

## EKSPRESJA STAT3 W LIMFOCYTACH B PRAWIDŁOWYCH I TRANSFORMOWANYCH NOWOTWOROWO\*

STAT3 EXPRESSION IN NORMAL AND MALIGNANTLY  
TRANSFORMED B-LYMPHOCYTES

Artur PATERSKI, Halina ANTOSZ

Zakład Genetyki Medycznej, Akademia Medyczna, Lublin

*Streszczenie:* Ludzki protoonkogen *STAT3* koduje czynnik transkrypcyjny, który bierze udział w procesach embriogenezy, proliferacji i różnicowania wielu typów komórek, jak również w regeneracji i inwolucji narządów. Reguluje także mechanizmy wrodzonej i nabytej odporności, w tym dojrzewanie limfocytów B. Zwiększoną aktywność białka STAT3 stwierdzono zarówno w nieodwracalnie ukierunkowanych prekursorach limfocytów B, jak i plazmocytach. Nieprawidłowy przekaz sygnału za pośrednictwem białka STAT3 zaobserwowano w dużej liczbie nowotworów, w których indukuje ono transkrypcję genów związanych z hamowaniem apoptozy lub warunkujących postęp cyklu komórkowego. W wielu typach nowotworów, także tych o pochodzeniu limfoidalnym, białko STAT3 ułatwia rozprzestrzenianie się guza przez stymulację angiogenezy i hamowanie odpowiedzi przeciwnowotworowej. STAT3 można uznać za idealny cel interwencji terapeutycznej.

*Słowa kluczowe:* białko STAT3, limfocyty B, apoptoza, proliferacja komórki, chłoniak.

*Summary:* The human proto-oncogene *STAT3* encodes transcriptional factor that is essential for embryogenesis, proliferation and differentiation of many cell types, in addition to organ regeneration and involution. It also regulates innate and adaptive immune mechanisms, including B cell maturation. Augmented STAT3 activation has been found in both irreversibly committed B cell lineage precursors and plasmacytes. Abnormal STAT3-mediated signal transduction has been observed in a large number of neoplasms, in which it induces anti-apoptotic and cell cycle progression mediating genes transcription. In many tumor types, also of lymphoid origin, STAT3 facilitates tumor expansion due to angiogenesis stimulation and attenuation of anti-cancer immunity. STAT3 can be considered as a perfect therapeutic target.

*Key words:* STAT3 protein, B-lymphocytes, apoptosis, cell proliferation, lymphoma.

*Wykaz stosowanych skrótów:* **ALK** (*anaplastic lymphoma kinase*) – kinaza chłoniaka anaplastycznego, **BCL-6** (*B-cell lymphoma 6*) – chłoniak B-komórkowy 6, **B-CLL** – przewlekła białaczka limfocytowa B-komórkowa, **BCR** (*B-cell receptor*) – receptor limfocytu B, **Blimp-1** (*B lymphocyte induced maturation*) – białko indukowane przez limfocyty B.

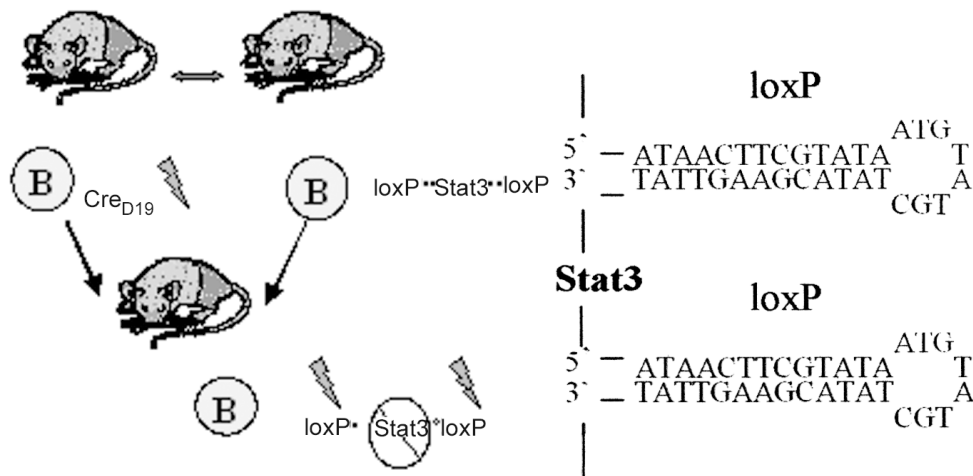
\*Praca została dofinansowana z tematu badawczego DS 221/06.

*tion protein-1*) – białko dojrzewania indukowane w limfocytach B, **CNTF** (*ciliary neurotrophic factor*) – rzęskowy czynnik neurotrofowy, **CRE** (*cAMP – responsive element*) – element odpowiedzi na cAMP, **CT-1** (*cardiotrophin-1*) – kardirotrofina, **Daxx** (*death domain-associated protein*) – białko związane z domeną śmierci, **DLBCL** (*diffuse large B-cell lymphoma*) – rozlany chłoniak olbrzymiokomórkowy, **EGF** (*epidermal growth factor*) – czynnik wzrostu naskórka, **ERK** (*extracellular signal-regulated kinase*) – kinaza regulowana sygnałem zewnątrzkomórkowym, **FL** (*follicular lymphoma*) – chłoniak grudkowy, **G-CSF** (*granulocyte colony stimulating factor*) – czynnik stymulujący tworzenie kolonii granulocytów, **HB-EGF** (*heparin binding EGF-like factor*) – czynnik wzrostu wiążący heparynę podobny do EGF, **ICAM** (*intracellular adhesion molecule*) – cząsteczka adhezji międzykomórkowej, **IRF-1** (*IFN-gene regulatory factor*) – czynnik regulujący gen dla interferonu, **LIF** (*leukemia inhibiting factor*) – czynnik hamujący białaczkę, **MAPK** (*mitogen-activated protein kinase*) – kinaza aktywowana mitogenem, **MIP-1 $\alpha$**  (*macrophage inflammatory protein*) – białko zapalne makrofagów, **Mcl-1** (*myeloid cell leukemia differentiation protein-1*) – białko różnicowania komórkowego białaczki szpikowej, **MCL** (*mantle cell lymphoma*) – chłoniak z komórek płaszczka, **NES** (*nuclear export signal*) – region decydujący o usunięciu z jądra, **NF $\kappa$ B** (*nuclear factor kappa B*) – czynnik jądrowy kappa B, **NHL** (*non-Hodgkin lymphoma*) chłoniak nie-Hodgkinowski, **NLK** (*Nemo-like kinase*) – kinaza Nemo-podobna, **Nmi** (*N-myc interactor*) – białko oddziałujące z N-Myc, **OBF-1** (*Oct binding factor 1*) – czynnik wiążący Oct, **Oct-1/2** (*octamer binding transcription factor*) – czynnik transkrypcyjny wiążący oktamer, **PDGF** (*platelet-derived growth factor*) – płytkopochodny czynnik wzrostu, **PIAS** (*protein inhibitors of activated STATs*) – białka hamujące aktywne STAT, **PRDM-1** (*positive regulatory domain 1*) – pozytywna domena regulatorowa, **RANKL** (*receptor activator of NF $\kappa$ B ligand*) – ligand dla receptora aktywującego NF $\kappa$ B, **SOCS** (*suppressor of cytokine signaling*) – białko hamujące sygnał pochodzący od cytokin, **SRC-1/NcoA-1** (*steroid receptor coactivator-1, nuclear receptor coactivator*) – koaktywator receptora steroidowego/jądrowego, **STAT** (*signal transducer and activator of transcription*) – przekaźnik sygnału i aktywator transkrypcji, **TAD** (*transactivation domain*) – domena transaktywacji, **TAK-1** (*TGF $\beta$ -activated kinase-1*) – kinaza aktywowana przez transformujący czynnik wzrostu  $\beta$ , **TNF $\alpha$**  (*tumor necrosis factor  $\alpha$* ) – czynnik martwicy nowotworu, **VEGF** (*vascular endothelial growth factor*) – czynnik wzrostu śródbłonna naczyń, **XBP-1** (*X-box binding protein*) – białko wiążące kasetę X, **XIAP** (*X-linked inhibitor of apoptosis protein*) – białko hamujące apoptozę sprzężone z chromosomem X.

## WPROWADZENIE

Ponad 10 lat badań nad strukturą i funkcją białek z rodziny STAT zaowocowało ogromną liczbą danych. Do chwili obecnej wykryto siedem naturalnie występujących białek tej rodziny. Są to STAT1, STAT2, STAT3, STAT4, STAT5A, STAT5B i STAT6. Pomimo funkcjonalnych różnic, zachowują one duży stopień homologii [18]. Białka te pełnią podwójną rolę. Są jednocześnie przekaźnikami zewnątrzkomórkowego sygnału pochodzącego od cytokin, czynników wzrostu i hormonów oraz pełnią funkcję aktywatorów transkrypcji. Modulując ekspresję genów docelowych, czynniki transkrypcyjne z rodziny STAT regulują proliferację, wzrost i różnicowanie oraz apoptozę komórek [4,18]. Spośród czynników transkrypcyjnych STAT, białko STAT3 wykazuje najbardziej powszechną ekspresję [50].

Białko STAT3 aktywowane jest przez cytokiny, czynniki wzrostu, onkogeny i interferony [50]. Wykazano jego istotną rolę w procesach embriogenezy [4], regulacji wzrostu i apoptozy [5], regeneracji nabłonków i w procesach gojenia ran [4], w tym głównie reorganizacji cytoszkieletu i migracji komórek [23], w modulacji procesów immunologicznych i w inwolucji gruczołu piersiowego [5]. Stwierdzono także, że stały



RYCINA 1. Wykorzystanie systemu rekombinacyjnego Cre-loxP do eliminacji genu dla białka STAT3 w komórkach B (CD19+). Jeden szczep myszy zawiera wprowadzony funkcjonalny gen dla enzymu restrykcyjnego Cre, ulegający ekspresji jedynie w komórkach CD19+. Drugi szczep myszy zawiera dwie sekwencje loxP, tworzące palindrom, o strukturze „spinki do włosów” (z ang. *hairpin*), które oskrzydłają gen *STAT3*. Skrzyżowanie przedstawicieli obu szczepów myszy pozwala uzyskać genotyp, w którym obecny jest zarówno gen restryktazy Cre, jak i sekwencje loxP. Restryktaza Cre usuwa z komórek CD19+ gen *STAT3* rozpoznając sekwencje loxP [5,26]

przekaz sygnału za pośrednictwem STAT3 niesie ze sobą potencjał onkogenny, co wykazano w wielu typach ludzkich nowotworów [16].

Przeprowadzenie badań nad rolą tego białka długo utrudniał fakt, iż celowane uszkodzenie genu w zarodkach mysich wiąże się z ich wysoką śmiertelnością [4]. Przełom dokonał się po zastosowaniu nowych technik pozwalających na wyłączenie funkcji badanego genu w dojrzałych tkankach [5]. Jedną z tych metod jest system rekombinacyjny Cre-loxP. Zasadę metody przedstawiono na rycinie 1.

W dotychczasowych opracowaniach stosunkowo niewiele uwagi poświęcano roli białka STAT3 w proliferacji i różnicowaniu limfocytów B. Niniejsza praca ma na celu podsumowanie obecnego stanu wiedzy na temat roli białka STAT3 w prawidłowych i transformowanych limfocytach B.

## GEN I BIAŁKO STAT3

Gen *STAT3* obejmuje region 73,8 tysięcy par zasad w długim ramieniu chromosomu 17 (17q21.1- q21.2), składa się z 24 ekzonów [69].

Gen ten podlega pozytywnej autoregulacji w limfocytach B i T. W pozycji –338 do –331 od miejsca inicjacji transkrypcji, w mysim promotorze znajduje się region wiążący produkt omawianego genu – białko STAT3. Region ten sąsiaduje z tzw. elementem odpowiedzi na cAMP (CRE) [58]. Gen *STAT3* jest matrycą dla dwóch izoform białka:

formy pełnej STAT3 $\alpha$  (771 aminokwasów) i formy skróconej STAT3 $\beta$  (723 aminokwasów) [54,69,79]. Mechanizm alternatywnego składania pierwotnego transkryptu, wspólnego dla obu izoform, jest niejasny. Wiadomo jednak, że miejsce cięcia za intronem 22, zwane miejscem akceptorowym tego intronu, jest przesunięte w transkrypcie STAT3 $\beta$  o 50 nukleotydów dalej, w kierunku końca 3' i znajduje się już w eksonie 23. Jednocześnie dochodzi do delecji pierwszych 50 nukleotydów ekzonu 23 i przesunięcia ramy odczytu o +2 nukleotydy. 21 kolejnych nukleotydów od miejsca akceptorowego aż do kodonu stop stanowi matrycę dla ostatnich siedmiu reszt aminokwasowych tworzących koniec karboksylowy białka STAT3 $\beta$  [69,79]. Do wytworzenia białka STAT3 $\alpha$  wykorzystywany jest cały ekzon 23 i fragment ekzonu 24. W wyniku tego białko to jest dłuższe od STAT3 $\beta$  o 48 reszt aminokwasowych (w miejsce siedmiu jest 55 reszt aminokwasowych) [69,79].

Obie izoformy mają nieco odmienne funkcje. Niektóre z tych różnic zawarto w tabeli 1.

Obecność izoformy STAT3 $\beta$  stwierdzono w kilku liniach limfocytów B [51].

Ostatnio zaproponowano model tworzenia kolejnej izoformy białka STAT3 – STAT3 $\gamma$ . Stwierdzono mianowicie, że STAT3 $\alpha$  może być substratem dla proteaz cysteinowych z rodziny kalpain [61]. Kalpaina ulegają powszechnej ekspresji w cytoplazmie i wykazują aktywność proteolityczną wobec wielu czynników transkrypcyjnych, np. c-fos, c-jun, NF-kappa B i p53 [76]. W wyniku enzymatycznego działania kalpaina powstaje izoforma STAT3 $\gamma$ , pozbawiona C-końcowej domeny transaktywacji. Rola tej izoformy jest nieznana. Pewne doniesienia sugerują jednak udział STAT3 $\gamma$  w patogenezie niektórych chorób hematologicznych [33,76].

TABELA 1. Ważniejsze właściwości białek STAT3 $\alpha$  i STAT3 $\beta$

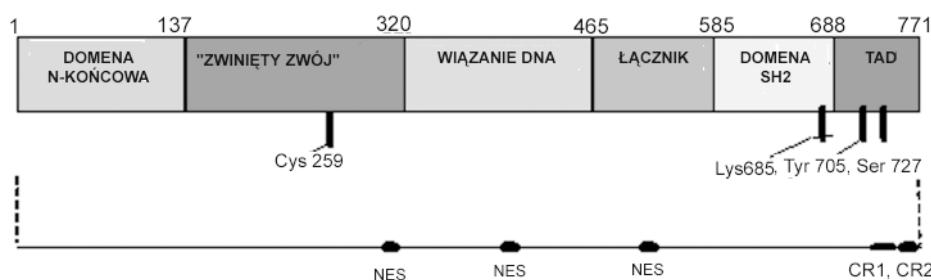
STAT3 $\alpha$	STAT3 $\beta$	Literatura
Długi czas aktywacji genów tzw. ostrej fazy w wątrobie	Krótki czas aktywacji tych genów	[54]
Przekaz sygnału IL-6 i IL-10	Aktywacja transkrypcji genu dla IL-10, hamowanie ekspresji genu dla IL-6	[54]
Hamowanie ekspresji białka Fas, powierzchniowej cząsteczki inicjującej programowaną śmierć komórki	Stymulacja ekspresji białka Fas	[38,39]
Mniejsza siła wiązania do DNA dimeru STAT3 $\alpha$	Większa siła wiązania do DNA spowodowana wyższą stabilnością dimeru STAT3 $\beta$ , wypieranie dimerów STAT3 $\alpha$ z niektórych promotorów	[62]

## STAT3 JAKO PRZEDSTAWICIEL RODZINY PRZEKAŹNIKÓW SYGNAŁU I AKTYWATORÓW TRANSKRYPCJI

STAT3 $\alpha$ , podobnie jak inne białka z tej rodziny, począwszy od końca aminowego, zawiera:

- domenę dimeryzacji
- domenę zwiniętego zwoju (z ang. *coiled-coil domain*)
- element wiążący DNA
- domenę SH2 (homologii z src-2)
- domenę transaktywacji [49] (ryc. 2).

Charakterystykę poszczególnych domen STAT3 $\alpha$  wraz z umiejscowieniem najważniejszych reszt regulatorowych przedstawiono w tabeli 2.



RYCINA 2. Schemat budowy białka STAT3 $\alpha$  wraz z lokalizacją najważniejszych reszt regulatorowych i regionów. Regiony NES (z ang. *nuclear export signal*) decydują o usunięciu STAT3 z jądra komórkowego. Do regionu CR2 przyłącza się kinaza serynowa fosforylująca Ser 727, zlokalizowaną w tzw. regionie CR1. TAD (z ang. *transactivation domain*) – domena transaktywacji

### SZLAKI AKTYWACJI I GENY DOCELOWE STAT3

STAT3 jest przekaźnikiem sygnału:

- cytokin: IL-2, IL-3, IL-5, IL-6, IL-7, IL-9, IL-10, IL-11, IL-15, czynnika hamującego białaczkę (LIF), onkostatyny M, rzęskowego czynnika neurotrofowego (CNTF), kardiotropiny-1 (CT-1) [65],
- interferonów: IFN- $\alpha$  i IFN- $\gamma$  [4],
- czynnika stymulującego tworzenie kolonii granulocytów (G-CSF) [4,65],
- hormonów, np. leptyny i hormonu wzrostu [65],
- czynnika wzrostu naskórka (EGF) i czynnika płytko-pochodnego (PDGF) [4,18,49],
- prawdopodobnie niektórych chemokin [3,71].

TABELA 2. Charakterystyka domen białka STAT3 wraz z lokalizacją najważniejszych reszt regulatorowych

DOMENA BIAŁKA	FUNKCJA DOMENY	RESZTY REGULATOROWE
N-końcowa aa-1-137	1) część elementu istotnego dla stałego przemieszczania się STAT3 między jądrem a cytoplazmą komórki (aa 1-320) [64] 2) tworzenie tetrameru, złożonego z dwóch homodimerów STAT3-STAT3 lub heterodimerów STAT1-STAT3. Taki tetramer przyłącza się do tych promotorów, które zawierają dwie, przeciwstawnie ustawione, sekwencje wiążące odpowiednie białka STAT [81]	
Zwinięty zwój aa138-320	1) oddziaływanie z innymi białkami [49] 2) usuwanie z jądra białka STAT3 w stymulowanych komórkach (aa306-318) (region NES) [12] 3) część elementu wiążącego czynnik transkrypcyjny c-jun (aa130-58) [70]	1) Liczne reszty leucynowe regionu NES [12] 2) <b>Cysteina 259</b> pośrednicząca w tworzeniu mostków dwusiarczkowych STAT3-STAT3 w odpowiedzi na stres oksydacyjny [51]
Domena wiążąca NA aa321-465	1) wiązanie DNA [49] 2) usuwanie STAT3 z jądra komórkowego, gdy białko to nie jest transkrypcyjnie aktywne (aa404-414) [12]	
Domena łącząca aa466-585	1) stabilność wiązania z DNA [49] 2) drugi region decydujący o usuwaniu nieaktywnego STAT z jądra (aa524-535) [12]	
Domena SH2 (SRC – homology domain) aa586-688	1) wiązanie do fosforylowanych, aktywnych receptorów [18,20,49] 2) tworzenie kompleksów z drugim białkiem STAT3 lub STAT1 [18,20,49]	<b>Lizyna 685</b> acetylowana w odpowiedzi na stymulację cytokinową. W modyfikacji pośredniczy acetylotransferaza histonów p300, efekty odwraca deacetylaza histonów HDAC typu I [80]
C-końcowa domena transaktywacji – TAD aa689-771	1) tworzenie dimeru białek STAT [18,20,49] 2) wiązanie do receptorów inicjujących sygnał [18,20,49] 3) region CR2 (aa752-761), stanowiący platformę do przyłączenia kinazy serynowej fosforylującej Ser727 [82] 4) wiązanie kofaktorów białka STAT3, SRC-1/NcoA-1 i p300, acetylujących histon H3 i rozluźniających strukturę chromatyny [68,82]	I. <b>Tyrozyna 705</b> : 1) wiązanie aktywnych receptorów lub fosforylowanych domen SH2- białek STAT1, STAT3 oraz negatywnego regulatora sygnału PIAS3 [18,20,49] 2) transport do jądra komórkowego białka TAT3[49] II. <b>Seryna 727</b> – w regionie CR1 (aa713-735) zwiększenie aktywności transkrypcyjnej przez wiązanie kofaktora p300 [24, 68] III. <b>Leucyna 755 i fenylalanina 757</b> – wiązanie kofaktora SRC-1/NcoA-1 [82]

W opisanych wyżej przypadkach, inicjacja sygnału odbywa się przez fosforylację tyrozyny 705 STAT3 przy udziale kinaz Janusa (Jak1, JAK2, Jak3 i Tyk2), kinaz SRC lub ABL [18,66].

Skutkiem fosforylacji tyrozyny 705 jest utworzenie dimeru z drugą aktywowaną cząsteczką STAT3 lub STAT1. Kompleks tych białek transportowany jest następnie do jądra komórkowego, gdzie następuje regulacja transkrypcji genów docelowych [18,49].

Istnieją również doniesienia, które wskazują na możliwość tworzenia się dimerów STAT3-STAT3 w sytuacji stresu oksydacyjnego [51] lub bez jakiegokolwiek stymulacji z zewnątrz [14]. W liniach komórkowych ludzkich limfocytów B, silny stres oksydacyjny powoduje utlenienie reszt cysteinowych 259 z wytworzeniem mostka dwusiarczkowego stabilizującego dimer [51]. Struktura ta tworzona jedynie z niefosforylowanych cząsteczek STAT3 jest prawdopodobnie nieaktywna [53]. Silne utleniacze mogą również sprzyjać zwiększeniu aktywności białka STAT3. Silna aktywacja białka STAT3 pojawia się w komórkach poddanych działaniu  $H_2O_2$  [19] lub czynników infekcyjnych indukujących powstawanie rodników tlenowych [52]. Zjawisko to związane jest z blokadą fosfataz w środowisku utleniającym. W tych warunkach, trwałość aktywnej, ufosforylowanej formy białka STAT3 ulega przedłużeniu [19,52].

Kolejny etap regulacji aktywności białka STAT3 polega na fosforylacji reszt serynowych za pośrednictwem jednej z kinaz białkowych aktywowanych mitogenem (MAPK). Fosforylacja ta przyczynia się do modulacji sygnału powodując zwiększenie lub zmniejszenie aktywności transkrypcyjnej białka STAT3 [24,66]. Aktywacja reszt serynowych STAT3 w limfocytach B jest efektem przekazu zewnątrzkomórkowego sygnału cytokin i stymulacji receptora limfocyta B (BCR) [24,34]. Sygnały te zostają zapoczątkowane przez połączenie receptora z odpowiednim ligandem i fosforylację odpowiednich podjednostek receptorowych. W przypadku „zajęcia” receptorów cytokin fosforylacji dokonują kinazy JAK, w przypadku związania BCR czyni to kinaza Syk [34]. W ten sposób zostają utworzone miejsca wiązania dla dalszych przekaźników sygnału stymulujących szlak białek Ras, a następnie kinazy regulowane sygnałem zewnątrzkomórkowym (ERK1/2) [34]. Stwierdzono, że związanie BCR na powierzchni ludzkich limfocytów B krwi obwodowej powoduje fosforylację seryny 727 STAT3, bez towarzyszącej fosforylacji reszty tyrozynowej 705 [24]. Ostatnio zasugerowano istnienie jeszcze jednego szlaku fosforylacji seryny 727, zależnego od kinaz TAK1 i NLK. Szlak ten zostaje zapoczątkowany wraz z przyłączeniem się STAT3 do gp-130, tj. aktywowanej podjednostki receptora IL-6 i dominuje w różnych typach komórek, przy stymulacji niskimi stężeniami IL-6 [2,42]. W linii komórkowej hybrydoma B odpowiada on nawet za całość fosforylacji tej reszty regulatorowej [2].

Aktywne białka STAT3 w formie homo- (STAT3-STAT3) lub heterodimeru (np. STAT1-STAT3) przemieszczają się do jądra komórkowego, gdzie regulują transkrypcję genów docelowych [18,49] (tabele 3 i 4), przy współdziałaniu kofaktorów, takich jak Nco/SRC1a, CBP/p300 [28] i polimerazy RNA II [70]. Produkty wielu tych genów biorą udział w proliferacji, różnicowaniu, regulacji apoptozy i transformacji nowotworowej limfocytów B. STAT3 przypisuje się także udział w rozluźnianiu struktury chromatyny i zapoczątkowaniu elongacji transkrypcji [29].

TABELA 3. Geny aktywowane przez STAT3 i ich rola w proliferacji, różnicowaniu i regulacji apoptozy limfocytów B

GEN / BIAŁKO	OPIS/ FUNKCJA INDUKOWANEGO GENU	LITERATURA
Białka zaangażowane w przekaz sygnału		
Pim-1 i -2	kinazy serynowo-treoninowe, regulatory cyklu komórkowego	[15]
SOCS-1 i -3	białka z nadrodziny supresorów sygnału cytokin, blokujące kinazy JAK	[15]
ICAM-1	CD54, cząsteczka adhezji międzykomórkowej -1, ligand dla integryny LFA-1 (CD11a/18)	[15]
Mx-1	cząsteczka hamująca replikację niektórych wirusów	[15]
Osteopontyna	cytokina wytwarzana przez limfocyty T i makrofagi, działa na limfocyty B i makrofagi	[15]
PDGFR- $\alpha$	łańcuch $\alpha$ płytkowo-pochodnego czynnika wzrostu	[15]
HB-EGF	członek rodziny naskórkowych czynników wzrostu	[15]
VEGF	czynnik proangiogeny	[16,59]
MIP-1 $\alpha$	CCL-3, chemokina działająca chemotaktycznie na limfocyty T i B, neutrofile	[15]
gp130	składowa receptora przekazująca sygnał cytokin z rodziny IL-6	[13]
Białka zaangażowane w proces transkrypcji genów		
Blimp-1	białko kontrolujące końcowe różnicowanie limfocytów, hamowanie genów c-Myc i PAX-5	[15]
XBP-1	białko niezbędne do prawidłowego różnicowania limfocytu B do plazmocyty	[17]
Id-2H	białko blokujące czynniki transkrypcyjne E2A i PAX-5	[15]
C/EBP- $\beta$ i $\delta$	czynnik transkrypcyjny, wiążący kasetę CCAAT, regulujący m.in. ekspresję cytokin	[15]
c-jun i c-fos	składowe czynnika transkrypcyjnego AP-1, regulującego m.in. ekspresję genów MHC kl. I	[15,70]
Jun-B	czynnik transkrypcyjny	[15]
c-myc	czynnik transkrypcyjny, regulujący cykl komórkowy, apoptozę, wzrost, metabolizm i adhezję komórek	[8,16]
Bcl-3	członek rodziny I $\kappa$ B, blokujący wiązanie p50 i p52 do DNA, hamuje ekspresję IL-10 w makrofągach	[15]
Bcl-6	wielofunkcyjny regulator cyklu komórkowego, różnicowania limfocytów i odpowiedzi immunologicznej	[15,73]
Stra13	czynnik transkrypcyjny, regulujący aktywację limfocytów B, bierze udział w eliminacji aktywowanych limfocytów B i T przez zwiększenie ekspresji białka Fas	[15,38]
Nmi	czynnik oddziałujący z N-Myc, zwiększa aktywność transkrypcyjną białek STAT przez uściślenie wiązania z acetylotransferazą histonów CBP	[15]
STAT1	czynnik transkrypcyjny, o powszechnej ekspresji, przekazujący sygnał cytokin	[15,54]
OBF-1	czynnik transkrypcyjny, synergistycznie indukowany przez BCR, CD40L i cytokiny w komórkach pro-B, pre-B, dojrzałych komórkach B i plazmocytach	[15]
Oct 1 i 2	czynniki współdziałające z OBF-1 w transkrypcji genów immunoglobulin	[15]
IRF-1	czynnik regulujący transkrypcję genu dla IFN $\beta$ , a także genów stymulowanych przez interferon	[15,54]



TABELA 3 cd. Geny aktywowane przez STAT3 i ich rola w proliferacji, różnicowaniu i regulacji apoptozy komórek B

Gen/Białko	Białka zaangażowane w regulację apoptozy	Literatura
Białka zaangażowane w regulację apoptozy		
Fas	białko powierzchniowe, przekazujące sygnał do apoptozy komórce, na której się znajduje (stymulacja ekspresji przez STAT3 $\beta$ , efekt odwraca Stra13)	[38]
TRAIL	warunkuje zdolność do indukowania apoptozy komórek, mających odpowiednie receptory m.in. DR4 i DR5, głównie aktywowane limfocyty T i komórki zakażone	[15]
Bcl-xl	białko hamujące programowaną śmierć komórki	[9,15,16,41]
Mcl-1	białko hamujące programowaną śmierć komórki	[15,16,41]
Bcl-2	białko hamujące programowaną śmierć komórki na szlaku mitochondrialnym	[15,16,41]
Surwiwina	członek rodziny inhibitorów apoptozy IAP, hamujący kaspazy inicjujące programowaną śmierć komórki	[6]
Białka zaangażowane w kontrolę cyklu komórkowego		
p21 <sup>waf1</sup>	inhibitor kinaz zależnych od cyklin, hamujący cykl komórkowy, funkcje antyapoptotyczne	[8,9,29]
Cyklina D1	aktywator kinaz zależnych od cyklin, stymulujących podziały komórkowe	[16]

TABELA 4. Geny hamowane przez kompleksy represorowe zawierające STAT3

Gen/Białko	Opis/ Funkcja hamowanego genu	Literatura
Fas	białko powierzchniowe przekazujące sygnał do apoptozy komórce, na której się znajduje (hamowanie ekspresji przez STAT3 $\alpha$ , ew. kompleks STAT $\alpha$ z c-jun, efekt odwraca Stra13)	[38,39]
p53	"strażnik genomu" indukuje ekspresję genów zaangażowanych w zatrzymanie cyklu komórkowego i apoptozę, uczestniczy w naprawie uszkodzeń DNA	[60]
Bax	białko promujące apoptozę na szlaku mitochondrialnym	[9]

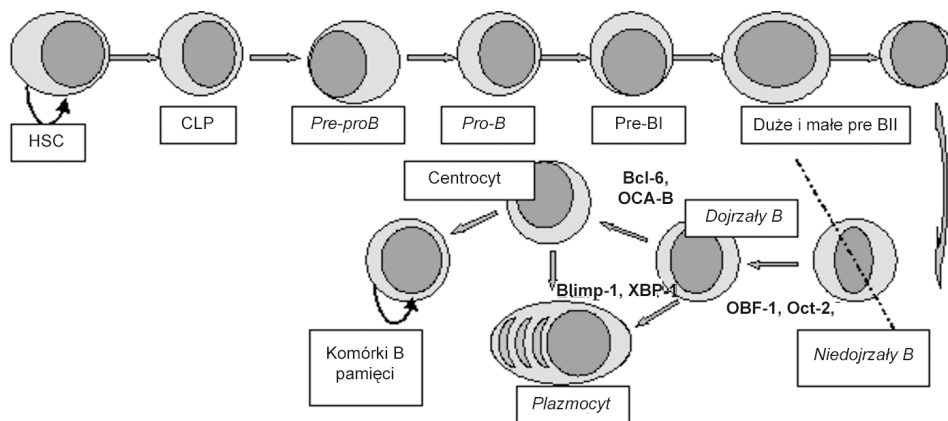
## ROLA BIAŁKA STAT3 W REGULACJI UKŁADU ODPORNOŚCIOWEGO I RÓŻNICOWANIU LIMFOCYTÓW B

Doświadczalne uszkodzenie genu dla białka STAT3, w komórkach układu odpornościowego, wykazało jego kluczową rolę w regulacji zarówno nieswoistych, jak i swoistych mechanizmów obronnych organizmu. STAT3 jest negatywnym regulatorem

mielopojezy, utrzymującym w ustroju prawidłową liczbę granulocytów i makrofagów [47,75]. Neutrofile i makrofagi, pozbawione genu STAT3, produkują duże ilości cytokin prozapalnych, takich jak: TNF- $\alpha$ , IL-1 i IFN- $\gamma$ , co przyczynia się do zwiększenia wrażliwości organizmu na endotoksyny i zwiększa ryzyko wystąpienia chorób z autoagresji [4]. Przy niedoborze czynnika transkrypcyjnego STAT3, znacznie upośledzony jest rozwój prekursorów komórek dendrytycznych [46]. Przedłużona aktywność STAT3 natomiast hamuje funkcjonalne dojrzewanie tych komórek, upośledzając prezentację antygeny limfocytom T [43,77]. Limfocyty T niewytwarzające STAT3 charakteryzują się zwiększoną częstością apoptozy i zaburzeniami ekspresji łańcucha alfa receptora dla IL-2 [4].

Kilka ostatnich doniesień sugeruje udział STAT3 w regulacji dojrzewania, proliferacji i apoptozy prekursorów limfocytów B [22,27] (ryc. 3). Rola białka STAT3 na etapie komórki macierzystej hemopojezy i wspólnej komórki progenitorowej limfopojezy jest nieznaną, pomimo że komórki te mają receptory zdolne aktywować STAT3 [37]. Zauważono jednak, że myszy, pozbawione zdolności syntezy białka STAT3 w komórkach progenitorowych szpiku, charakteryzują się obniżoną liczbą dojrzałych limfocytów B w szpiku kostnym i na obwodzie, a także limfocytów pro-B, pre-B i niedojrzałych limfocytów B w szpiku. Wyniki badań doświadczalnych dowodzą, że limfocyty pro-B pozbawione aktywności białka STAT3 wykazują zmniejszoną żywotność, a liczba limfocytów pre-pro-B zwiększa się, co sugeruje, że białko STAT3 jest istotnym czynnikiem różnicowania tych nieodwołalnie ukierunkowanych prekursorów limfocytów B [22].

Dużym zaskoczeniem było stwierdzenie, iż STAT3 wymagane jest do inicjacji programowanej śmierci pierwotnych mysich limfocytów pro-B, po stymulacji IFN- $\beta$ . Badania tego szlaku pozostają na wstępnym etapie, wiadomo jednak, że jego funkcjonowanie wymaga aktywności tzw. białka związanego z domeną śmierci – Daxx i kinazy tyrozynowej Tyk-2. Zauważono też, że samo aktywne białko STAT3



RYCINA 3. Etapy dojrzewania prekursorów limfocytów B. Tłustym drukiem zaznaczono geny docelowe STAT3, które uczestniczą w procesie różnicowania komórki B. Kursywą zaznaczono te stadia rozwojowe, w których udowodniono udział STAT3 w proliferacji, różnicowaniu lub apoptozie komórek. Linia przerywana oznacza barierę krew-szpik

w limfocytach pro-B jest niewystarczające do wywołania apoptozy [27]. Stwierdzono nawet, że STAT3 może sprzyjać przeżyciu linii komórek pro-B, BAF-B03, przez zaangażowanie w regulację ekspresji genu *Bcl-2*, hamującego apoptozę. Kolejne doniesienia ujawniły rolę białka STAT3 w regulacji ekspresji genów dla białek kontrolujących przejście z fazy G1 do S cyklu komórkowego, w tej samej linii komórek pro-B [35].

Rola STAT3 w regulacji proliferacji, różnicowania i apoptozy limfocytów B w końcowych stadiach rozwoju jest obecnie dobrze udokumentowana [21,26]. Ekspresja białka STAT3 wzrasta w odpowiedzi na związanie BCR przez antygen oraz interakcję cząsteczki powierzchniowej CD40 z jej ligandem CD40L, ulegającym ekspresji na limfocytach T pomocniczych [7].

Kompleks CD40-CD40L ma decydujące znaczenie dla aktywacji limfocytu B, zależnej od limfocytu T, a także promuje przeżycie limfocytów B, proliferację, różnicowanie, przełączanie klas immunoglobulin, tworzenie ośrodków rozmnażania grudek chłonnych oraz koordynuje rozwój odpowiedzi humoralnej [31]. STAT3 reguluje ekspresję genów *BCL-6*, *OCA-B* i *PRDM-1* decydujących o organizacji centrum rozmnażania grudki chłonnej [15]. Białko *BCL-6* czasowo hamuje ekspresję genu *PRDM-1* dla białka Blimp-1, przez niezależne miejsce wiązania w jednym z intronów [40]. Prowadzi to do zatrzymania komórki w ośrodku rozmnażania i blokady dalszych etapów rozwoju, do momentu zwiększenia powinowactwa do antygeny, przez mutacje somatyczne genów immunoglobulinowych. Aktywność białka Blimp-1 następuje, gdy limfocyt B opuszcza ośrodek rozmnażania [67]. Efektem działania tego białka jest jednokierunkowy przebieg procesu różnicowania do plazmocytów [41]. Proces ten realizowany jest przez hamowanie wielu genów czynnych w poprzednich stadiach rozwojowych limfocytu B, m.in. *BCL-6* [67].

Kolejnym genem regulowanym przez STAT3, koniecznym do rozwoju plazmocytów jest gen *XBP-1*. Rola *XBP-1* jest stosunkowo słabo poznana, jednak uważa się, że ekspresja białka jest konieczna dla wydzielania przeciwciał [17,41,67].

W badaniach nad rolą białka STAT3 w limfocytach B przełomowe okazało się zastosowanie systemu rekombinacyjnego Cre-lox, do wybiórczego usunięcia genu STAT3 z komórek CD19+ (ryc. 1). Niedobór STAT3 prowadził do głębokiego zaburzenia wytwarzania przeciwciał klasy IgG, wiążących tzw. antygeny T-zależne (grasiczo-zależne) [26]. Nie zauważono natomiast defektów żadnego etapu rozwoju limfocytu B, tworzenia ośrodka rozmnażania i wytwarzania limfocytów B pamięci. Co zaskakujące, nie zaobserwowano zaburzeń w powstawaniu plazmocytów wytwarzających pozostałe izotypy, łącznie z przeciwciałami klasy IgG, uczestniczącymi w odpowiedzi niezależnej od limfocytów T (IgG3). Obserwacje te wskazują na udział STAT3 w rozwoju odpowiedzi typu humoralnego [26].

Kilka doniesień sugeruje kluczową rolę STAT3 w rozwoju limfocytów B-1, najbardziej pierwotnych komórek w hierarchii układu immunologicznego [25,35]. Początkowo komórki te dominują w puli limfocytów B, stopniowo ich liczba obniża się wraz z produkcją konwencjonalnych limfocytów B-2. Limfocyty B-1 lokalizują się wybiórczo w otrzewnej i w mniejszym stopniu w śledzionie, nie występują zaś w węzłach chłonnych. Plazmocyty wywodzące się z limfocytów B-1 syntetyzują głównie niespecyficzne IgM

i IgA, ograniczające rozprzestrzenianie patogenów. Zauważono, że limfocyty B-1 mają duże zdolności do samoodnowy i jednocześnie są podatne na transformację nowotworową. Wiele z tych cech przypisuje się stałej fosforylacji Tyr705 i Ser727 STAT3, w otrzewnowych limfocytach B-1, co indukuje z kolei stałą aktywność białka [25].

## UDZIAŁ BIAŁKA STAT3 W PATOGENEZIE CHŁONIAKÓW Z KOMÓREK B

### Szpiczak plazmocytowy

Prawidłowy poziom ekspresji i właściwa kolejność indukcji genów docelowych STAT3, zwłaszcza hamujących się wzajemnie genów *Bcl-6* i *Blimp-1*, warunkuje prawidłowy przebieg końcowych etapów różnicowania limfocytów B do plazmocytów [17]. W szpiczaku plazmocytowym, nowotworze wywodzącym się z plazmocytów, dochodzi do istotnego rozregulowania wzajemnych relacji obu białek [32,40].

W niektórych liniach komórkowych wykryto ekspresję nowej izoformy białka BLIMP-1, BLIMP-1 $\beta$ , która ma krótszą domenę N-kończową. Białko to jest słabszym represorem transkrypcji niż natywna forma BLIMP-1 $\alpha$  [32]. W takich warunkach, czynne białko STAT3 podtrzymuje ekspresję białka BCL-6, w liniach komórek szpiczaka i w plazmocytach chorych na szpiczaka plazmocytozowego. W prawidłowych plazmocytach natomiast białko BCL-6 jest nieobecne [73].

Zarówno BCL-6, jak i STAT3 hamują ekspresję genu *p53* zaangażowanego w regulację cyklu komórkowego, naprawę DNA i apoptozę [60,63].

Ekspresja kolejnego genu docelowego STAT3, *MIP-1 $\alpha$*  prowadzi do syntezy aktywnie wydzielanego białka o właściwościach chemokiny, która pobudza różnicowanie osteoklastów. Prowadzi to do zwiększonej resorpcji kości i tworzenia ognisk osteolizy. MIP-1 $\alpha$  zwiększa adhezję komórek szpiczaka do podścieliska szpiku i indukuje syntezę cząsteczek RANKL i IL-6 przez komórki zrębowe. Skutkiem tego jest dalsza aktywacja osteoklastów i resorpcja kości oraz wydłużenie przeżycia komórek szpiczaka. MIP-1 $\alpha$  hamuje proliferację niedojrzałych prekursorów erytropoezy, przyczyniając się do rozwoju niedokrwistości, częstego objawu w późnym okresie choroby [72].

Kolejny z genów docelowych STAT3, *HB-EGF*, stanowi silny czynnik pobudzający proliferację i zwiększający przeżycie komórek szpiczaka [41].

Inne indukowane przez STAT3 geny, takie jak *Mcl-1* i *Bcl-XL* hamują apoptozę komórek szpiczaka [41] lub zwiększają częstość podziałów komórkowych, co ma miejsce w przypadku aktywacji genu *c-myc* [21]. O roli białka STAT3 w patogenezie szpiczaka świadczy fakt, że hamowanie aktywacji białka STAT3 prowadzi do apoptozy komórek plazmatycznych pacjentów ze szpiczakiem [11].

### Chłoniaki z komórek B i choroba Hodgkina

Badania nad rolą białka STAT3 w B-komórkowych chłoniakach nie-hodgkinowskich pozostają wciąż na wstępnym etapie. Region, w którym zmapowano gen dla białka

STAT3 (17q21.1-q21.2) [69], ulega stosunkowo częstym, niezrównoważonym zaburzeniom chromosomowym w tej grupie chłoniaków [56]. Translokacje obejmujące ten obszar mogą pojawiać się podczas transformacji chłoniaka grudkowego (FL), rzadkiego chłoniaka o niskim stopniu złośliwości, do agresywnego, rozlanego chłoniaka olbrzymio-komórkowego (*DLBCL*). W niektórych przypadkach wiąże się to z nieprawidłowym poziomem ekspresji białka STAT3 [55]. Ocenia się, że zwłaszcza translokacja t(1;17)(p36;q21) jest częstą, wtórną aberracją wśród chłoniaków nie-hodgkinowskich (NHL) [1].

W pewnej grupie rozlanych, olbrzymiokomórkowych chłoniaków białko STAT3 może być stale aktywne, z powodu stymulacji przez tzw. kinazę chłoniaka anaplastycznego ALK [74].

Bardzo aktywne białko STAT3 opisano także w przypadku chłoniaka z komórek płaszczka grudki chłonnej (MCL) [45,78]. Ponadto zaobserwowano, że zwiększona aktywność STAT3 jest charakterystyczna dla komórek Hodgkina i Reed-Sternberga, patognomicznych dla choroby Hodgkina [10,36,44].

### Przewlekła białaczka limfocytowa

Przewlekła białaczka limfocytowa stanowi unikatowy typ limfoproliferacji, gdzie dominującym zjawiskiem jest niewydolny proces apoptozy komórek nowotworowych, z niską częstością podziałów [57]. Uważa się, że kluczowe dla przeżycia komórek białaczkowych są sygnały z mikrośrodowiska, przekazywane przez nietransformowane komórki towarzyszące. Jeden z tych sygnałów zostaje zainicjowany przez związanie cząsteczki powierzchniowej CD40 przez CD40L, obecny na limfocytach T pomocniczych, a także na innych limfocytach białaczkowych B-CLL [57]. Interakcja ta ma miejsce w tzw. pseudogrudkach węzłów chłonnych i szpiku kostnego. Skutkiem tego jest indukcja proliferacji i ochrona przed apoptozą, z równoczesnym zwiększeniem ekspresji STAT3, surwiwiny i receptora dla IL-10 [30,31].

Badając niestymulowane komórki białaczkowe krwi obwodowej, stwierdzono nieprawidłową, stałą fosforylację seryny 727 białek STAT1 i STAT3 [48]. Zmodyfikowane w ten sposób białka STAT1 i STAT3 są przyłączone do receptorów R1 i R2, dla naczyniowosródbłonkowego czynnika wzrostu (VEGF), stanowiąc element składowy autokrynnej pętli zależnej od VEGF. W wyniku stymulacji tej drogi, ufosforylowane białko STAT3 przemieszcza się do jądra komórkowego, w procesie endocytozy receptorowej, powodując zwiększenie ekspresji białek Mcl-1 i XIAP, hamujących proces apoptozy [48].

## PODSUMOWANIE

Aktywne białko STAT3 jest czynnikiem istotnie zwiększającym przeżycie komórek nowotworowych [16,18]. Produkty białkowe genów docelowych dla STAT3 hamują proces apoptozy [9] i zwiększają częstość podziałów przez działanie na cykl komórkowy [8,21,35]. Przyczyniają się do rozsiewu nowotworu dzięki stymulacji angiogenezy [59] i hamowaniu odpowiedzi przeciwnowotworowej [43]. Stwierdzono, że nowotwory z wysoką aktywnością STAT3 wydzielają m.in. IL-10, VEGF i  $\beta_2$ -mikroglobulinę, które hamują dojrzewanie komórek dendrytycznych, prezentujących antygeny limfocytom T

[43,48,77]. Zaobserwowano, że blokowanie STAT3 w komórkach nowotworowych przełamuje anergię limfocytów T, zwiększa liczbę granulocytów oraz stymuluje aktywność cytolityczną komórek NK, co prowadzi do nasilenia odpowiedzi przeciwnowotworowej i hamowania wzrostu guza [43]. Wyniki badań *in vitro* nad substancjami odwracalnie blokującymi aktywację białka STAT3 pozwalają z nadzieją oczekiwać na syntezę nowych, skuteczniejszych leków przeciwnowotworowych, które z jednej strony hamowałyby życiodajny przekaz sygnału w komórkach guza, a z drugiej pobudzały układ odpornościowy osoby chorej do zwalczania nowotworu.

## PIŚMIENNICTWO

- [1] AAMOT H, MICCI F, HOLTE H, DELABIE J, HEIM S. M-FISH cytogenetic analysis of non-Hodgkin lymphomas with t(14;18)(q32;q21) and add(1)(p36) as a secondary abnormality shows that the extra material often comes from chromosome arm 17q. *Leuk Lymphoma* 2002; **43**: 1051–1056.
- [2] ABE K, HIRAI M, MIZUNO K, HIGASHI N, SEKIMOTO T, MIKI T, HIRANO T, NAKAJIMA K. The YXXQ motif in gp 130 is crucial for STAT3 phosphorylation at Ser727 through an H7-sensitive kinase pathway. *Oncogene* 2001; **20**: 3464–3474.
- [3] AHR B, DENIZOT M, ROBERT-HEBMAN V, BRELOT A, BIARD-PIECHACZYK M. Identification of the cytoplasmic domains of CXCR4 involved in Jak2 and STAT3 phosphorylation. *J Biol Chem* 2005; **280**: 6692–6700.
- [4] AKIRA S. Functional roles of STAT family proteins: lessons from knockout mice. *Stem Cells* 1999; **17**:138–146.
- [5] AKIRA S. Roles of STAT3 defined by tissue-specific gene targeting. *Oncogene* 2000; **19**: 2607–2611.
- [6] AOKI Y, FELDMAN GM, TOSATO G. Inhibition of STAT3 signaling induces apoptosis and decreases survivin expression in primary effusion lymphoma. *Blood* 2003; **101**: 1535–1542.
- [7] ARINOBU Y, SUGIMOTO R, AKAIWA M, ARIMA K, OTSUKA T, HAMASAKI N, IZUHARA K. Augmentation of signal transducer and activation of transcription (STAT)6 and STAT3 expression in stimulated B and T cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2000; **277**: 317–324.
- [8] BARRE B, AVRIL S, COQUERET O. Opposite regulation of myc and p21waf1 transcription by STAT3 proteins. *J Biol Chem* 2003; **278**: 2990–2996.
- [9] BATTLE TE, FRANK DA. The role of STATs in apoptosis. *Curr Mol Med* 2002; **2**: 381–392.
- [10] BAUS D, PFITZNER E. Specific function of STAT3, SOCS1, and SOCS3 in the regulation of proliferation and survival of classical Hodgkin lymphoma cells. *Int J Cancer* 2006; **118**: 1404–1413.
- [11] BHARTI AC, SHISHODIA S, REUBEN JM, WEBER D, ALEXANIAN R, RAJ-VADHAN S, ESTROV Z, TALPAZ M, AGGARWAL BB. Nuclear factor-kappaB and STAT3 are constitutively active in CD138+ cells derived from multiple myeloma patients, and suppression of these transcription factors leads to apoptosis. *Blood* 2004; **103**: 3175–3184.
- [12] BHATTACHARYA S, SCHINDLER C. Regulation of Stat3 nuclear export. *J Clin Invest* 2003; **111**: 553–559.
- [13] BLANCHARD F, WANG Y, KINZIE E, DUPLOMB L, GODARD A, BAUMANN H. Oncostatin M regulates the synthesis and turnover of gp130, leukemia inhibitory factor receptor alpha, and oncostatin M receptor beta by distinct mechanisms. *J Biol Chem* 2001; **276**: 47038–47045.
- [14] BRAUNSTEIN J, BRUTSAERT S, OLSON R, SCHINDLER C. STATs dimerize in the absence of phosphorylation. *J Biol Chem* 2003; **278**: 34133–34140.
- [15] BROCKE-HEIDRICH K, KRETZSCHMAR AK, PFEIFER G, HENZE C, LOFFLER D, KOCZAN D, THIESEN HJ, BURGER R, GRAMATZKI M, HORN F. Interleukin-6-dependent gene expression profiles in multiple myeloma INA-6 cells reveal a Bcl-2 family-independent survival pathway closely associated with Stat3 activation. *Blood* 2004; **103**: 242–251.
- [16] BROMBERG J. Stat proteins and oncogenesis. *J Clin Invest* 2002; **109**: 1139–1142.
- [17] CALAME KL, LIN KI, TUNYAPLIN C. Regulatory mechanisms that determine the development and function of plasma cells. *Annu Rev Immunol* 2003; **21**: 205–230.

- [18] CALO V, MIGLIAVACCA M, BAZAN V, MACALUSO M, BUSCEMI M, GEBBIA N, RUSSO A. STAT proteins: from normal control of cellular events to tumorigenesis. *J Cell Physiol* 2003; **197**: 157–168.
- [19] CARBALLO M, CONDE M, EL BEKAY R, MARTIN-NIETO J, CAMACHO MJ, MONTESEIRIN J, CONDE J, BEDOYA FJ, SOBRINO F. Oxidative stress triggers STAT3 tyrosine phosphorylation and nuclear translocation in human lymphocytes. *J Biol Chem* 1999; **274**: 17580–17586.
- [20] CHEN W, DAINES MO, KHURANA HERSHEY GK. Turning off signal transducer and activator of transcription (STAT): the negative regulation of STAT signaling. *J Allergy Clin Immunol* 2004; **114**: 476–489.
- [21] CHEUNG WC, VAN NESS B. Distinct IL-6 signal transduction leads to growth arrest and death in B cells or growth promotion and cell survival in myeloma cells. *Leukemia* 2002; **16**: 1182–1188.
- [22] CHOU WC, LEVY DE, LEE CK. STAT3 positively regulates an early step in B-cell development. *Blood* 2006; **108**: 3005–3011.
- [23] DEBIDDA M, WANG L, ZANG H, POLI V, ZHENG Y. A role of STAT3 in Rho GTPase-regulated cell migration and proliferation. *J Biol Chem* 2005; **280**: 17275–17285.
- [24] DECKER T, KOVARIK P. Serine phosphorylation of STATs. *Oncogene* 2000; **19**: 2628–2637.
- [25] FISCHER GM, SOLT LA, HASTINGS WD, YANG K, GERSTEIN RM, NIKOLAJCZYK BS, CLARKE SH, ROTHSTEIN TL. Splenic and peritoneal B-1 cells differ in terms of transcriptional and proliferative features that separate peritoneal B-1 from splenic B-2 cells. *Cell Immunol* 2001; **213**: 62–71.
- [26] FORNEK JL, TYGRET LT, WALDSCHMIDT TJ, POLI V, RICKERT RC, KANSAS GS. Critical role for Stat3 in T-dependent terminal differentiation of IgG B cells. *Blood* 2006; **107**: 1085–1091.
- [27] GAMERO AM, POTLA R, WEGRZYN J, SZELAG M, EDLING AE, SHIMODA K, LINK DC, DULAK J, BAKER DP, TANABE Y, GRAYSON JM, LARNER AC. Activation of Tyk2 and Stat3 is required for the apoptotic actions of interferon-beta in primary pro-B cells. *J Biol Chem* 2006; **281**: 16238–16244.
- [28] GIRAUD S, BIENVENU F, AVRIL S, GASCAN H, HEERY DM, COQUERET O. Functional interaction of STAT3 transcription factor with the coactivator NcoA/SRC1a. *J Biol Chem* 2002; **277**: 8004–8011.
- [29] GIRAUD S, HURLSTONE A, AVRIL S, COQUERET O. Implication of BRG1 and cdk9 in the STAT3-mediated activation of the p21waf1 gene. *Oncogene* 2004; **23**: 7391–7398.
- [30] GRANZIERO L, GHIA P, CIRCOSTA P, GOTTARDI D, STROLA G, GEUNA M, MONTAGNA L, PICCOLI P, CHILOSI M, CALIGARIS-CAPPIO F. Survivin is expressed on CD40 stimulation and interfaces proliferation and apoptosis in B-cell chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 2001; **97**: 2777–2783.
- [31] GRICKS CS, ZAHRIEH D, ZAULS AJ, GORGUN G, DRANDI D, MAUERER K, NEUBERG D, GRIBBEN JG. Differential regulation of gene expression following CD40 activation of leukemic compared to healthy B cells. *Blood* 2004; **104**: 4002–4009.
- [32] GYORY I, FEJER G, GHOSH N, SETO E, WRIGHT KL. Identification of a functionally impaired positive regulatory domain I binding factor 1 transcription repressor in myeloma cell lines. *J Immunol* 2003; **170**: 3125–3133.
- [33] HENDRY L, JOHN S. Regulation of STAT signalling by proteolytic processing. *Eur J Biochem* 2004; **271**: 4613–4620.
- [34] HIBI M, HIRANO T. Gab-family adapter molecules in signal transduction of cytokine and growth factor receptors, and T and B cell antigen receptors. *Leuk Lymphoma* 2000; **37**: 299–307.
- [35] HIRANO T, ISHIHARA K, HIBI M. Roles of STAT3 in mediating the cell growth, differentiation and survival signals relayed through the IL-6 family of cytokine receptors. *Oncogene* 2000; **19**: 2548–2556.
- [36] HOLTICK U, VOCKERODT M, PINKERT D, SCHOOF N, STURZENHOFECKER B, KUSSEBI N, LAUBER K, WESSELBORG S, LOFFLER D, HORN F, TRUMPER L, KUBE D. STAT3 is essential for Hodgkin lymphoma cell proliferation and is a target of typhostin AG17 which confers sensitization for apoptosis. *Leukemia* 2005; **19**: 936–944.
- [37] HUMPHREY RK, BEATTIE GM, LOPEZ AD, BUCAY N, KING CC, FIRPO MT, ROSE-JOHN S, HAYEK A. Maintenance of pluripotency in human embryonic stem cells is STAT3 independent. *Stem Cells* 2004; **22**: 522–530.
- [38] IVANOVA AV, IVANOV SV, ZHANG X, IVANOV VN, TIMOFEEVA OA, LERMAN MI. STRA13 interacts with STAT3 and modulates transcription of STAT3-dependent targets. *J Mol Biol* 2004; **340**: 641–653.
- [39] IVANOV VN, BHOUMIK A, KRASILNIKOV M, RAZ R, OWEN-SCHAUB LB, LEVY D, HORVATH CM, RONAI Z. Cooperation between STAT3 and c-jun suppresses Fas transcription. *Mol Cell* 2001; **7**: 517–528.
- [40] JOHNSON K, SHAPIRO-SHELEF M, TUNYAPLIN C, CALAME K. Regulatory events in early and late B-cell differentiation. *Mol Immunol* 2005; **42**: 749–761.

- [41] KLEIN B, TARTE K, JOURDAN M, MATHOUK K, MOREAUX J, JOURDAN E, LEGOUFFE E, De VOS J, ROSSI JF. Survival and proliferation factors of normal and malignant plasma cells. *Int J Hematol* 2003; **78**: 106–113.
- [42] KOJIMA H, SASAKI T, ISHITANI T, IEMURA S, ZHAO H, KANEKO S, KUNIMOTO H, NATSUME T, MATSUMOTO K, NAKAJIMA K. STAT3 regulates Nemo-like kinase by mediating its interaction with IL-6-stimulated TGFbeta-activated kinase 1 for STAT3 Ser-727 phosphorylation. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005; **102**: 4524–4529.
- [43] KORTYLEWSKI M, KUJAWSKI M, WANG T, WEI S, ZHANG S, PILON-THOMAS S, NIU G, KAY H, MULE J, KERR WG, JOVE R, PARDOLL D, YU H. Inhibiting Stat3 signaling in the hematopoietic system elicits multicomponent antitumor immunity. *Nat Med* 2005; **11**: 1314–1321.
- [44] KUBE D, HOLTICK U, VOCKERODT M, AHMADI T, HAIER B, BEHRMANN I, HEINRICH PC, DIEHL V, TESCH H. STAT3 is constitutively activated in Hodgkin cell lines. *Blood* 2001; **98**: 762–770.
- [45] LAIR, RASSIDAKIS GZ, MEDEIROS LJ, LEVENTAKI V, KEATING M, McDONNELL TJ. Expression of STAT3 and its phosphorylated forms in mantle cell lymphoma cell lines and tumours. *J Pathol* 2003; **199**: 84–89.
- [46] LAOUAR Y, WELTE T, FU XY, FLAVELL RA. STAT3 is required for Flt3L-dependent dendritic cell differentiation. *Immunity* 2003; **19**: 903–912.
- [47] LEE CK, RAZ R, GIMENO R, GERTNER R, WISTINGHAUSEN B, TAKESHITA K, DePINHO RA, LEVY DE. STAT3 is a negative regulator of granulopoiesis but is not required for G-CSF-dependent differentiation. *Immunity* 2002; **17**: 63–72.
- [48] LEE YK, SHANAFELT TD, BONE ND, STREGE AK, JELINEK DF, KAY NE. VEGF receptors on chronic lymphocytic leukemia (CLL) B cells interact with STAT 1 and 3: implication for apoptosis resistance. *Leukemia* 2005; **19**: 513–523.
- [49] LEVY DE, DARNELL JE Jr. Stats: transcriptional control and biological impact. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2002; **3**: 651–662.
- [50] LEVY DE, LEE CK. What does Stat3 do? *J Clin Invest* 2002; **109**: 1143–1148.
- [51] LI L, SHAW PE. A STAT3 dimer formed by inter-chain disulphide bridging during oxidative stress. *Biochem Biophys Res Commun* 2004; **322**: 1005–1011.
- [52] LIU T, CASTRO S, BRASIER AR, JAMALUDDIN M, GAROFALO RP, CASOLA A. Reactive oxygen species mediate virus-induced STAT activation: role of tyrosine phosphatases. *J Biol Chem* 2004; **279**: 2461–2469.
- [53] LIU W, OSEROFF AR, BAUMANN H. Photodynamic therapy causes cross-linking of signal transducer and activator of transcription proteins and attenuation of interleukin-6 cytokine responsiveness in epithelial cells. *Cancer Res* 2004; **64**: 6579–6587.
- [54] MARITANO D, SUGRUE ML, TINININI S, DEWILDE S, STROBL B, FU X, MURRAY-TAIT V, CHIARLE R, POLI V. The STAT3 isoforms alpha and beta have unique and specific functions. *Nat Immunol* 2004; **5**: 401–409.
- [55] MARTINEZ-CLIMENT JA, ALIZADEH AA, SEGRAVES R, BLES A, RUBIO-MOSCARDO F, ALBERTSON DG, GARCIA-CONDE J, DYER MJ, LEVY R, PINKEL D, LOSSOS IS. Transformation of follicular lymphoma to diffuse large cell lymphoma is associated with a heterogeneous set of DNA copy number and gene expression alterations. *Blood* 2003; **101**: 3109–3117.
- [56] MITELMAN F, MERTENS F, JOHANSSON B. A breakpoint map of recurrent chromosomal rearrangements in human neoplasia. *Nat Genet* 1997; **15** Spec No: 417–474.
- [57] MUNK PEDERSEN I, REED J. Microenvironmental interactions and survival of CLL B-cells. *Leuk Lymphoma* 2004; **45**: 2365–2372.
- [58] NARIMATSU M, MAEDA H, ITOH S, ATSUMI T, OHTANI T, NISHIDA K, ITOH M, KAMIMURA D, PARK SJ, MIZUNO K, MIYAZAKI J, HIBI M, ISHIHARA K, NAKAJIMA K, HIRANO T. Tissue-specific autoregulation of the stat3 gene and its role in interleukin-6-induced survival signals in T cells. *Mol Cell Biol* 2001; **21**: 6615–6625.
- [59] NIU G, WRIGHT KL, HUANG M, SONGL, HAURA E, TURKSON J, ZHANG S, WANG T, SINIBALDI D, COPPOLA D, HELLER R, ELLIS LM, KARRAS J, BROMBERG J, PARDOLL D, JOVE R, YU H. Constitutive Stat3 activity up-regulates VEGF expression and tumor angiogenesis. *Oncogene* 2002; **21**: 2000–2008.
- [60] NIU G, WRIGHT KL, MA Y, WRIGHT GM, HUANG M, IRBY R, BRIGGS J, KARRAS J, CRESS WD, PARDOLL D, JOVE R, CHEN J, YU H. Role of Stat3 in regulating p53 expression and function. *Mol Cell Biol* 2005; **25**: 7432–7440.
- [61] ODA A, WAKAO H, FUJITA H. Calpain is a signal transducer and activator of transcription (STAT) 3 and STAT5 protease. *Blood* 2002; **99**: 1850–1852.



- [62] PARK OK, SCHAEFER LK, WANG W, SCHAEFER TS. Dimer stability as a determinant of differential DNA binding activity of Stat3 isoforms. *J Biol Chem* 2000; **275**: 32244–32249.
- [63] PHAN RT, DALLA-FAVERA R. The BCL6 proto-oncogene suppresses p53 expression in germinal-centre B cells. *Nature* 2004; **432**: 635–639.
- [64] PRANADA AL, METZ S, HERRMANN A, HEINRICH PC, MULLER-NEWEN G. Real time analysis of STAT3 nucleocytoplasmic shuttling. *J Biol Chem* 2004; **279**: 15114–15123.
- [65] RANE SG, REDDY EP. Janus kinases: components of multiple signaling pathways. *Oncogene* 2000; **19**: 5662–5679.
- [66] REDDY EP, KORAPATI A, CHATURVEDI P, RANE S. IL-3 signaling and the role of Src kinases, JAKs and STATs: a covert liaison unveiled. *Oncogene* 2000; **19**: 2532–2547.
- [67] SCHEBESTA M, HEAVEY B, BUSSLINGER M. Transcriptional control of B-cell development. *Curr Opin Immunol* 2002; **14**: 216–223.
- [68] SCHURINGA JJ, SCHEPERS H, VELLENGA E, KRUIJER W. Ser727-dependent transcriptional activation by association of p300 with STAT3 upon IL-6 stimulation. *FEBS Lett* 2001; **495**: 71–76.
- [69] SHAO H, QUINTERO AJ, TWEARDY DJ. Identification and characterization of cis elements in the STAT3 gene regulating STAT3 alpha and STAT3 beta messenger RNA splicing. *Blood* 2001; **98**: 3853–3856.
- [70] SHUAI K. Modulation of STAT signaling by STAT-interacting proteins. *Oncogene* 2000; **19**: 2638–2644.
- [71] SORIANO SF, HERNANZ-FALCON P, RODRIGUEZ-FRADE JM, DE ANA AM, GARZON R, CARVALHO-PINTO C, VILA-CORO AJ, ZABALLOS A, BALOMENOS D, MARTINEZ-A C, MELLADO M. Functional inactivation of CXC chemokine receptor 4-mediated responses through SOCS3 up-regulation. *J Exp Med* 2002; **196**: 311–321.
- [72] TERPOS E, POLITOU M, VINIOU N, RAHEMTULLA A. Significance of macrophage inflammatory protein-1 alpha (MIP-1alpha) in multiple myeloma. *Leuk Lymphoma* 2005; **46**: 1699–1707.
- [73] TSUYAMA N, DANJOH I, OTSUYAMA K, OBATA M, TAHARA H, OHTA T, ISHIKAWA H. IL-6-induced Bcl6 variant 2 supports IL-6-dependent myeloma cell proliferation and survival through STAT3. *Biochem Biophys Res Commun* 2005; **337**: 201–208.
- [74] WASIK MA. Expression of anaplastic lymphoma kinase in non-Hodgkin's lymphomas and other malignant neoplasms. Biological, diagnostic, and clinical implications. *Am J Clin Pathol* 2002; **118** Suppl: S81–92.
- [75] WELTE T, ZHANG SS, WANG T, ZHANG Z, HESSLEIN DG, YIN Z, KANO A, IWAMOTO Y, LI E, CRAFT JE, BOTHWELL AL, FIKRIG E, KONI PA, FLAVELL RA, FU XY. STAT3 deletion during hematopoiesis causes Crohn's disease-like pathogenesis and lethality: a critical role of STAT3 in innate immunity. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003; **100**: 1879–1884.
- [76] WITKOWSKI JM, ZMUDA-TRZEBIATOWSKA E, SWIERCZ JM, CICHOREK M, CIEPLUCH H, LEWANDOWSKI K, BRYL E, HELLMANN A. Modulation of the activity of calcium-activated neutral proteases (calpains) in chronic lymphocytic leukemia (B-CLL) cells. *Blood* 2002; **100**: 1802–1809.
- [77] XIE J, WANG Y, FREEMAN ME 3RD, BARLOGIE B, YI Q. Beta 2-microglobulin as a negative regulator of the immune system: high concentrations of the protein inhibit *in vitro* generation of functional dendritic cells. *Blood* 2003; **101**: 4005–4012.
- [78] YARED MA, KHOURY JD, MEDEIROS LJ, RASSIDAKIS GZ, LAI R. Activation status of the JAK/STAT3 pathway in mantle cell lymphoma. *Arch Pathol Lab Med* 2005; **129**: 990–996.
- [79] YOO JY, HUSO DL, NATHANS D, DESIDERIO S. Specific ablation of Stat3beta distorts the pattern of Stat3-responsive gene expression and impairs recovery from endotoxic shock. *Cell* 2002; **108**: 331–344.
- [80] YUAN ZL, GUAN YJ, CHATTERJEE D, CHIN YE. Stat3 dimerization regulated by reversible acetylation of a single lysine residue. *Science* 2005; **307**: 269–273.
- [81] ZHANG X, DARNELL JE Jr. Functional importance of Stat3 tetramerization in activation of the alpha 2-macroglobulin gene. *J Biol Chem* 2001; **276**: 33576–33581.
- [82] ZHAO H, NAKAJIMA R, KUNIMOTO H, SASAKI T, KOJIMA H, NAKAJIMA K. Region 752-761 of STAT3 is critical for SRC-1 recruitment and Ser727 phosphorylation. *Biochem Biophys Res Commun* 2004; **325**: 541–548.

Redaktor prowadzący – Jerzy Kawiak

Otrzymano: 12.12.2006 r.

Przyjęto: 03.01. 2007 r.

ul. Radziwiłłowska 11, 20-950 Lublin