

STAT3 对 EMT 的调节和对循环肿瘤细胞与肿瘤侵袭及转移的影响 *

姜 雨^{1,2)} 丁 怡¹⁾ 李文卿^{1,2)} 路 中^{1,2)} 张 建³⁾ 杨小毅⁴⁾ 王丽华^{1,2)**}

(¹⁾ 潍坊医学院分子肿瘤学研究室, 潍坊 261053; ²⁾ 潍坊医学院附属医院, 潍坊 261053;

³⁾ 山东大学药学院, 济南 250012; ⁴⁾ 泰山医学院, 泰安 271018)

摘要 信号转导和转录激活因子 3 (signal transducer and activator of transcription 3, STAT3) 参与了机体许多生理和病理过程。近年来发现, STAT3 尽管不是上皮-间充质表型转换(epithelial-mesenchymal transition, EMT) 的管家转录因子, 但是却参与 EMT 相关基因的表达, 影响肿瘤细胞的表型可塑性, 从而参与循环肿瘤细胞(circulating tumor cells)的形成及表型特征的变化, 与肿瘤的转移、侵袭密切相关。一方面上游信号可以激活 STAT3, 磷酸化 STAT3 可以入核绑定特定 EMT 管家转录因子(Twist、Snail、Slug 等)启动子上的特定片段, 从而调节肿瘤细胞中的 EMT 程序启动和析解。另一方面, 当 STAT3 作为一种分子适配器(adaptor)而非转录因子作用时, 又可抑制 EMT。因此, 对 STAT3 与 EMT 相互作用及其对循环肿瘤细胞影响的认识, 将有助于开拓肿瘤转移治疗的新思路。

关键词 STAT3, EMT, 恶性肿瘤, 信号通路, 循环肿瘤细胞

学科分类号 R73

DOI: 10.16476/j.pibb.2016.0049

信号转导和转录激活因子 3 (signal transducer and activator of transcription 3, STAT3) 作为 STAT 家族中的重要成员, 其介导的信号转导通路与细胞的增殖分化及凋亡密切相关。该通路接受生长因子、细胞因子等细胞外信号刺激, 调控细胞核内特定的转录因子转录, 通路持续激活可导致细胞异常增殖和恶性转化^[1]。STAT3 作为一种癌基因, 在细胞内被多种上游信号的异常激活与肿瘤的增殖、转移、入侵、抗凋亡、血管生成等密切相关(表 1)。因此近年来, STAT3 蛋白被认为是理想的抗肿瘤治疗的靶标, 其通路在恶性肿瘤侵袭及转移中发挥的作用受到密切关注和研究。

上皮间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)在胚胎形成和组织发展过程中发挥作用, 但近年更多研究其在恶性肿瘤转移及侵袭过程中扮演的重要角色^[2-3]。上皮-间充质可塑性是指癌细胞易于发生上皮-间充质表型转换的亚稳态性, 它大大增强肿瘤的转移和化疗耐受性。EMT 相关转录因子 Twist、Snail、Slug、ZEB1 等^[4-5]的异常激活引

起细胞基因水平上皮标志 E-钙黏蛋白(E-cadherin)、上皮黏附分子(EpCAM)等的缺失和间质标志波形蛋白(Vimentin)、N-钙黏蛋白(N-cadherin)等的过表达, 并导致细胞形态发生纺锤样改变和移动能力增强的表观变化^[6]。

越来越多的研究表明, STAT3 和 EMT 都与恶性肿瘤的发生发展密切相关, 尽管 STAT3 不是 EMT 的管家转录因子, 但是却参与 EMT 相关基因的表达, 调节肿瘤细胞中的 EMT 程序启动和解析, 影响肿瘤细胞的表型可塑性, 从而参与循环肿瘤细胞(circulating tumor cells, CTCs)的形成及表型特征的变化, 与肿瘤的转移、侵袭密切相关。本文将综述 STAT3 及其信号转导通路与 EMT 相互作

* 国家自然科学基金(81472489)和山东省科技发展计划(2014GGB14403)资助项目。

** 通讯联系人。

Tel: 0536-8462126, E-mail: wanglihua@wfmc.edu.cn

收稿日期: 2016-02-21, 接受日期: 2016-05-04

用对循环肿瘤细胞的影响, 以及与肿瘤侵袭转移的关系.

1 STAT3 的结构和功能

人 STAT3 的基因定位于第 17 号染色体 (q21.31), 编码分子质量为 89 ku 的蛋白, 约 750~795 个氨基酸长度. STAT3 有 STAT3 α 和 STAT3 β 两种主要亚型, STAT3 α 是细胞内 STAT3 的主要表型. STAT3 β 可以竞争性结合 STAT3 α 的目的基因, 抑制 STAT3 α 的反式激活, 但 STAT3 β 也拥有其特定的靶基因^[7], 可以通过调控其自身靶基因来启动细胞凋亡.

2 STAT3 的激活与抑制

2.1 STAT3 激活

STAT3 可以被许多信号因子激活并在许多位点发生磷酸化作用, 最重要的是 Tyr-705 和 Ser-727 位点^[1]. Tyr-705 位点的磷酸化 STAT3 主要参与细胞增殖、肿瘤发生、发展的调控, 而 Ser-727 位点磷酸化的 STAT3 可进入线粒体与呼吸链上相应的配体结合^[1,8], 参与细胞呼吸功能的维持和线粒体对外界刺激的自我防护功能, 并与线粒体异位和肿瘤的发生有关^[1,9].

2.2 STAT3 的抑制

PIAS (protein inhibitors of activated STATs) 家族包含 5 个成员, 含保守的 LXXLL 序列、锌指结合区域羧基区域丝氨酸 / 苏氨酸区域. 可以直接封闭转录因子的 DNA 绑定区域, 募集转录抑制剂或激活剂来调控靶基因, 而 PIAS3 则靶向与 STAT3 作用, 调控其信号转导^[10]. TGF- β 和 Ras 信号可以刺激 EMT 相关转录因子 Snail 的表达, 而 STAT3 作为此过程中重要的调节蛋白被 PIAS3 抑制后可以抑制 Snail 启动子的活化^[11].

SOCS (suppressors of cytokine signaling) 家族蛋白包含 8 个家族成员, 由一系列细胞因子诱导型基因组成, 其中 SOCS3 可以通过绑定 JAK 激酶和细胞因子受体进而抑制 STAT3 信号转导功能^[12]. 敲除肝癌细胞中的 SOCS3 后发现上皮标志 E-cadherin 表达下调, 而间质标志 Vimentin 表达上调, 促进细胞 EMT. 在结直肠癌细胞中上调 SOCS1 的表达可以逆转 EMT 并抑制肿瘤的侵袭和转移, 并发现 SOCS1 可以上调 miR-200 家族成员的表达^[13]. 但是 SOCS 家族对 EMT 的影响过程中是否有涉及对 STAT3 的抑制还鲜有报道.

MicroRNA 作为非编码的单链 RNA 分子在肿瘤的发生发展过程中发挥重要作用. 目前发现在 T 淋巴瘤、乳腺癌、胶质瘤等肿瘤细胞中, 许多 microRNA 的过表达可以抑制 STAT3 的表达^[14-18].

在乳腺癌细胞的研究表明, 过表达 miR-200 可以抑制 EMT 相关转录因子 ZEB1, 明显逆转由 STAT3 活化导致的 EMT^[19]. 对黑色素瘤细胞研究发现, 化合物 EF24 可以上调 miR-33b 的表达并抑制 STAT3 磷酸化进而逆转 EMT 过程^[20].

3 STAT3 相关信号通路 EMT 在肿瘤侵袭及转移中的关系

STAT3 作为肿瘤发生发展的重要影响因子, 其介导的信号通路已经在肿瘤的发生和治疗过程中受到越来越多的重视, 通过抑制 STAT3 基因过表达及相应的信号通路来治疗肿瘤相关疾病, 有助于抑制肿瘤的转移、侵袭.

3.1 JAK-STAT 信号通路与 EMT

JAK-STAT 通路信号作为经典的 STAT 相关信号通路, 主要由酪氨酸激酶相关受体、酪氨酸激酶 JAK 和转录因子 STAT 组成, 在细胞的增殖、分化、凋亡以及免疫调节中发挥十分重要的作用. 许多细胞因子或生长因子与膜上的相应配体 (如 IL-6/IL-6R、EGF/EGFR 等) 和 STAT3 形成分子复合物可导致 STAT3 激活, 酪氨酸磷酸化的 STAT3 二聚物向细胞核移位进而调控 EMT 相关的目的基因 Twist、Snail、Slug 等^[21]. 通过 JAK/STAT3/Slug 及 JAK/STAT3/Snail 等相关通路, 激活 EMT 相关转录因子转录调控肿瘤细胞的 EMT 过程以及肿瘤的转移和侵袭^[22-23]. STAT3 通路的众多激活因子中以 IL-6 最突出, 而 IL-6 激活的 STAT3 信号通路与头颈部肿瘤、卵巢癌、肝癌、乳腺癌等许多肿瘤的侵袭、转移、耐药密切相关^[24-27]. 并发现 IL-6 可以上调间质表型蛋白在肿瘤细胞中的表达^[28]. 巨噬细胞渗入肿瘤组织后分泌的 IL-8 通过激活 JAK2/STAT3/Snail 通路, 使 E-cadherin 表达下调, Snail 和 N-cadherin 表达上调, 从而促进了 EMT 过程^[29].

3.2 Notch/STAT3/Twist 信号轴与 EMT

Hsu 等^[30]通过实验发现, 人胃腺癌细胞 SC-M1、胚胎肾细胞 HEK293、红白血病 K562 细胞内 Notch 受体 (NIC) 增强了核 STAT3 和 Twist 启动子的相互作用, 进而增强了肿瘤的侵袭、转移. 乳腺癌细胞 MCF-7 和 MCF-10A 中的 Notch1 通过

调控 STAT3 信号通路的活化, 进而上调间质表型 N-cadherin、Vimentin 和 Fibronectin 的表达, 促进

EMT 进程^[31].

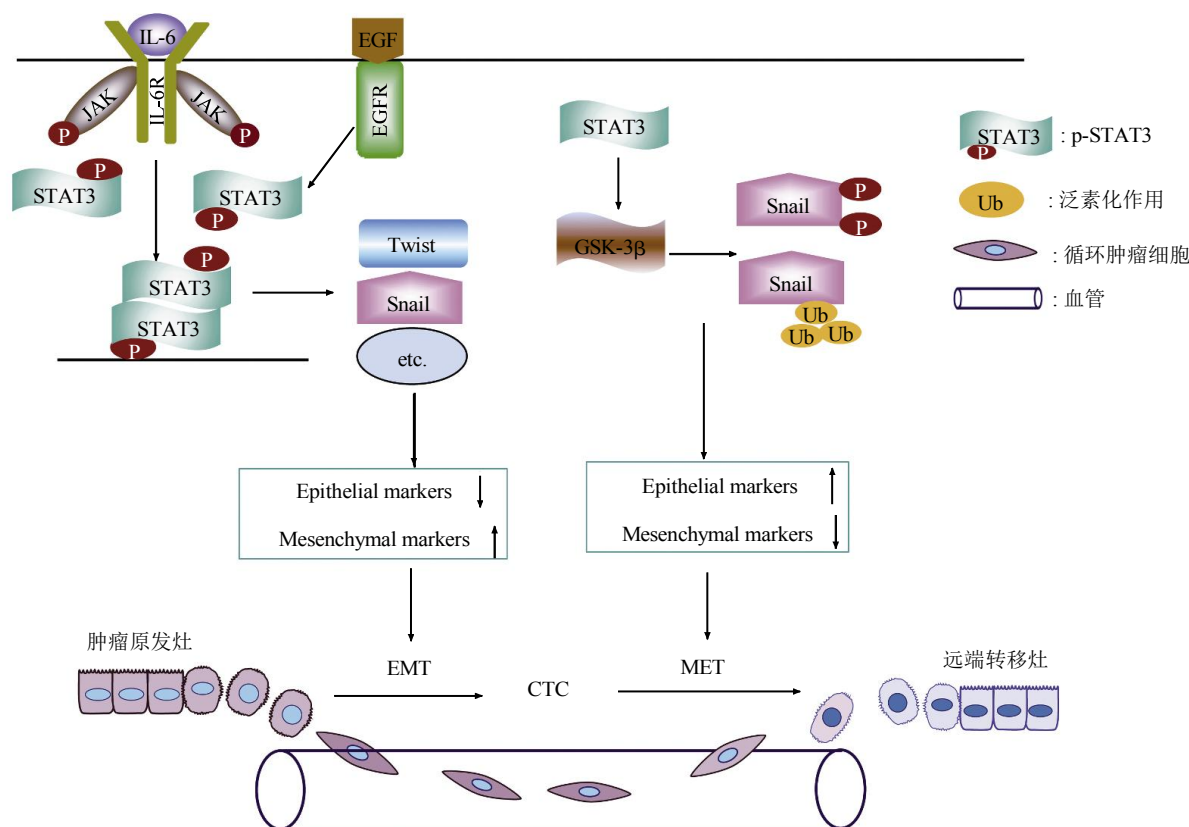


Fig. 1 STAT3 signaling pathway mediates the regulation of EMT related genes

图 1 STAT3 信号通路介导的 EMT 相关基因调控

STAT3 因其作用的身份不同, 对于 EMT 的调节具有两方面作用. 一方面作为转录因子, 在细胞膜上的酪氨酸激酶相关受体与配体结合后, 会诱导 STAT3 磷酸化, p-STAT3 二聚体可以入核绑定 EMT 相关转录因子, 调节其转录, 进而调节 EMT 相关标志蛋白的表达, 诱导 EMT 转化; 另一方面作为分子适配器, STAT3 可以通过持续激活 GSK-3 β 进而诱导 Snail 的泛素化或磷酸化作用, 诱导 MET 过程. 而肿瘤原发细胞经历 EMT 后获得更高的侵袭和转移运动能力, 穿过血管形成 CTCs, 随血流到达远处再穿出血管发生 MET 转化, 形成远端转移灶.

4 STAT3 与 EMT 的相互关系

诸多文献已报道 STAT3 可以促进 EMT 的发生发展. Xiong 等^[32]利用结直肠癌 LOVO 和 SW1116 两个细胞株, 通过敲除 STAT3 显著增加 E-cadherin、降低 N-cadherin 和 Vimentin 在 LOVO CRC 中的表达, 而在低侵袭力的 SW1116 CRC 中过表达 STAT3 得到相反的实验结果. 对 56 例结肠癌患者的研究发现, STAT3 通过抑制 E-cadherin 的表达而加快结肠癌进展^[33].

JAK1, 2/STAT3 通路通过调控 Bcl-2、E-cadherin、VEGF 和 MMPs 等基因的表达影响了肿瘤细胞的活

动^[34]. 在乳腺癌细胞 MCF-7 中稳定过表达 IL-6, 发现 E-cadherin 表达下调, N-cadherin、Vimentin、Snail、Twist 表达上调, 细胞侵袭能力增加, 而抑制 STAT3 后细胞很快死亡^[35]. Twist2 的异源表达导致 STAT3 构成性激活并下调 E-cadherin, 从而激活 EMT 过程, 提示 Twist2 可能是 STAT3 的上游因子^[36]. 在肝癌研究中发现, STAT3 活化后通过介导 EMT 过程增加肝癌细胞的转移和侵袭能力^[37-38]. 正如 Snail 和 STAT3 的上下游关系, Twist 可能也不只是 STAT3 的下游靶基因, 同样在乳腺癌细胞 MDA-MB-231 和 MCF-7 中发现, NDRG2 可以通过下调 Snail 的表达来抑制由 EGF/STAT3 信号通

路介导的 EMT 转化^[39].

可以看出, 肿瘤细胞中 STAT3 被上游因子激活后发生磷酸化, p-STAT3 可以作用于核内的靶基因, 调控其转录, 进而调节 EMT 相关基因的表达, 使肿瘤细胞发生由上皮表型向间质表型的转化, 增加了恶性肿瘤的转移和侵袭力.

更有趣的是, 当 STAT3 作为一种分子适配器(adaptor)而非转录因子作用时, 可抑制 EMT. Musteanu 等^[40]在 APC 突变小鼠晚期肠道肿瘤的研究中发现, STAT3 可以通过肿瘤细胞黏附分子 CEACAM1 来负向调节肿瘤侵袭的进程. De Jong 等^[41]证明了在 APC 基因突变小鼠及体外结直肠癌细胞株中, STAT3 作为分子适配器可以调节糖原合成激酶 3(glycogen synthase kinase 3 β , GSK-3 β)的活性, 通过激活 GSK-3 β 来促进 Snail 发生泛素化作用, 显著下调 Snail 的表达水平, 而在 GSK-3 β 呈持续激活状态的 HCT116 细胞株中, STAT3 缺失所导致的 Snail 表达增加和侵袭性增强也可以被逆转. 非转录形式的 STAT3 可能为 EMT 的抑制因子. STAT3 对肠上皮肿瘤获取侵袭性表型的抑制作用提示, 对于进展性结肠癌患者应谨慎地使用 STAT3 抑制剂.

这些来自体外培养肿瘤细胞株的研究显示, 激活状态的 STAT3 可以促进 EMT 的发生, 而非转录形式的 STAT3 可能为 EMT 的抑制因子. 但 STAT3 与 EMT 转录因子上下游的关系以及是否存在环状激活机制均不清楚.

Table 1 STAT3 pathway activation and the related downstream genes			
表 1 STAT3 通路激活及相关下游基因			
STAT3 信号通路的激活	肿瘤相关活动	相关 STAT3 下游基因	相关参考文献
IL-6/IL-6R、NF- κ B VEGF/ VEGFR	增殖, 存活	Cyclin D1、cMyc、Bcl-xl、P53 等	[42-46]
IL-6/IL-6R、EGF/EGFR、PDGF、VEGF/VEGFR、Notch 受体、Oncostatin M 及受体、NF- κ B	转移, 侵袭	MMP2、MMP7、MMP9、MMP14、Rho 等	[47-53]
IL-6/IL-6R、EGF/EGFR	抵抗凋亡	Bcl-2、Mcl-1、C-IAP2、Bcl-xl、HIF-1 α 等	[54-57]
IL-6/IL-6R、EGF/EGFR、Oncostatin M 及受体	血管生成	VEGF、bFGF 等	[52, 58-60]

5 STAT3、EMT 与 CTCs

循环肿瘤细胞(circulating tumor cells, CTCs)是肿瘤组织细胞自发或因不当诊疗操作而脱落进入血液循环形成的, 通常被认为是与肿瘤的转移、复发及耐药密切相关^[61-62]. 并在肿瘤治疗方案的制定和恶性肿瘤进展的检测方面有着重要的作用^[61].

在乳腺癌病人中发现当全血的 CTCs 大于或等于 5 个 /7.5 ml 时, 病人的无进展生存期和总生存期明显缩短^[63]. 转移性乳腺癌患者的 CTCs 中大多可以检测到 EMT 相关标志分子 Twist 和 Vimentin 的高表达, 而且发现核内 Twist 高表达同时伴随 ALDH1 高表达的细胞转移能力较高, 具有肿瘤干细胞特性^[64-65]. 在子宫内膜癌、乳腺癌、前列腺癌等肿瘤的早期到晚期病例中发现 EMT 标志的 CTCs 数量增加^[66]. 而 CTCs 发生 EMT 后往往导致乳腺癌患者临床疗效差^[67]. Wu 等^[68]提出, 利用 RNA-ISH 方法依据 EMT 相关标志分子对 CTCs 进行分类, 并检测了包括肝癌、乳腺癌、结肠癌、胃癌等 107 位患者的 CTCs, 发现间质性 CTCs 在各种肿瘤转移患者的外周循环血液中占据更大的比例, 提出利用 EMT 标志分子确定 CTCs 的侵袭性可以为临床治疗提供更好的依据. 在肝癌细胞患者的 CTCs 中发现, EMT 相关转录因子 Twist 和间质标志 Vimentin 也存在高表达, 并且与门静脉癌栓塞有关, Twist 和 Vimentin 的表达水平可以作为评估预后和转移的生物学指标^[69]. Shiota 等^[70]报道前列腺癌肿瘤细胞中 Hsp27 作为 IL6/STAT3/Twist 信号通路诱导 EMT 过程的关键因子, 沉默 Hsp27 后, 患者外周血 CTCs 数目明显减少. 在骨肉瘤的研究中发现, IL-6 和 JAK/STAT3 抑制剂可以明显减少 CTCs 在早期肿瘤中播散^[71].

EMT 与 CTCs 之间存在紧密联系^[72], 肿瘤细胞从组织脱落进入血液循环后, 经历了 EMT 转化的 CTCs 更多地具有干细胞特性, 这样的 CTCs 可以更加容易地穿过血管内皮细胞并获得更高的运动以

及抗凋亡能力, 随血液循环到达远处的 CTCs 穿出血管后发生 MET 转化进而形成远端转移灶, 鉴于 STAT3 信号通路在 EMT 过程中发挥重要作用, 提示我们 STAT3、EMT、CTCs 三者之间存在着密切的相互关系, 并且可能是导致恶性肿瘤难以治疗的原因之一(图 1)。但是, 关于 STAT3 与 EMT 转录因子交互作用如何影响乳腺癌转移时的体内循环肿瘤细胞, 目前尚无足够实验数据。

6 STAT3 与肿瘤的治疗

Bu 等^[73]实验发现 GRIM-19 的表达通过抑制 STAT3 积聚, 增加了 BGC-803 胃癌细胞株对放疗的敏感性, 促进细胞的凋亡。用 RNAi 技术靶向沉默 STAT3 基因, 可以作为非小细胞肺癌的基因治疗手段^[74]。利用慢病毒载体转染特定小鼠 STAT3 干扰 RNA 到小鼠乳腺癌细胞系 4T1 中, 来抑制 STAT3 蛋白的表达, 发现下游 c-myc 减少 75%, 上游 Scr 磷酸化作用也受限制, AKT 磷酸化作用减少^[75]。利用 STAT3 抑制剂抑制 STAT3 后可以抑制结肠癌和肝癌细胞的生存能力、集落形成和迁移^[76]。

7 总结与展望

STAT3 作为信号转导和转录调控因子, 已证实与 EMT 参与的许多肿瘤转移和侵袭过程密切相关, 并作为癌症研究的一个靶分子受到广泛的关注。研究 STAT3 相关通路与 EMT 管家转录因子的相互作用及其对循环肿瘤细胞的影响, 对于肿瘤的诊断和治疗具有重要意义。临床上可以探索通过阻断 STAT3 上游信号蛋白对 STAT3 的激活、干扰 STAT3 内部结构、利用 RNA 干扰技术阻断 STAT3 的过表达等方法来影响 EMT 调控的肿瘤侵袭和转移过程, 将为肿瘤治疗提供更为有效的方法。更有意义的是, 研究者们正试图建立直接测定循环肿瘤细胞中活化 STAT3 的水平^[77], 一方面直接作为循环肿瘤细胞的分子标志, 用于肿瘤转移的诊断; 另一方面则可以用于评价 STAT3 靶向治疗效果的指标。

参 考 文 献

- [1] Qi Q R, Yang Z M. Regulation and function of signal transducer and activator of transcription 3. *World Journal of Biological Chemistry*, 2014, **5**(2): 231-239
- [2] Smith B N, Bhowmick N A. Role of EMT in metastasis and therapy resistance. *Journal of Clinical Medicine*, 2016, **5**(2): 17
- [3] Micalizzi D S, Farabaugh S M, Ford H L. Epithelial-mesenchymal transition in cancer: parallels between normal development and tumor progression. *Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia*, 2010, **15**(2): 117-134
- [4] Yang J, Mani S A, Donaher J L, *et al.* Twist, a master regulator of morphogenesis, plays an essential role in tumor metastasis. *Cell*, 2004, **117**(7): 927-939
- [5] Foubert E, De Craene B, Berx G. Key signalling nodes in mammary gland development and cancer. The Snail1-Twist1 conspiracy in malignant breast cancer progression. *Breast Cancer Research: BCR*, 2010, **12**(3): 206
- [6] Tsai J H, Yang J. Epithelial-mesenchymal plasticity in carcinoma metastasis. *Genes & Development*, 2013, **27**(20): 2192-2206
- [7] Zammarchi F, De Stanchina E, Bournazou E, *et al.* Antitumorigenic potential of STAT3 alternative splicing modulation. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, **108**(43): 17779-17784
- [8] Wegrzyn J, Potla R, Chwae Y J, *et al.* Function of mitochondrial Stat3 in cellular respiration. *Science*, 2009, **323**(5915): 793-797
- [9] Tateno T, Asa S L, Zheng L, *et al.* The FGFR4-G388R polymorphism promotes mitochondrial STAT3 serine phosphorylation to facilitate pituitary growth hormone cell tumorigenesis. *PLoS Genetics*, 2011, **7**(12): e1002400
- [10] Shuai K, Liu B. Regulation of gene-activation pathways by PIAS proteins in the immune system. *Nature Reviews Immunology*, 2005, **5**(8): 593-605
- [11] Saitoh M, Endo K, Furuya S, *et al.* STAT3 integrates cooperative Ras and TGF-beta signals that induce Snail expression. *Oncogene*, 2016, **35**(8): 1049-1057
- [12] Carow B, Rottenberg M E. SOCS3, a major regulator of infection and inflammation. *Frontiers in Immunology*, 2014, **5**: 58
- [13] David M, Naudin C, Letourneur M, *et al.* Suppressor of cytokine signaling 1 modulates invasion and metastatic potential of colorectal cancer cells. *Molecular Oncology*, 2014, **8**(5): 942-955
- [14] Shen N, Huang X, Li J. Upregulation of miR-129-5p affects laryngeal cancer cell proliferation, invasiveness, and migration by affecting STAT3 expression. *Tumour Biology: the Journal of the International Society for Oncodevelopmental Biology and Medicine*, 2016, **37**(2): 1789-1796
- [15] Sibbesen N A, Kopp K L, Litvinov I V, *et al.* Jak3, STAT3, and STAT5 inhibit expression of miR-22, a novel tumor suppressor microRNA, in cutaneous T-Cell lymphoma. *Oncotarget*, 2015, **6**(24): 20555-20569
- [16] Wang X, Qiu W, Zhang G, *et al.* MicroRNA-204 targets JAK2 in breast cancer and induces cell apoptosis through the STAT3/BCI-2/survivin pathway. *International Journal of Clinical and Experimental Pathology*, 2015, **8**(5): 5017-5025
- [17] Zhou R J, Xu X Y, Liu B X, *et al.* Growth-inhibitory and chemosensitizing effects of microRNA-31 in human glioblastoma multiforme cells. *International Journal of Molecular Medicine*, 2015, **36**(4): 1159-1164
- [18] Deng X, Zhao Y, Wang B. miR-519d-mediated downregulation of STAT3 suppresses breast cancer progression. *Oncology Reports*,

- 2015, **34**(4): 2188–2194
- [19] Guo L, Chen C, Shi M, *et al.* Stat3-coordinated Lin-28-let-7-HMGA2 and miR-200-ZEB1 circuits initiate and maintain oncostatin M-driven epithelial-mesenchymal transition. *Oncogene*, 2013, **32**(45): 5272–5282
- [20] Zhang P, Bai H, Liu G, *et al.* MicroRNA-33b, upregulated by EF24, a curcumin analog, suppresses the epithelial-to-mesenchymal transition (EMT) and migratory potential of melanoma cells by targeting HMGA2. *Toxicology Letters*, 2015, **234**(3): 151–161
- [21] Wendt M K, Balanis N, Carlin C R, *et al.* STAT3 and epithelial-mesenchymal transitions in carcinomas. *JAK-STAT*, 2014, **3**(1): e28975
- [22] Kang F B, Wang L, Jia H C, *et al.* B7-H3 promotes aggression and invasion of hepatocellular carcinoma by targeting epithelial-to-mesenchymal transition *via* JAK2/STAT3/Slug signaling pathway. *Cancer Cell International*, 2015, **15**: 45
- [23] Liu R Y, Zeng Y, Lei Z, *et al.* JAK/STAT3 signaling is required for TGF-beta-induced epithelial-mesenchymal transition in lung cancer cells. *International Journal of Oncology*, 2014, **44**(5): 1643–1651
- [24] Johnston P A, Sen M, Hua Y, *et al.* HCS campaign to identify selective inhibitors of IL-6-induced STAT3 pathway activation in head and neck cancer cell lines. *Assay and Drug Development Technologies*, 2015, **13**(7): 356–376
- [25] 孙 艳, 底建敏, 陈春宁. Survivin 反义寡核苷酸对人卵巢癌细胞裸鼠腹腔移植瘤生长的影响与机制. *南方医科大学学报*, 2015, **35**(8): 1211–1214
- Sun Y, Di J M, Chen C N. *Journal of Southern Medical University*, 2015, **35**(8): 1211–1214
- [26] Jung I H, Choi J H, Chung Y Y, *et al.* Predominant activation of JAK/STAT3 pathway by interleukin-6 is implicated in hepatocarcinogenesis. *Neoplasia*, 2015, **17**(7): 586–597.
- [27] Kim M S, Lee W S, Jeong J, *et al.* Induction of metastatic potential by TrkB *via* activation of IL6/JAK2/STAT3 and PI3K/AKT signaling in breast cancer. *Oncotarget*, 2015, **6**(37): 40158–40171.
- [28] Jiang G X, Cao L P, Kang P C, *et al.* Interleukin6 induces epithelialmesenchymal transition in human intrahepatic biliary epithelial cells. *Molecular Medicine Reports*, 2016, **13** (2): 1563–1569
- [29] Fu X T, Dai Z, Song K, *et al.* Macrophage-secreted IL-8 induces epithelial-mesenchymal transition in hepatocellular carcinoma cells by activating the JAK2/STAT3/Snail pathway. *International Journal of Oncology*, 2015, **46**(2): 587–596
- [30] Hsu K W, Hsieh R H, Huang K H, *et al.* Activation of the Notch1/STAT3/Twist signaling axis promotes gastric cancer progression. *Carcinogenesis*, 2012, **33**(8): 1459–1467
- [31] Zhang X, Zhao X, Shao S, *et al.* Notch1 induces epithelial-mesenchymal transition and the cancer stem cell phenotype in breast cancer cells and STAT3 plays a key role. *International Journal of Oncology*, 2015, **46**(3): 1141–1148
- [32] Xiong H, Hong J, Du W, *et al.* Roles of STAT3 and ZEB1 proteins in E-cadherin down-regulation and human colorectal cancer epithelial-mesenchymal transition. *The Journal of Biological Chemistry*, 2012, **287**(8): 5819–5832
- [33] 钟宝元, 刘清泉, 刘艳秀, 等. STAT3 及其磷酸化 STAT3 和 E 钙黏蛋白在结直肠癌组织中的表达及意义. *中国胃肠外科杂志*, 2014, **17**(6): 594–597
- Zhong B, Liu Q, Liu Y, *et al.* *Chinese Journal of Gastrointestinal Surgery*, 2014, **17**(6): 594–597
- [34] Xiong H, Zhang Z G, Tian X Q, *et al.* Inhibition of JAK1, 2/STAT3 signaling induces apoptosis, cell cycle arrest, and reduces tumor cell invasion in colorectal cancer cells. *Neoplasia*, 2008, **10** (3): 287–297
- [35] Sullivan N J, Sasser A K, Axel A E, *et al.* Interleukin-6 induces an epithelial-mesenchymal transition phenotype in human breast cancer cells. *Oncogene*, 2009, **28**(33): 2940–2947
- [36] Unno J, Masamune A, Hamada S, *et al.* The zinc transporter LIV-1 is a novel regulator of stemness in pancreatic cancer cells. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*, 2014, **49**(2): 215–221
- [37] Zhang C H, Guo F L, Xu G L, *et al.* STAT3 activation mediates epithelial-to-mesenchymal transition in human hepatocellular carcinoma cells. *Hepato-Gastroenterology*, 2014, **61** (132): 1082–1089
- [38] Zhang C, Guo F, Xu G, *et al.* STAT3 cooperates with Twist to mediate epithelial-mesenchymal transition in human hepatocellular carcinoma cells. *Oncology Reports*, 2015, **33**(4): 1872–1882
- [39] Kim M J, Lim J, Yang Y, *et al.* N-myc downstream-regulated gene 2 (NDRG2) suppresses the epithelial-mesenchymal transition (EMT) in breast cancer cells *via* STAT3/Snail signaling. *Cancer Letters*, 2014, **354**(1): 33–42
- [40] Musteanu M, Blaas L, Mair M, *et al.* Stat3 is a negative regulator of intestinal tumor progression in Apc(Min) mice. *Gastroenterology*, 2010, **138**(3): 1003–1011 e1001–1005
- [41] De Jong P R, Mo J H, Harris A R, *et al.* STAT3: an anti-invasive factor in colorectal cancer? *Cancers*, 2014, **6**(3): 1394–1407
- [42] Niu G, Wright K L, Ma Y, *et al.* Role of Stat3 in regulating p53 expression and function. *Molecular and Cellular Biology*, 2005, **25**(17): 7432–7440
- [43] Bowman T, Broome M A, Sinibaldi D, *et al.* Stat3-mediated Myc expression is required for Src transformation and PDGF-induced mitogenesis. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, **98**(13): 7319–7324
- [44] Catlett-Falcone R, Landowski T H, Oshiro M M, *et al.* Constitutive activation of Stat3 signaling confers resistance to apoptosis in human U266 myeloma cells. *Immunity*, 1999, **10**(1): 105–115
- [45] Niu G, Wright K L, Huang M, *et al.* Constitutive Stat3 activity up-regulates VEGF expression and tumor angiogenesis. *Oncogene*, 2002, **21**(13): 2000–2008
- [46] Chaturvedi M M, Sung B, Yadav V R, *et al.* NF-kappaB addiction and its role in cancer: 'one size does not fit all'. *Oncogene*, 2011, **30**(14): 1615–1630
- [47] Xie T X, Wei D, Liu M, *et al.* Stat3 activation regulates the expression of matrix metalloproteinase-2 and tumor invasion and metastasis. *Oncogene*, 2004, **23**(20): 3550–3560
- [48] Li H, Huang C, Huang K, *et al.* STAT3 knockdown reduces pancreatic cancer cell invasiveness and matrix metalloproteinase-7

- expression in nude mice. *PLoS One*, 2011, **6**(10): e25941
- [49] Dechow T N, Pedranzini L, Leitch A, *et al.* Requirement of matrix metalloproteinase-9 for the transformation of human mammary epithelial cells by Stat3-C. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, **101**(29): 10602–10607
- [50] Banerjee K, Resat H. Constitutive activation of STAT3 in breast cancer cells: a review. *International Journal of Cancer Journal International du Cancer*, 2016, **138**(11): 2570–2578
- [51] Weng M T, Tsao P N, Lin H L, *et al.* Hes1 increases the invasion ability of colorectal cancer cells *via* the STAT3-MMP14 pathway. *PLoS One*, 2015, **10**(12): e0144322
- [52] Zhu M, Che Q, Liao Y, *et al.* Oncostatin M activates STAT3 to promote endometrial cancer invasion and angiogenesis. *Oncology Reports*, 2015, **34**(1): 129–138
- [53] Mcfarland B C, Hong S W, Rajbhandari R, *et al.* NF-kappaB-induced IL-6 ensures STAT3 activation and tumor aggressiveness in glioblastoma. *PLoS One*, 2013, **8**(11): e78728
- [54] Epling-Burnette P K, Zhong B, Bai F, *et al.* Cooperative regulation of Mcl-1 by Janus kinase/stat and phosphatidylinositol 3-kinase contribute to granulocyte-macrophage colony-stimulating factor-delayed apoptosis in human neutrophils. *Journal of Immunology*, 2001, **166**(12): 7486–7495
- [55] Epling-Burnette P K, Liu J H, Catlett-Falcone R, *et al.* Inhibition of STAT3 signaling leads to apoptosis of leukemic large granular lymphocytes and decreased Mcl-1 expression. *The Journal of Clinical Investigation*, 2001, **107**(3): 351–362
- [56] Bharti R, Dey G, Ojha P K, *et al.* Diacerein-mediated inhibition of IL-6/IL-6R signaling induces apoptotic effects on breast cancer. *Oncogene*, 2015[Epub ahead of Print](DOI:10.1038/onc.2015.466)
- [57] Yar Saglam A S, Alp E, Elmazoglu Z, *et al.* Treatment with cucurbitacin B alone and in combination with gefitinib induces cell cycle inhibition and apoptosis *via* EGFR and JAK/STAT pathway in human colorectal cancer cell lines. *Human & Experimental Toxicology*, 2016, **35**(5): 526–543
- [58] Yang X, Lin A, Jiang N, *et al.* Interleukin-6 trans-signaling induces VEGF synthesis partly *via* Janus kinases-STAT3 pathway in human mesothelial cells. *Nephrology*, 2016 [Epub ahead of Print] (DOI: 10.1111/nep.12746)
- [59] Peixoto P, Blomme A, Costanza B, *et al.* HDAC7 inhibition resets STAT3 tumorigenic activity in human glioblastoma independently of EGFR and PTEN: new opportunities for selected targeted therapies. *Oncogene*, 2016 [Epub ahead of Print] (DOI: 10.1038/onc.2015.506)
- [60] Huang S. Regulation of metastases by signal transducer and activator of transcription 3 signaling pathway: clinical implications. *Clinical Cancer Research: an Official Journal of the American Association for Cancer Research*, 2007, **13**(5): 1362–1366
- [61] Mitra A, Mishra L, Li S. EMT, CTCs and CSCs in tumor relapse and drug-resistance. *Oncotarget*, 2015, **6**(13): 10697–10711
- [62] Saito T, Mimori K. Cancer stemness and circulating tumor cells. *Nihon Rinsho Japanese Journal of Clinical Medicine*, 2015, **73**(5): 806–810
- [63] Moussavi-Harami S F, Wisinski K B, Beebe D J. Circulating tumor cells in metastatic breast cancer: a prognostic and predictive marker. *Journal of Patient-Centered Research and Reviews*, 2014, **1**(2): 85–92
- [64] Giordano A, Gao H, Anfossi S, *et al.* Epithelial-mesenchymal transition and stem cell markers in patients with HER2-positive metastatic breast cancer. *Molecular Cancer Therapeutics*, 2012, **11**(11): 2526–2534
- [65] Papadaki M A, Kallergi G, Zafeiriou Z, *et al.* Co-expression of putative stemness and epithelial-to-mesenchymal transition markers on single circulating tumour cells from patients with early and metastatic breast cancer. *BMC Cancer*, 2014, **14**: 651
- [66] Alonso-Alconada L, Muinelo-Romay L, Madisoo K, *et al.* Molecular profiling of circulating tumor cells links plasticity to the metastatic process in endometrial cancer. *Molecular Cancer*, 2014, **13**: 223
- [67] Hollier B G, Evans K, Mani S A. The epithelial-to-mesenchymal transition and cancer stem cells: a coalition against cancer therapies. *Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia*, 2009, **14**(1): 29–43
- [68] Wu S, Liu S, Liu Z, *et al.* Classification of circulating tumor cells by epithelial-mesenchymal transition markers. *PLoS One*, 2015, **10**(4): e0123976
- [69] Li Y M, Xu S C, Li J, *et al.* Epithelial-mesenchymal transition markers expressed in circulating tumor cells in hepatocellular carcinoma patients with different stages of disease. *Cell Death & Disease*, 2013, **4**(10): e831
- [70] Shiota M, Bishop J L, Nip K M, *et al.* Hsp27 regulates epithelial mesenchymal transition, metastasis, and circulating tumor cells in prostate cancer. *Cancer Research*, 2013, **73**(10): 3109–3119
- [71] Zhang Y, Ma Q, Liu T, *et al.* Interleukin-6 suppression reduces tumour self-seeding by circulating tumour cells in a human osteosarcoma nude mouse model. *Oncotarget*, 2016, **7**(1): 446–458
- [72] Brabletz T. EMT and MET in metastasis: where are the cancer stem cells? *Cancer Cell*, 2012, **22**(6): 699–701
- [73] Bu X, Zhao C, Wang W, *et al.* GRIM-19 inhibits the STAT3 signaling pathway and sensitizes gastric cancer cells to radiation. *Gene*, 2013, **512**(2): 198–205
- [74] Chang L, Gong F, Cai H, *et al.* Combined RNAi targeting human Stat3 and ADAM9 as gene therapy for non-small cell lung cancer. *Oncology Letters*, 2016, **11**(2): 1242–1250
- [75] Ling X, Arlinghaus R B. Knockdown of STAT3 expression by RNA interference inhibits the induction of breast tumors in immunocompetent mice. *Cancer Research*, 2005, **65**(7): 2532–2536
- [76] Chongqiang Z, Wenlong W, Wenying Y, *et al.* A novel small molecule STAT3 inhibitor, LY5, inhibits cell viability, colony formation, and migration of colon and liver cancer cells. *Oncotarget*, 2016, **7**(11): 12917–12926
- [77] Lowe A C, Pignon J C, Carvo I, *et al.* Young investigator challenge: Application of cytologic techniques to circulating tumor cell specimens: Detecting activation of the oncogenic transcription factor STAT3. *Cancer Cytopathology*, 2015, **123**(12): 696–706

Roles of STAT3 in Regulation of EMT-mediated Phenotypic Plasticity and Its Effects on Circulating Tumor Cells and Tumor Invasion and Metastases*

JIANG Yu^{1,2}, DING Yi¹, LI Wen-Qing^{1,2}, LU Zhong^{1,2}, ZHANG Jian³, YANG Xiao-Yi⁴, WANG Li-Hua^{1,2}**

¹ *Laboratory of Molecular Oncology of Weifang Medical College, Weifang 261053;*

² *Affiliated Hospital, Weifang Medical College, Weifang 261053;*

³ *Pharmacy School, Shandong University, Jinan 250012; ⁴ Taishan Medical College, Taian 271018)*

Abstract The signal transduction and transcriptional activation factor 3 (STAT3) plays important roles in many physiological and pathological processes. Although STAT3 is not a classic member of master transcription factors of epithelial-mesenchymal transition (EMT), STAT3 has recently also been documented to be a mediator of tumor cell phenotypic plasticity, in turn affecting formation and phenotypic characteristic of circulating tumor cells, which are associated with invasion and metastases of tumor cells. Activation of STAT3 can translocate into the nucleus and bind to specific promoter sequences of various EMT master transcription factors such as Twist, Snail, and Slug, resulting in the initiation and resolution of EMT programs in malignant cells, which promotes invasion and metastases of developing tumors. On the other hand, inactivated STAT3 may also function as a molecular adaptor to inhibit EMT programs. Therefore, understanding of the interaction between STAT3 and EMT and its effects on circulating tumor cells may provide new approaches for treatment of metastatic carcinomas.

Key words STAT3, EMT, malignant tumor, signaling pathways, CTCs

DOI: 10.16476/j.pibb.2016.0049

* This work was supported by grants from The National Natural Science Foundation of China (81472489) and Shandong Province Science and Technology Development Plan Item (2014GGB14403).

**Corresponding author.

Tel: 86-536-8462126, E-mail: wanglihua@wfmc.edu.cn

Received: February 21, 2016 Accepted: May 4, 2016