,由两名经验丰富的高年资医师独立复片,排除分歧病例,重复活检患者只纳入首次标本。患者临床资料:男60例,女14例;年龄50~86岁,中位年龄67岁;根据2017年国际抗癌联盟(International Union Against Cancer, UICC)膀胱癌TNM分期(第8版),I期0例、II期46例、III期15例、IV期13例;有淋巴结转移者6例,无淋巴结转移者68例。本研究经本院伦理委员会审核通过,所有受试者均知情同意。

1.2 方法

1.2.1 主要试剂

兔抗人p-STAT3、PD-L1抗体均购自武汉爱博泰克生物科技有限公司,乙二胺四乙酸(EDTA)抗原修复液、二抗和二氨基联苯胺(DAB)显色试剂盒均购自北京中杉金桥生物技术有限公司。

1.2.2 IHC检测

IHC染色采用EnVision法。切片后经二甲苯常规脱蜡、无水乙醇水化后,应用3%过氧化氢灭活组织内的内源性过氧化物酶,将切片浸入EDTA抗原修复液进行高压抗原修复。滴加兔抗人p-STAT3、PD-L1一抗及生物素标记的二抗工作液,DAB显色、苏木素复染,常规脱水,透明、中性树胶封片。同时设置阳性和阴性对照。

1.2.3 结果判定

本组病例采用肿瘤细胞阳性比例评分(tumor proportion score, TPS)进行评估。p-STAT3以肿瘤细胞质及细胞核染成棕黄色为阳性,阳性阈值为40%^[10];Ki-67以肿瘤细胞核染成棕黄色为阳性,阳性阈值为30%^[11];PD-L1以肿瘤细胞膜出现任何强度的棕黄色为阳性,阳性阈值为1%^[12]。由两位经验丰富的病理医师采用双盲法进行结果评估,取两次读数的均数为最终结果。

1.3 统计学处理

采用SPSS25.0软件进行数据统计分析。计数资料以例数或百分比表示,比较采用 χ^2 检验;相关性分析应用Pearson相关;取双侧检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 p-STAT3、PD-L1的表达情况

膀胱高级别浸润性尿路上皮癌组织镜下特征主要表现为:肿瘤细胞层次增多,极向紊乱,核大深染、核仁显著、病理性核分裂象易见等,肿瘤呈浸润性生长。免疫组织化学染色显示:p-STAT3肿瘤细胞核染成棕黄色,PD-L1肿瘤细胞膜和免疫细胞膜染成棕黄色,p-STAT3、PD-L1阳性率分别为63.5%、66.2%。见图1。

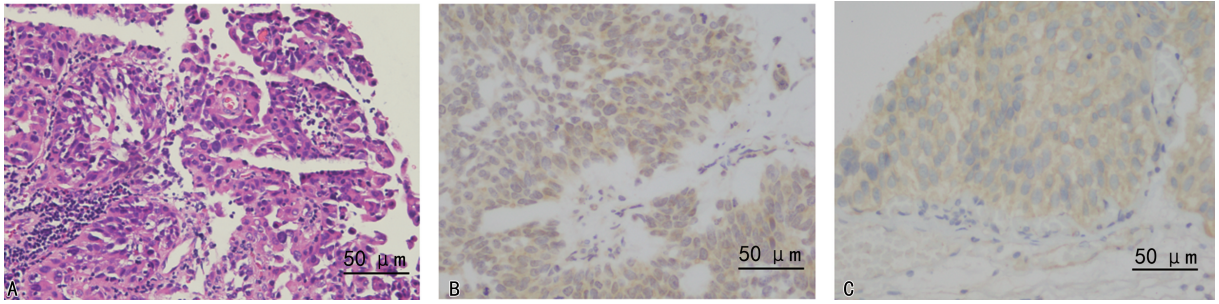
2.2 p-STAT3与PD-L1的相关性分析

Pearson相关性分析显示:膀胱高级别浸润性尿路上皮癌组织p-STAT3和PD-L1表达呈正相关($r = 0.248, P = 0.033$)。

2.3 p-STAT3、PD-L1表达与临床病理特征的关系

膀胱高级别浸润性尿路上皮癌p-STAT3、PD-L1阳性表达与患者肿瘤分期有关($P < 0.05$),与患者性

别、年龄、Ki-67 增殖指数、淋巴结转移无明显相关性 ($P>0.05$),见表 1。



A:组织病理(苏木素-伊红染色);B:p-STAT3 细胞质/核阳性(IHC);C:PD-L1 细胞膜阳性(IHC)。

图 1 高级别浸润性尿路上皮癌病理及 IHC 染色图像

表 1 膀胱高级别浸润性尿路上皮癌组织 p-STAT3、PD-L1 表达与临床病理特征的关系 [$n=74, n(\%)$]

项目	n	p-STAT3		χ^2	P	PD-L1		χ^2	P
		阴性(n=27)	阳性(n=47)			阴性(n=25)	阳性(n=49)		
性别				0.004	0.947			1.958	0.162
男	60	22(36.7)	38(63.3)			23(38.3)	37(61.7)		
女	14	5(35.7)	9(64.3)			2(14.3)	12(85.7)		
年龄				1.617	0.204			0.843	0.358
<65 岁	26	12(46.2)	14(53.8)			7(26.9)	19(73.1)		
≥65 岁	48	15(31.2)	33(68.8)			18(37.5)	30(62.5)		
Ki-67 增殖指数				0.367	0.545			0.610	0.435
<30	28	9(32.1)	19(67.9)			11(39.3)	17(60.7)		
≥30	46	18(39.1)	28(60.9)			14(30.4)	32(69.6)		
肿瘤分期				6.257	0.044			7.470	0.024
II 期	46	12(26.1)	34(73.9)			15(32.6)	31(67.4)		
III 期	15	7(46.7)	8(53.3)			2(13.3)	13(86.7)		
IV 期	13	8(61.5)	5(38.5)			8(61.5)	5(38.5)		
淋巴结转移				1.345	0.246			1.759	0.185
无	68	23(33.8)	45(66.2)			21(30.9)	47(69.1)		
有	6	4(66.7)	2(33.3)			4(66.7)	2(33.3)		

3 讨论

膀胱癌是泌尿系统最常见的恶性肿瘤,其中尿路上皮癌是最常见的组织学类型,根据是否突破基底膜分为浸润性和非浸润性。根据 2004 版肿瘤分级方法,膀胱尿路上皮肿瘤可分为低度恶性潜能的乳头状尿路上皮肿瘤、低级别尿路上皮癌、高级别尿路上皮癌^[13]。肿瘤的浸润性和分级情况与患者的复发、进展等有密切关系,高级别浸润性尿路上皮癌侵袭性强、进展快,预后极差,故本研究选择此类尿路上皮癌患者为研究对象。

既往研究表明,在正常生理状态下,STAT3 激活受严格控制,然而在包含膀胱癌在内的多种肿瘤中均发现,STAT3 呈过度激活和高水平表达。STAT3 异常激活即 STAT 磷酸化后形成二聚体增多,p-STAT3 二聚体进入细胞核与靶基因结合,对下游靶基因(如 CyclinD1、c-myc 和 Bcl-xL 等基因)的转录进行调控,参与调节细胞增殖、血管生成、侵袭转移等多种恶性特征^[8,14-15]。因此,STAT3 被认为是重要的致癌信号通路。近年有研究报道,STAT3 致癌信号通路不仅参与对肿瘤发生和发展的调控,还参与对 PD-L1 的表达

调控^[16],协助肿瘤细胞产生免疫逃逸。

PD-L1 又称为表面抗原分化簇 274 (cluster of differentiation 274, CD274)或 B7 同源体(B7-H1),可以表达在胎盘滋养层细胞、心肌内皮细胞及骨骼肌等实质器官组织,也可以表达在活化的 T 淋巴细胞、B 淋巴细胞、单核细胞等免疫细胞上。PD-L1 的受体为免疫球蛋白超家族激活诱导的 I 型跨膜受体 PD-1 (CD28 家族成员),表达于活化的 T 淋巴细胞、B 淋巴细胞、髓系细胞等免疫细胞上^[17]。PD-L1 与 PD-1 结合发挥负性免疫调控作用,控制免疫反应程度和规模。然而研究表面,包括膀胱癌在内的多种实体肿瘤表面表达 PD-L1,与肿瘤浸润性淋巴细胞表面 PD-1 结合,可抑制 T 淋巴细胞免疫,促进肿瘤免疫逃逸^[18-19]。本研究结果显示,膀胱高级别浸润性尿路上皮癌组织 PD-L1 阳性率为 66.2%,高于类似研究结果^[20-21],可能与肿瘤标本类型、抗体类型、检测平台、阈值设定等因素有关^[22-23]。

进一步分析 p-STAT3 与 PD-L1 的相关性发现,膀胱高级别浸润性尿路上皮癌组织 p-STAT3 与 PD-L1 表达呈正相关。这与既往在肺腺癌及自然杀伤细

胞(NK)/T细胞淋巴瘤中的研究结论一致^[9-10],说明膀胱癌中 p-STAT3、PD-L1 可能在同一信号通路上, PD-L1 可能是 p-STAT3 的靶基因之一。此外,分析 p-STAT3、PD-L1 表达与膀胱高级别浸润性尿路上皮癌患者临床病理资料的关系发现, p-STAT3、PD-L1 在膀胱高级别浸润性尿路上皮癌组织中的表达与患者肿瘤分期有关, II、III期膀胱癌组织 p-STAT3、PD-L1 多为阳性表达,说明二者可能同时参与了肿瘤的侵袭过程,至于有无协同效应,还需进一步证实。

综上所述,高级别浸润性尿路上皮癌组织 p-STAT3、PD-L1 呈高表达,且二者呈正相关, p-STAT3 可能参与了 PD-L1 的表达调控。临床应用中联合 p-STAT3、PD-L1 检测,可能在患者预后评估、药物疗效预测方面有新的应用价值,同时本研究也给 PD1/PD-L1 抑制剂联合 STAT3 靶向治疗提供了一定的理论依据。

参考文献

[1] BRAY F, FERLAY J, SOERJOMATARAM I, et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA Cancer J Clin, 2018, 68(6):394-424.

[2] 焦阳,冯对平. 肌层浸润性膀胱尿路上皮癌的治疗进展[J]. 现代肿瘤医学, 2022, 30(12):2280-2286.

[3] 张凡,李彦佑,史正奇,等. PD-1/PD-L1 抑制剂治疗膀胱癌的研究进展[J]. 中华外科杂志, 2021, 59(11):952-955.

[4] STENEHJEM D D, TRAN D, NKRUH M A, et al. PD1/PDL1 inhibitors for the treatment of advanced urothelial bladder cancer[J]. Onco Targets Ther, 2018, 11:5973-5989.

[5] LEI Q, WANG D, SUN K, et al. Resistance mechanisms of anti-PD1/PDL1 therapy in solid tumors[J]. Front Cell Dev Biol, 2020, 8:672.

[6] 杨蕾伊,林桑,谢其冰,等. 抗肿瘤 PD-1 和 PD-L1 治疗现状与免疫相关不良反应的机制探索[J]. 中国全科医学, 2022, 25(11):1393-1398, 1405.

[7] 陈越,季鸣,陈晓光. STAT3 与肿瘤关系的研究进展[J]. 药学学报, 2017, 52(9):1351-1358.

[8] 钟彬龙,邵增务. STAT3 在骨肉瘤中的研究进展[J]. 华中科技大学学报(医学版), 2021, 50(3):398-403.

[9] 董秋霞,潘贤英,尚春香,等. PD-L1 和 p-STAT3 蛋白在肺腺癌术后组织中的表达及临床意义[J]. 现代肿瘤医学, 2017, 25(24):90-93.

[10] 张芬,罗东兰,陈玉,等. pSTAT3 和 PD-L1 在结

外 NK/T 细胞淋巴瘤中的表达及意义[J]. 中华病理学杂志, 2020, 49(10):999-1002.

[11] 刘月平. 国际乳腺癌 Ki-67 工作组 Ki-67 评估更新的主要内容解读[J]. 中华病理学杂志, 2021, 50(7):704-709.

[12] 国家病理质控中心,中华医学会病理学分会,中国临床肿瘤学会肿瘤病理专家委员会. 实体肿瘤 PD-L1 免疫组织化学检测专家共识(2021版)[J]. 中华病理学杂志, 2021, 50(7):710-718.

[13] 黄文斌,程亮. 膀胱浸润性尿路上皮癌组织学亚型及其分子病理学研究进展[J]. 中华病理学杂志, 2021, 50(2):155-158.

[14] 陈森镇,陈诺琦,陈锦凤. Sirt1 和 STAT3 在甲状腺癌中的表达及临床诊断意义[J]. 新医学, 2022, 53(6):423-430.

[15] 吴朝,董自强. STAT3 及其抑制剂在膀胱癌中的研究进展[J]. 东南大学学报(医学版), 2015, 56(2):313-316.

[16] SONG T L, NAIRISMÄGI M L, LAURENSIA Y, et al. Oncogenic activation of the STAT3 pathway drives PD-L1 expression in natural killer/T-cell lymphoma [J]. Blood, 2018, 132(11):1146-1158.

[17] 吴雅珣,张邢松,郑桂华. 膀胱尿路上皮癌中 PD-L1 和 PD-L2 的表达及临床意义[J]. 临床与实验病理学杂志, 2021, 37(2):151-156.

[18] GHOSH C, LUONG G, SUN Y. A snapshot of the PD-1/PD-L1 pathway[J]. J Cancer, 2021, 12(9):2735-2746.

[19] 张国强,罗全勇. PD-1/PD-L1 免疫检查点在甲状腺疾病中的作用[J]. 中华核医学与分子影像杂志, 2023, 43(2):118-121.

[20] 白钰明,张国文,马可为,等. 浸润性膀胱癌分子分型的预后研究及 PD-L1 的表达意义[J]. 临床泌尿外科杂志, 2022, 37(3):184-188.

[21] TRETIAKOVA M, FULTON R, KOCHERGINSKY M, et al. Concordance study of PD-L1 expression in primary and metastatic bladder carcinomas; comparison of four commonly used antibodies and RNA expression[J]. Mod Pathol, 2018, 31(4):623-632.

[22] 中华医学会病理学分会泌尿与男性生殖系统疾病病理专家组. 膀胱浸润性尿路上皮癌 PD-L1 (SP263)免疫组织化学检测病理专家共识[J]. 中华病理学杂志, 2020, 49(11):1102-1107.

[23] 骆新兰,罗陆侨,何娇,等. 免疫组织化学检测条件对 PD-L1(22C3)染色结果的影响[J]. 中华病理学杂志, 2020, 49(11):1108-1113.