

## • 临床研究 •

## 信号转导和转录活化因子 3 在骨肉瘤中的表达及临床意义

但丹<sup>1</sup> 陈凤霞<sup>2</sup> 嘉颖<sup>3</sup> 浦飞飞<sup>1△</sup>

**[摘要]** 目的:探讨骨肉瘤中信号转导和转录活化因子 3(STAT3)蛋白表达水平及临床意义。方法:用免疫组织化学法检测 36 例骨肉瘤标本中 STAT3 蛋白表达水平,分析 STAT3 表达水平与患者临床病理特征的相关性。采用 Kaplan-Meier 生存分析探讨 STAT3 表达水平与骨肉瘤患者预后的相关性。结果:STAT3 蛋白阳性反应主要定位于细胞质,36 例骨肉瘤肿瘤组织中 STAT3 高表达 31 例(86.11%),癌旁组织中 STAT3 高表达 13 例(36.11%),差异有统计学意义( $P<0.05$ );STAT3 高表达与患者 Enneking 分期高、化疗反应较差、肺转移发生率高、总生存期短相关,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。结论:STAT3 在骨肉瘤中高表达,其表达强度与患者不良预后正相关。

**[关键词]** 骨肉瘤;信号转导和转录活化因子 3;免疫组织化学法;生存分析;临床预后

**[中图分类号]** R738.1 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1005-0205(2025)02-0029-05

**DOI:**10.20085/j.cnki.issn1005-0205.250206

## Expression and Clinical Significance of Signal Transduction and Transcriptional Activation Factor 3 in Osteosarcoma

DAN Dan<sup>1</sup> CHEN Fengxia<sup>2</sup> JIA Ying<sup>3</sup> PU Feifei<sup>1△</sup>

<sup>1</sup> Wuhan No. 1 Hospital, Wuhan 430022, China;

<sup>2</sup> Zhongnan Hospital of Wuhan University, Wuhan 430071, China;

<sup>3</sup> The First Clinical School, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430022, China.

**Abstract Objective:** To investigate the expression and its clinical significance of signal transduction and transcriptional activating factor 3 (STAT3) protein in osteosarcoma. **Methods:** The expression of STAT3 protein in 36 osteosarcoma samples was detected by immunohistochemistry, and the clinicopathological features of the patients were analyzed. Kaplan-Meier survival analysis was used to investigate the correlation between STAT3 expression and prognosis of patients with osteosarcoma. **Results:** The positive reaction of STAT3 protein was mainly located in cytoplasm. STAT3 was overexpressed in 31 cases (86.11%) and 13 cases (36.11%) of 36 cases of osteosarcoma ( $P<0.05$ ). Patients with high STAT3 expression had high Enneking stages, poor chemotherapy response, high incidence of lung metastasis and short overall survival ( $P<0.05$ ). **Conclusion:** STAT3 protein is highly expressed in osteosarcoma, and its expression intensity is positively correlated with poor prognosis.

**Keywords:** osteosarcoma; signal transduction and transcriptional activation factor 3; immunohistochemical method; survival analysis; clinical prognosis

基金项目:国家自然科学基金项目(82474545,82274559,81904231)

中国博士后科学基金项目(2024T170247,

2024M750820)

湖北省自然科学基金项目(2024AFB1011)

武汉市自然科学基金探索计划(晨光计划)项目(2024040801020366)

<sup>1</sup> 武汉市第一医院(武汉,430022)

<sup>2</sup> 武汉大学中南医院

<sup>3</sup> 华中科技大学同济医学院第一临床学院

△通信作者 E-mail:puifeifei@hust.edu.cn

骨肉瘤是儿童和青少年最常见的原发性骨恶性肿瘤之一,具有复发率高、远处转移发生早、临床预后差的特点<sup>[1]</sup>。近年来,靶向治疗在肿瘤治疗领域取得了显著的进展,深入理解骨肉瘤的发生发展机制,并据此开发新的分子标志物和治疗方法以抑制骨肉瘤的进展,具有至关重要的意义<sup>[2]</sup>。信号转导和转录活化因子 3(Signal Transduction and Transcriptional Activa-

tion Factor 3, STAT3)在细胞内扮演着至关重要的角色, STAT3 作为信号转导的关键分子参与调控细胞增殖、凋亡、迁移以及新生血管形成等多种生物行为, 对于维持细胞功能的正常进行起着不可或缺的作用<sup>[3]</sup>。近年来研究表明, STAT3 在骨肉瘤的发生与发展过程中发挥重要作用, 成为治疗骨肉瘤的一个具有潜力的靶标, 预示着 STAT3 广阔的应用前景和潜在的治疗作用<sup>[4-6]</sup>。本研究通过检测 STAT3 在骨肉瘤组织中的表达水平, 分析其表达高低与患者临床病理特征及预后之间的关联性, 旨在为骨肉瘤的精准诊断与个性化治疗提供理论依据和实验支持, 现报告如下。

1 研究对象和方法

1.1 研究对象

选取 2016 年 6 月至 2022 年 6 月在武汉市第一医院和武汉大学中南医院接受手术治疗的 36 例骨肉瘤患者作为研究对象, 本研究经武汉市第一医院医学伦理委员会审查批准(科伦[2024]50 号), 所有患者及家属均签署知情同意书。

1.2 诊断标准

参考《骨肉瘤临床循证诊疗指南》中的诊断标准临床诊断骨肉瘤<sup>[7]</sup>, 包括患者病史和体格检查, 病变部位的 MRI、CT、X 线平片及胸片、胸部 CT 检查。临床检查可见患肢间歇性疼痛或持续性疼痛, 往往伴随局部肿胀和明显压痛。影像学检查结果显示出新骨生成与骨破坏并存的特点。为明确病理诊断, 所有患者均接受切开活检或穿刺活检, 病理诊断确诊为骨肉瘤。

1.3 纳入标准

1) 所有患者均符合上述诊断标准; 2) 患者及家属同意参加本研究并签署知情同意书; 3) 临床及随访资料完整、真实。

1.4 排除标准

1) 临床病理数据不足的患者; 2) 随访丢失的患者; 3) 合并其他严重疾病的患者。

1.5 方法

1.5.1 免疫组织化学法检测 标本经过去蜡和脱水处理, 将石蜡包埋标本进行连续横断切片, 厚度为 4 μm, 然后在 26 ℃ 下用 3% 过氧化氢孵育 10 min。在沸腾的柠檬酸盐缓冲液中经过抗原修复后, 将切片在 4 ℃ 下用抗 STAT3 抗体孵育过夜。之后将切片在室温下与辣根过氧化物酶结合的抗体孵育 30 min, 再用二氨基苯胺孵育 5 min。两名研究者在光学显微镜下独立检查切片的 5 个随机视野的免疫组织化学法表达情况。STAT3 表达分数根据平均表达强度(0 代表无染色; 1 代表弱染色; 2 代表中度染色; 3 代表强染色)和肿瘤细胞的阳性染色百分比(0 为 0%, 1 为 0%~25%, 2 为 26%~50%, 3 为 51%~75%, 4 为 76%~100%)确定, 测定 STAT3 评分。STAT3 免疫组织化

学法评分 ≤ 2 分为无表达和低表达的病例, 评分 > 2 分被定义为高表达组病例。

1.5.2 治疗方法 在明确患者骨肉瘤的病理诊断后, 采用系统化的综合治疗方案, 涵盖术前与术后的新辅助化疗以及必要的手术治疗。手术治疗包括截肢手术与保肢手术, 其中保肢手术主要为瘤段切除后的肿瘤型假体置换、大段同种异体骨移植以及自体骨灭活后的再植手术等。

1.5.3 随访方法 手术后所有患者每 3~6 个月定期接受影像学检查, 监测局部复发和远处转移及随访患者总生存时间(即从诊断到首次肿瘤进展和死亡的持续时间)。在未发生肿瘤进展或死亡的情况下, 患者在最后一次随访时被截尾。

1.6 统计学方法

用 GraphPad Prism 7.0 和 SPSS 19.0 软件对统计数据进行分析。采用  $\chi^2$  检验和独立样本  $t$  检验比较骨肉瘤肿瘤组织与癌旁组织中 STAT3 表达的差异。采用  $\chi^2$  检验和 Fisher 精确检验评价骨肉瘤患者 STAT3 表达水平与临床病理特征的相关性。所有经单因素分析显著的参数均采用 Cox 回归模型进行多因素分析。生存分析采用 Kaplan-Meier 和 log-rank 检验方法。  $P < 0.05$  差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般资料

该研究包括男 20 例, 女 16 例; 年龄为 5~62 岁, 中位数为 14 岁, 平均为 25.6 岁。9 例患者的肿瘤最长径 < 8 cm, 27 例患者的肿瘤最长径 ≥ 8 cm。肿瘤部位如下: 股骨 22 例, 胫骨 6 例, 骨盆 3 例, 肱骨、桡骨、尺骨等 5 例。Enneking 分期: II A 期 10 例, II B 期 26 例。11 例患者对化疗反应良好(肿瘤坏死率 ≥ 90%), 25 例患者对化疗反应较差(肿瘤坏死率 < 90%)。平均随访时间为 48.26 个月(6~72 个月)。骨肉瘤患者的主要临床特征数据见表 1。

表 1 骨肉瘤患者临床特征数据

临床特征参数		例数	比例/%
性别	男	20	55.56
	女	16	44.44
年龄	≤ 18 岁	23	63.89
	> 18 岁	13	36.11
肿瘤最长径	≤ 8 cm	9	25.00
	> 8 cm	27	75.00
肿瘤位置	股骨和胫骨	28	77.78
	其他	8	22.22
Enneking 分期	II A 期	10	27.78
	II B 期	26	72.22
化疗反应	良好	11	30.56
	较差	25	69.44
远处转移	有	13	36.11
	无	23	63.89

**2.2 骨肉瘤肿瘤组织和癌旁组织中 STAT3 的表达**

免疫组织化学法结果显示,STAT3 主要在骨肉瘤细胞的细胞质和细胞核中表达。36 例骨肉瘤肿瘤组织中 STAT3 高表达 31 例(86. 11%),癌旁组织中 STAT3 高表达 13 例(36. 11%),见图 1。与癌旁组织

标本相比,肿瘤组织标本中 STAT3 的表达水平明显升高,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。

**2.3 骨肉瘤中 STAT3 的表达与临床病理特征的相关性**

基于 STAT3 的免疫组织化学法评分,探讨

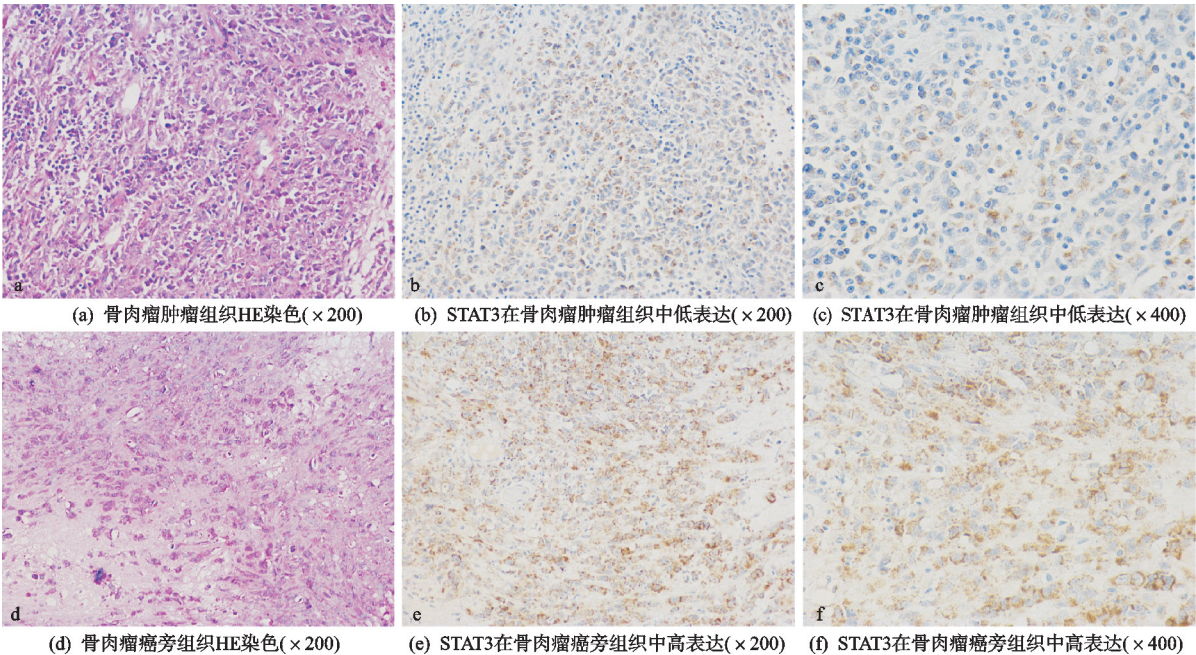


图 1 免疫组织化学法检测骨肉瘤肿瘤组织和癌旁组织 STAT3 表达

STAT3 表达水平与骨肉瘤临床病理特征的相关性,包括性别、年龄、肿瘤最长径、肿瘤位置、浸润分期、化疗反应和远处转移,结果显示 STAT3 蛋白的表达与高 Enneking 分期、化疗反应较差、发生远处转移显著相关( $P<0.05$ ),而骨肉瘤的其他临床病理特征均未显示出与 STAT3 的表达存在相关性( $P>0.05$ ),见表 2。

临床特征参数		例数 /例	STAT3		P
			高表达/例	比例/%	
性别	男	20	17	85.00	0.304
	女	16	14	87.50	
年龄	≤18 岁	23	20	86.96	0.751
	>18 岁	13	11	84.61	
肿瘤最长径	≤8 cm	9	8	88.89	0.176
	>8 cm	27	23	85.19	
肿瘤位置	股骨和胫骨	28	24	85.71	0.082
	其他	8	7	87.50	
Enneking 分期	Ⅱ A 期	10	8	80.00	0.031
	Ⅱ B 期	26	23	88.46	
化疗反应	良好	11	8	72.72	0.026
	较差	25	23	92.00	
远处转移	有	13	10	76.92	0.018
	无	23	21	91.30	

**2.4 骨肉瘤中 STAT3 的表达与生存率的相关性**

STAT3 高表达的患者平均总生存期为 18.50 个

月,生存时间为 5~57 个月,截至末次随访死亡患者 24 例。STAT3 低表达的患者平均总生存期为 47.00 个月,生存时间为 6~76 个月,截至末次随访死亡患者 2 例。与 STAT3 高表达的患者相比,STAT3 低表达的患者平均总生存期更长,两组患者的累积生存率差异有统计学意义( $P<0.05$ )。Kaplan-Meier 生存分析显示 STAT3 高表达和低表达组骨肉瘤患者总生存期的生存曲线见图 2。

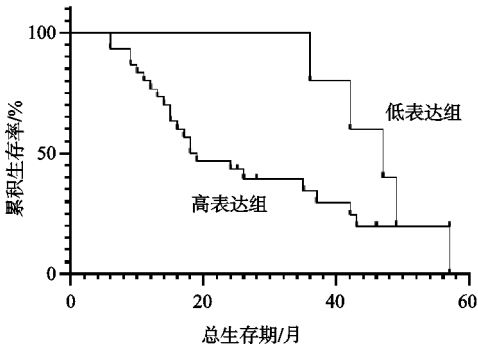


图 2 骨肉瘤患者 STAT3 表达水平的 Kaplan-Meier 生存分析曲线

**3 讨论**

骨肉瘤是儿童和青少年最常见的原发恶性骨肿瘤,目前的常规治疗方法包括新辅助化疗和局限性的肿瘤切除手术<sup>[8]</sup>。虽然联合治疗对骨肉瘤的临床结局有很大的改善,但转移性患者的高转移率和低生存率



仍然是一个全球性问题<sup>[9]</sup>。因此,寻找新的与骨肉瘤预后相关的生物标志物可以提升对骨肉瘤发生发展机制的理解。STAT3 作为包括骨肉瘤在内的多种癌症的潜在治疗靶点已被广泛研究,越来越多的证据证明 STAT3 在各种肿瘤中可以调控代谢和核转录活性<sup>[10]</sup>。

STAT3 在骨肉瘤组织和细胞系中过表达是对骨肉瘤化疗不良反应的良好预测因子。骨肉瘤细胞系与正常骨或软骨瘤组织相比,骨肉瘤细胞中 STAT3 mRNA 和蛋白的表达水平显著升高<sup>[11]</sup>。此外,STAT3 在多种耐药骨肉瘤细胞系中表达增加,可以作为骨肉瘤化疗不良反应的预测标志物<sup>[12]</sup>。STAT3 及其同型异构体作为骨肉瘤基因治疗的潜在靶点,STAT3  $\beta$  亚型可以特异性阻断细胞转化为 STAT3 在骨肉瘤肿瘤组织和骨肉瘤细胞系中表达<sup>[13]</sup>。由此可见,STAT3 既是原癌基因,又是已知癌基因的分子靶点,与骨肉瘤的发生发展有关。

STAT3 作为原癌基因参与调控肿瘤细胞周期、凋亡、肿瘤血管生成,免疫系统的侵袭、转移和逃避等致癌事件。体内外研究表明,间充质干细胞中 IL-6/STAT3 信号通路可促进骨肉瘤细胞的增殖、迁移和转移<sup>[14]</sup>。STAT3 是骨肉瘤药物治疗的潜在靶点,通过与致病基因(如 MMPs 和 EMT 转录因子)的分子相互作用抑制骨肉瘤的发生发展。STAT3 介导组蛋白去乙酰化酶 6 激活程序死亡受体配体-1 表达,通过抑制 T 细胞功能导致体内骨肉瘤的进展<sup>[15]</sup>。肿瘤细胞和肿瘤微环境的免疫细胞中 STAT3 激活,作为参与多途径致癌信号传导的趋同介质,STAT3 激活后可抑制抗肿瘤免疫介质的表达,导致偶联免疫反应<sup>[16]</sup>。此外,STAT3 激活还可以干扰免疫系统的炎症信号,导致免疫逃避<sup>[9]</sup>。STAT3 介导的炎症可影响肿瘤发展各阶段的肿瘤微环境,导致肿瘤的进展、转移和耐药<sup>[17]</sup>。

既往研究表明,骨肉瘤肿瘤组织中 STAT3 高表达与肿瘤发生、发展和预后不良有关,或将成为骨肉瘤治疗的潜在靶点。杨秀英等<sup>[18]</sup>研究发现,骨肉瘤肿瘤组织中 STAT3 蛋白表达率为 63.10%,明显高于软骨瘤的 13.33%,并且 STAT3 蛋白的表达水平与患者 Enneking 分期和肺部远处转移相关性显著。以上结果表明 STAT3 可能是骨肉瘤侵袭、转移的生物学标志物。本研究发现骨肉瘤肿瘤组织中 STAT3 高表达率为 86.11%,癌旁组织中 STAT3 高表达率为 36.11%,STAT3 高表达患者 Enneking 分期、化疗反应较差、肺转移发生率高、总生存期短。分析两者之间差异,可能与组织采样(活检与切除、原发部位与转移部位)等可能影响免疫组织化学法检查结果的因素

有关。

STAT3 是一种细胞内转录因子,是药物治疗的极具挑战的靶点。如何识别和开发用于骨肉瘤治疗的新型有效 STAT3 抑制剂已成为一个具有挑战性的研究领域。STAT3 抑制剂可直接或间接下调与骨肉瘤发生发展相关的靶基因的表达,但需要进一步研究开发化学合成药物或天然化合物的 STAT3 抑制剂,进而通过联合药物治疗提高化疗疗效。白藜芦醇的天然类似物紫菀芪通过抑制 JAK2/STAT 信号通路抑制骨肉瘤细胞生长,是一种有效的 STAT3 抑制剂,当与 AG490 联合应用时,其抗骨肉瘤效果明显增强<sup>[19]</sup>。银杏黄酮是从银杏叶中提取的双黄酮,通过降低骨肉瘤细胞 STAT3 的表达并激活 Caspase-3/9,进而抑制骨肉瘤细胞生长、促进细胞凋亡<sup>[20]</sup>。

综上所述,STAT3 蛋白在骨肉瘤中高表达,其表达强度与患者不良预后正相关。STAT3 可作为一种新的预后生物标志物,预测骨肉瘤患者的不良生存状态。

#### 参考文献

- [1] YAO Y, WANG D, ZHENG L, et al. Advances in prognostic models for osteosarcoma risk[J]. *Heliyon*, 2024, 10(7): e28493.
- [2] 吴蔚, 景豆豆, 曹理, 等. 骨肉瘤免疫治疗的现状和前景[J]. *肿瘤防治研究*, 2022, 49(7): 721-726.
- [3] 董帅, 梁海生, 畅磊, 等. STAT3 在电离辐射响应、肿瘤发展以及组织修复中的作用[J]. *中华放射医学与防护杂志*, 2022, 42(9): 722-726.
- [4] LIU Y, LIAO S, BENNETT S, et al. STAT3 and its targeting inhibitors in osteosarcoma[J]. *Cell Prolif*, 2021, 54(2): e12974.
- [5] 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.
- [6] MIAO J, CHEN S, CAO H, et al. Bruceantinol targeting STAT3 exerts promising antitumor effects in in vitro and in vivo osteosarcoma models[J]. *Mol Carcinog*, 2024, 63(6): 1133-1145.
- [7] 中国医师协会骨科医师分会骨肿瘤专业委员会. 骨肉瘤临床循证指南[J]. *中华骨与关节外科杂志*, 2018, 11(4): 288-301.
- [8] LI X, LIU J. FANCD2 inhibits ferroptosis by regulating the JAK2/STAT3 pathway in osteosarcoma[J]. *BMC Cancer*, 2023, 23(1): 179.
- [9] DUAN X L, GUO J P, LI F, et al. Sunitinib inhibits PD-L1 expression in osteosarcoma by targeting STAT3 and remodels the immune system in tumor-bearing mice[J]. *Future Oncol*, 2020, 16(24): 1815-1824.
- [10] OI T, ASANUMA K, MATSUMINE A, et al. STAT3 inhibitor, cucurbitacin I, is a novel therapeutic agent for osteosarcoma[J]. *Int J Oncol*, 2016, 49(6): 2275-2284.

- [11] 杨锴,王亚莉,杨建萍,等.骨肉瘤和良性骨肿瘤中 PIM-3 和 p-STAT3 蛋白表达的相关性及临床病理意义[J]. 中国实用医刊,2012,39(14):73-75.
- [12] WANG X,DING R,FU Z,et al. Overexpression of miR-506-3p reversed doxorubicin resistance in drug-resistant osteosarcoma cells[J]. Front Pharmacol,2024,15:1303732.
- [13] PARK G B,KIM D J,KIM Y S,et al. Silencing of galec-tin-3 represses osteosarcoma cell migration and invasion through inhibition of FAK/Src/Lyn activation and  $\beta$ -catenin expression and increases susceptibility to chemotherapeutic agents[J]. Int J Oncol,2015,46(1):185-194.
- [14] LIN M C,CHEN G Y,YU H H,et al. Repurposing the diuretic benzamil as an anti-osteosarcoma agent that acts by suppressing integrin/FAK/STAT3 signalling and compromising mitochondrial function[J]. Bone Joint Res, 2024,13(4):157-168.
- [15] CHU Y,NAYYAR G,JIANG S,et al. Combinatorial immunotherapy of N-803(IL-15 superagonist) and dinutuximab with ex vivo expanded natural killer cells significantly enhances in vitro cytotoxicity against GD2<sup>+</sup> pediatric solid tumors and in vivo survival of xenografted immunodeficient NSG mice[J]. J Immunother Cancer,2021,9(7):e002267.
- [16] ZAJC A E,CZARNECKA A M,RUTKOWSKI P. The role of macrophages in sarcoma tumor microenvironment and treatment[J]. Cancers,2023,15(21):5294.
- [17] CHIM L K,WILLIAMS I L,BASHOR C J,et al. Tumor-associated macrophages induce inflammation and drug resistance in a mechanically tunable engineered model of osteosarcoma[J]. Biomaterials,2023,296:122076.
- [18] 杨秀英,王芳,郝强,等. 信号传导及转录活化因子 3 和 Jagged1 在骨肉瘤组织的表达及其临床意义[J]. 中华实验外科杂志,2021,38(12):2515-2517.
- [19] YANG S,WANG B,LIU C,et al. THAP9-AS1 promotes tumorigenesis and reduces ROS generation through the JAK2/STAT3 signaling pathway by increasing SOCS3 promoter methylation in osteosarcoma[J]. Oxid Med Cell Longev,2021:5620475.
- [20] XIONG M,WANG L,YU H L,et al. Ginkgetin exerts growth inhibitory and apoptotic effects on osteosarcoma cells through inhibition of STAT3 and activation of caspase-3/9[J]. Oncol Rep,2016,35(2):1034-1040.

(收稿日期:2024-06-08)

(上接第 28 页)

- [25] NEOGI T,JANSEN T L,DALBETH N,et al. 2015 gout classification criteria:an American College of Rheumatology/European League against Rheumatism Collaborative Initiative[J]. Ann Rheum Dis, 2015, 67(10): 2557-2568.
- [26] TILL U,TRON E,KAROLIUSSEN L F,et al. Two-year reduction of dual-energy CT urate depositions during a treat-to-target strategy in gout in the NOR-Gout longitudinal study[J]. Rheumatology (Oxford), 2022, 61(SI): SI81-SI85.
- [27] 张宪男,顾宇,张樑,等. 中青年四肢痛风石患者手术治疗 50 例[J]. 中国中医骨伤科杂志,2023,31(4):76-79.
- [28] 陈龙凤,肖宇,陶娜. 双源电子计算机断层扫描痛风石检查在痛风诊断中的应用价值[J]. 医疗装备,2022,35(18): 41-43.
- [29] WANG H,YAN C,WU Q,et al. Acute gout attacks during the perioperative period and risk factors of recurrence after orthopedic surgery among untreated gout patients[J]. J Orthop Surg Res,2023,18(1):61.
- [30] AHN S J,ZHANG D,LEVINE B D,et al. Limitations of dual-energy CT in the detection of monosodium urate deposition in dense liquid tophi and calcified tophi[J]. Skeletal Radiol,2021,50(8):1667-1675.

(收稿日期:2024-08-02)