

IL-6 和 STAT3 在结肠癌组织中的表达及意义

张晓芹, 段丽芳, 党琳, 许小凡, 张红

(陕西中医药大学病理生理学教研室, 陕西 咸阳 712046)

【摘要】 目的 检测白介素 6 (IL-6) 和信号转导及转录激活因子 3 (STAT3) 在结肠癌和癌旁组织中的表达及其在结肠癌诊治中的临床意义。方法 收集陕西中医药大学第二附属医院 2012 年 3 月至 2014 年 12 月经病理学诊断的 48 例结肠癌患者的手术标本, 采用免疫组织化学法检测癌及癌旁组织中 IL-6 和 STAT3 的表达, 分析两者表达的相关性。结果 结肠癌组织中 IL-6 的阳性表达率为 91.66%, 而癌旁组织阳性表达率仅 6.25%, 两者比较差异有显著统计学意义 ($P < 0.01$); 结肠癌组织中 STAT3 的阳性表达率为 95.83%, 也明显高于癌旁组织的 4.17%, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 结肠癌组织中 STAT3 与 IL-6 的表达呈正相关 ($r = 0.765, P < 0.01$)。结论 IL-6 和 STAT3 参与结肠癌的发生发展, 并可作为结肠癌诊断的重要参考及治疗的靶点。

【关键词】 结肠癌; 白介素 6; 信号转导及转录激活因子 3

【中图分类号】 R735.3⁵ **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1003-6350(2017)02-0185-03

Expression and significance of IL-6, STAT3 in colon carcinoma tissue. ZHANG Xiao-qin, DUAN Li-fang, DANG Lin, XU Xiao-fan, ZHANG Hong. Department of Pathophysiology, Shaanxi University of Chinese Medicine, Xianyang 712046, Shaanxi, CHINA

【Abstract】 Objective To detect the expression of interlenkin-6 (IL-6) and signal transducer and activator of transcription 3 (STAT3) in colon carcinoma tissue and paracancerous tissue, and to analyze its clinical significance in the diagnosis and treatment of colon carcinoma. **Methods** Forty-eight samples of colon carcinoma confirmed by pathology in the Second Affiliated Hospital of Shaanxi University of Chinese Medicine from March 2012 to December 2014 were collected. The expression of IL-6 and STAT3 in colon cancer tissue and paracancerous tissue were detected by immunohistochemistry. The correlation between the two were analyzed. **Results** The positive expression rate of IL-6 in colon carcinoma tissue was 91.66%, which was higher than that in paracancerous tissue of 6.25% ($P < 0.01$). The positive expression rate of STAT3 in colon carcinoma tissue was 95.83%, which was significantly higher than that in paracancerous tissue of 4.17% ($P < 0.05$). The expression of STAT3 was positively correlated with IL-6 in colon carcinoma tissue. **Conclusion** IL-6 and STAT3 are involved in the occurrence and development of colon carcinoma, which can be used as an important reference for colon carcinoma diagnosis and therapeutic targets.

【Key words】 Colon carcinoma; Interlenkin-6 (IL-6); Signal transducer and activator of transcription 3 (STAT3)

基金项目: 陕西中医药大学培育基金(编号: 2016PY09)

通讯作者: 张红。E-mail: zhangh1227@163.com

综上所述, 采用 1 h、3 h 及 6 h 海水浸泡兔膝关节的造模方法可以提高关节液中的炎性因子水平, 但 6 h 海水浸泡的实验动物存活率较低, 因而 1 h 和 3 h 的海水浸泡时间可以满足兔膝关节海水浸泡损伤的造模需要, 而 3 h 的浸泡时间更容易引发造模所需的炎症反应。该兔膝关节海水浸泡损伤模型可应用于进一步研究, 在损伤分型、病理改变和早期救治等方面发挥作用。

参考文献

[1] 张雪非, 吕荣, 陈士明, 等. 海水浸泡爆炸伤关节滑膜修复的研究[J]. 中国骨与关节损伤杂志, 2006, 21(12): 980-982.

[2] 张雪非, 刘文华, 史惠强, 等. 肢体关节爆炸伤并海水浸泡后的创伤反应[J]. 中华创伤骨科杂志, 2005, 7(8): 761-763.

[3] Shapiro L, Dinarello CA. Hyperosmotic stress as stimulant for proin-

flammatory cytokine production [J]. Exp Cell Res, 1997, 231(2): 354-362.

[4] 洪建明, 刘敏, 胡学峰. 海水浸泡感染后皮肤软组织缺损修复的异性观察[J]. 中国矫形外科杂志, 2013, 21(15): 1569-1571.

[5] 宁浩勇, 孟宇宏, 刘肖, 等. 创伤合并海水浸泡后愈合过程延迟的因素分析[J]. 转化医学杂志, 2013, 2(5): 272-276.

[6] 林建宁, 阮狄克, 杨伟志. 模拟海水浸泡开放骨折的实验研究[J]. 中华航海医学与高气压医学杂志, 2006, 13(3): 140-142.

[7] 杨伟志, 阮狄克, 林建宁. 海水浸泡股骨开放性骨折的早期救治[J]. 中华创伤骨科杂志, 2005, 7(3): 250-253.

[8] 张炎, 刘刚, 王育红, 等. 肿瘤坏死因子- α 、白介素-6、丙二醛、超氧化物歧化酶在大鼠腹腔海水浸泡伤中的表达[J]. 实用医学杂志, 2009, 25(22): 3764-3766.

[9] 刘瑾红, 韩善桥. 海战伤细菌感染特点及抗菌药物的应用[J]. 人民军医, 2014, 57(10): 1043-1044.

(收稿日期: 2016-07-07)

结肠癌作为消化道常见的恶性肿瘤,近年来的发病率不断上升,结肠癌的死亡率在欧美国家已上升至肿瘤的第 2 位;中国结肠癌的发病率已上升至肿瘤的第 4 位^[1]。目前结肠癌的治疗主要是以外科手术为主的综合疗法,但术后 5 年生存率仅为 50%左右,而化学疗法毒性大、敏感度低^[2],使患者生存质量下降。因此,进一步探讨结肠癌的发病机制,特别是研究信号通路对肿瘤细胞增殖与凋亡的调控,进而从分子水平寻求治疗靶点成为目前研究的重点。白介素 6 (interleukin-6, IL-6) 和信号转导及转录激活因子 3 (signal transducer and activator of transcription 3, STAT3) 是目前备受关注的调控结肠癌发病的重要信号通路,但其在结肠癌中是否存在异常激活,及两者之间的确切关系尚不清楚。本研究收集 48 例结肠癌患者的手术标本,检测 IL-6 和 STAT3 在结肠癌及癌旁组织中的表达,旨在探究 IL-6 和 STAT3 在结肠癌诊治中的临床意义。

1 材料与方法

1.1 一般材料 收集 2012 年 3 月至 2014 年 12 月在陕西中医药大学第二附属医院手术切除并经病理学诊断的结肠癌标本 48 例,其中男性 32 例,女性 16 例,年龄 42~76 岁。所有病例术前均未接受放射线及药物治疗,组织学类型有高、中、低分化的结肠癌。

1.2 主要试剂 兔抗人 IL-6 多克隆 IgG、STAT3 多克隆 IgG 均购自于 Santa Cruz 公司,羊抗兔 SABC 即用型二抗试剂盒及 DAB 显色剂购自博士德公司。

1.3 实验方法 所用标本均经 10% 甲醛固定,石蜡包埋,4 μm 连续切片,切片经二甲苯、梯度酒精脱蜡至水,阻断内源性过氧化物酶用 3% 的双氧水;枸橼酸钠热抗原修复 10 min;冷却后加 5% 山羊血清室温下封闭 30 min;滴加一抗(分别为:兔抗人 IL-6 抗体 1:300;STAT3 抗体 1:500),4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜,磷酸盐缓冲液(PBS)冲洗 3 次,每次 5 min;即用型羊抗兔二抗孵育 2 h,PBS 冲洗 3 次,每次 5 min;滴加 SABC 37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 30 min,PBS 冲洗 3 次,每次 5 min。DAB 显色,镜下控制染色程度;蒸馏水冲洗后以苏木精进行复染,脱水、透明后封片,显微镜下观察 IL-6 和 STAT3 的表达,计数并采集图像。

1.4 结果判定 IL-6 为胞浆表达,以细胞浆中出现棕黄色颗粒为阳性;STAT3 为核表达,以细胞核出现棕黄色颗粒为阳性,细胞阳性率的界定采用如下方法:在每张切片中随机选取高倍视野($\times 400$) 10 个,每个视野计数 100 个细胞,记录阳染细胞的数量,累加各个视野的阳染细胞总数,计算细胞的阳性率,阳性细胞数 $\geq 10\%$ 为(+).

1.5 统计学方法 应用 SPSS11.0 统计软件进行数据分析,计数资料采用 χ^2 检验,采用 Spearman 分析 STAT3 与 IL-6 表达相关性,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 IL-6 表达定位 IL-6 表达定位于细胞浆,阳性染色为黄色或棕黄色颗粒,48 例结肠癌中 44 例呈现 IL-6 的阳性表达,阳性表达率为 91.66%,而癌旁组织阳性表达率仅为 6.25%,两者比较差异有显著统计学意义($P < 0.01$),见图 1。

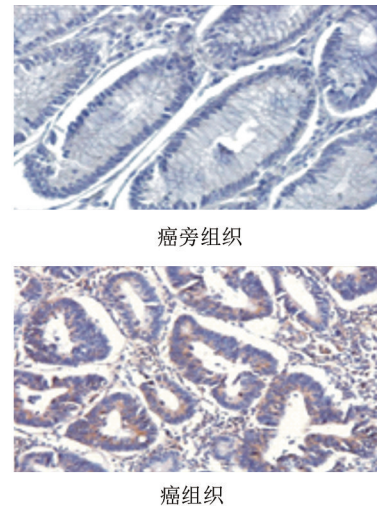


图 1 IL-6 在结肠癌及癌旁组织中的表达(IHC, $\times 200$)

2.2 STAT3 表达定位 STAT3 表达定位于细胞核中,阳性表达为黄色或棕黄色颗粒,48 例结肠癌中 46 例呈现 STAT3 阳性表达,阳性表达率为 95.83%,而癌旁组织阳性表达率仅为 4.17%,两者比较差异有显著统计学意义($P < 0.01$),见图 2。

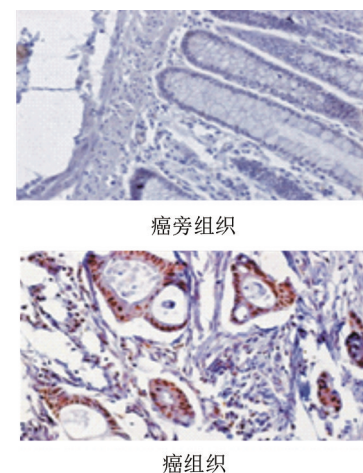


图 2 STAT3 在结肠癌及癌旁组织中的表达(IHC, $\times 200$)

2.3 IL-6 和 STAT3 在结肠癌及癌旁组织中的表达 44 例 IL-6 阳性表达的结肠癌中 STAT3 的表达 100% 阳性;45 例 IL-6 阴性表达的癌旁组织中 STAT3 阴性表达 43 例,结肠癌组织中 STAT3 与 IL-6 的表达呈正相关($r = 0.765, P < 0.010$),见表 1。

表 1 IL-6 和 STAT3 在结肠癌及癌旁组织中的表达(例)

项目	结肠癌(+)	癌旁组织(-)
IL-6	44	45
STAT3	44	43

3 讨 论

结肠癌是由肠黏膜上皮发生的恶性肿瘤,早期诊断困难,极易发生转移,术后复发率高,在我国,结肠癌所致的死亡率已经上升至肿瘤致死率的第四位^[2-3]。

近年来的研究提示结肠癌的发生是多个环节参与的复杂过程参与,尤其炎症反应在结肠癌发生发展中起重要作用,炎症因子可直接发挥免疫抑制作用,刺激肿瘤新生血管生成,促进肿瘤细胞生长^[4]。白细胞介素-6 (interleukin-6, IL-6) 是一种常见的细胞因子,具有多种生物功能,如调节细胞增殖和分化、调控炎症反应、免疫防御等。IL-6 主要由单核巨噬细胞、活化的 B 细胞、静止的 T 细胞等产生,与多种恶性肿瘤存在关联^[5-6]。刘徽等^[5]采用二乙基亚硝胺诱导肝癌模型发现,IL-6 基因敲除小鼠肝癌的发生率明显降低,提示 IL-6 与肝癌的发生发展相关。本实验结果显示 IL-6 在结肠癌和癌旁组织中的表达呈现明显差异,在癌组织中 IL-6 的阳性表达率为 91.66%,而癌旁组织几乎不表达,提示 IL-6 参与了结肠癌的进展。

信号传导与转录激活因子(signal transducer and activator of transcription, STAT)是一类参与细胞信号转导和转录激活的重要转录因子。干扰素、白介素、生长因子等多种外源性信号刺激可以通过激活 JAK/STAT 信号通路,进而调控下游诸多靶基因的表达,参与细胞的增殖、分化、凋亡以及免疫调节等生物学过程。STAT3 是 STAT 家族的重要成员,在多种肿瘤的研究中发现 STAT3 的持续活化^[7-9],且其表达水平与肿瘤的恶性程度相关^[10-11]。本实验发现,结肠癌中 STAT3 表达明显高于癌旁组织,提示 STAT3 与结肠癌的进展相关。

IL-6 是 STAT3 重要的细胞活化因子,其激活 STAT3 的方式有两种:经典途径和跨信号转导途径。在经典途径中 IL-6 首先与 IL-6R/gp130 结合,进而活化 STAT3。而跨信号转导途径,IL-6 可以直接与可溶性受体 sIL-6R 结合,跨过了膜上的 IL-6R^[6,12]。在肿瘤相关的实验研究中发现,IL-6 可以与靶细胞表面的 sIL-6R 结合,形成 sIL-6R/IL-6 复合物,进一步活化细胞膜表面的 gp130, gp130 受到刺激形成同源二聚体,激活与 gp130 相关联的 JAK,使受体酪氨酸激酶活化,并与 STAT3 蛋白结合,这种激酶级联使 STAT3 磷酸

化,活化的 STAT3 二聚体可以进入细胞核,引发靶基因的转录和表达,促进肿瘤细胞增殖和血管形成,抑制肿瘤细胞凋亡^[13-14]。本实验发现,STAT3 的表达及 IL-6 表达水平在结肠癌和癌旁组织中存在明显差异,结肠癌组织中 STAT3 的表达与 IL-6 表达水平亦呈现正相关,提示 IL-6 作为 STAT3 的激活因子,可诱导 STAT3 活化,促进下游信号转导,进而参与结肠癌的进展。因此认为,IL-6/STAT3 信号通路在结肠癌的诊断中具有重要的参考价值,可以作为治疗上的关键靶点。

参 考 文 献

- [1] 李莉,黄河浪. 结直肠癌发生危险因素的流行病学研究进展[J]. 结直肠肛门外科, 2010, 16(6): 397-401.
- [2] 唐楠,王媛媛,沈丽达. 结肠癌相关基因研究进展[J]. 医学综述, 2012, 18(2): 207-209.
- [3] Umesalma S, Suolhandiran G. 2-dimethylhydrazine-induced rat colon carcinogenesis [J] Basic Clin Pharmacol Toxicol, 2010, 107(2): 650-655.
- [4] Brisinda G, Vanella S, Cadeddu F, et al. Colonic anastomotic leak: risk factors, diagnosis, and treatment [J]. J Am Coll Surg, 2009, 208(6): 1152-1153.
- [5] 刘徽,朱波,林治华. IL-6 信号通路与肿瘤[J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2011, 27(3): 353-355.
- [6] Liu Y, Lin J. Blocking the IL-6-STAT3 signaling pathway: potential liver cancer therapy [J]. Future Oncol, 2011, 7(2): 161-164.
- [7] Bromberg J. Stat proteins and oncogenesis [J]. J Clin Invest, 2002, 109(9): 1139-1142.
- [8] 俞丽芬,朱延波,乔敏敏,等. Stat3 在人胃癌细胞株和组织中的组成性激活及其临床意义[J]. 中华医学杂志, 2004, 84(24): 2064-2069.
- [9] Rasanen K, Lehtinen E, Nokelainen K, et al. Interleukin-6 increases expression of serine protease inhibitor Kazal type 1 through STAT3 in colorectal adenocarcinoma [J]. Mol Carcinog, 2016, 55(12): 2010-2023.
- [10] Schafer ZT, Brugge JS. IL-6 involvement in epithelial cancers [J]. J Clin Invest, 2007, 117(12): 3660-3663.
- [11] 张斌,钟德琦,王群伟,等. JAK/STAT 信号通路于肝细胞性肝癌的肿瘤进展和预后的相关性研究[J]. 细胞与免疫学杂志, 2010, 26(4): 368-370, 373.
- [12] Schuringa JJ, Schepers H, Vellenga E, et al. Ser727-dependent transcriptional activation by association of p300 with STAT3 upon IL-6 stimulation [J]. FEBS Lett, 2001, 495(1-2): 71-76.
- [13] Bromberg JF, Wrzeszczynska MH, Devgan G, et al. Stat3 as an oncogene [J]. Cell, 1999, 98(3): 295-303.
- [14] 李海东,裴正军. STAT3 在恶性肿瘤中的研究进展[J]. 国际肿瘤杂志, 2011, 38(1): 3-5.

(收稿日期:2016-07-24)