

Role proteinů rodiny STAT v regulaci odpovědi na léčbu chronické hepatitidy C interferonem α

J. Ehrmann jr.¹, K. Aiglová², J. Ehrmann², J. Palas³, P. Kúmpel⁴

¹ Laboratoř molekulární patologie Ústavu patologie Lékařské fakulty UP, Olomouc, přednosta doc. MUDr. M. Tichý, CSc.

² II. interní klinika Lékařské fakulty UP a FN, Olomouc, přednosta Doc. MUDr. Vlastimil Procházka, Ph.D.

³ Oddělení patologie Slezské nemocnice, Opava, přednosta prim. MUDr. J. Palas

⁴ Infekční oddělení Slezské nemocnice, Opava, přednosta prim. MUDr. P. Kúmpel

Souhrn: V současnosti standardně používaná léčba chronické hepatitidy C pomocí dvojkombinace interferonu α a ribavirinu (IFN α /RBV) je úspěšná pouze asi v 50 % případů. Kromě některých klinických a biochemických faktorů, stupně zánětu (gradingu) a míry fibrózy (stagingu), nejsou známy další znaky, které by mohly sloužit jako jednoznačné prediktory odpovědi na terapii. Mezi mechanismy, které ovlivňují interakci viru hepatitidy C (HCV) a IFN α , patří interference HCV se signálními dráhami zprostředkovanými proteiny JAK-STAT, ERK 1/2, NF κ B, MAP atd. Tyto proteiny významně regulují celou řadu buněčných dějů, například aktivují některé cytokiny, aktivují proces apoptózy a ovlivňují též proliferaci buňky. Lze se domnívat, že porušená signalizace respektive poškození či inhibice funkce příslušných proteinů vlivem infekce HCV mohou způsobit rezistenci na léčbu IFN α . Přehled problematiky je doplněn vlastními výsledky pilotní studie, jejímž cílem bylo imunohistochemické stanovení a analýza exprese proteinů STAT 2, 3, jejich inhibitorů SOCS 2, 3 a PIAS 3 a proteinů JAK 1 a ERK 1/2 v jaterních biopsiích 26 pacientů s chronickou hepatitidou C léčených dvojkombinací IFN α /RBV a následná korelace výsledků imunohistochemické analýzy (histoskóre) s histologickým obrazem a klinickou odpovědí na léčbu. Výsledky ukazují na zvýšenou expresi proteinů STAT 3, STAT 2 a ERK 1 a zároveň sníženou expresi SOCS 3 a SOCS 2 v hepatocytech u pacientů s vyšším zánětem a fibrózou. U pacientů se „setrvalou virologickou odpovědí“ byla v hepatocytech zaznamenána zvýšená exprese proteinů SOCS 3 a JAK 1 a snížená exprese SOCS 2. Relaps onemocnění byl provázen zvýšením exprese SOCS 3 a PIAS 3. I když vzhledem k malému počtu pacientů nedosáhly výsledky statistické významnosti, přesto ukazují, že proteiny rodiny STAT a jejich inhibitory z rodiny SOCS a PIAS (zvláště skupina STAT 3, SOCS 3 a PIAS 3) se pravděpodobně mohou podílet na regulaci odpovědi na léčbu infekce HCV.

Klíčová slova: chronická hepatitida C – interferon α – jaterní biopsie – imunohistochemie – STAT – SOCS – predikce

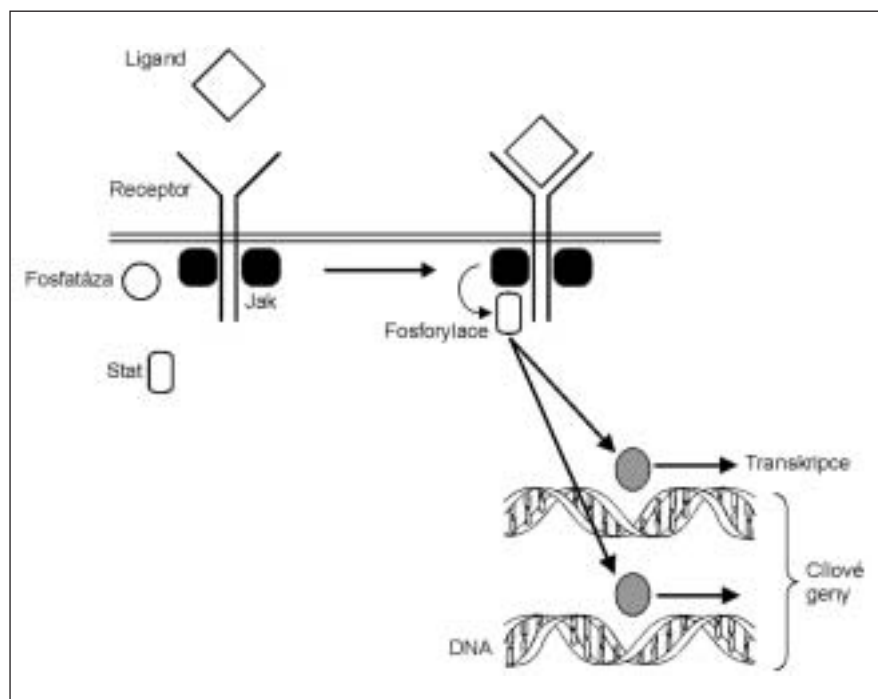
The role of STAT proteins in the regulation of the response to the interferone α therapy in chronic hepatitis C

Summary: The currently used standard treatment for chronic hepatitis C using a dual combination of IFN α /RBV is only successful in 50 % cases. With the exception of some clinical and biochemical factors, degree of inflammation (grading) and degree of fibrosis (staging), there are no other known markers which may serve as valid predictors of response to therapy. Interference of hepatitis C virus (HCV) with signaling pathways modulated by JAK-STAT, ERK 1/2, NF κ B and MAP proteins is one mechanism which may influence the interaction between HCV and IFN α . These proteins regulate different cell processes such as activation of cytokines, activation of apoptosis, regulation of cell proliferation etc. Therefore, it is possible that impaired signaling or inhibition/dysregulation of some of these proteins by HCV infection may cause resistance to IFN α treatment. This review is completed by results of preliminary study the aim of which was immunohistochemical assessment and analysis of expression of STAT 2, 3 proteins, their inhibitors SOCS 2, 3 and PIAS 3 and proteins JAK 1 and ERK 1/2 in liver biopsies of 26 patients with chronic hepatitis C treated by dual combination IFN α /RBV and subsequent correlation of the results of immunohistochemical analysis (histoscore) with histological picture and clinical response to treatment. The results shows increased expression of STAT 3, STAT 2 and ERK 1 proteins and decreased expression of SOCS 3 and SOCS 2 in hepatocytes of patients with more marked inflammation and fibrosis. In patients with sustained virological response there was increased expression of SOCS 3 and JAK 1 and decreased expression of SOCS 2. Relapse was associated with increased expression of SOCS 3 and PIAS 3. However, owing to the small sample size, the results only approximated statistical significance, but we suggest that proteins of STAT family and their inhibitors SOCS and PIAS probably play an important regulatory role during response to treatment for chronic hepatitis C.

Key words: hepatitis C – interferon α – liver biopsy – immunohistochemistry – STAT – SOCS – prediction

Úvod

Infekce virem hepatitidy C (HCV) je v celosvětovém měřítku jedním z nejvážnějších zdravotnických problémů. Celosvětová prevalence se pohybuje okolo 3 % a každoročně je infikováno kolem 4,3–6,4 milionů osob. Skutečná čísla jsou pravděpodobně vyšší, neboť většina onemocnění probíhá bez příznaků a uniká tak diagnostice. Pouze asi 20 % nemocných je schopno virus eliminovat, u až 80 % pacientů však virus perzistuje v těle – vzniká obraz chronické hepatitidy C (projevující se klinicky, laboratorně i histologicky), přecházející v 10–20 % v cirhózu či hepatocelulární karcinom. Smyslem léčby chronické hepatitidy C je tedy snaha eliminovat HCV z těla (tzv. setrvalá virologická odpověď – SVR), potlačit zánětlivý proces a zabránit vzniku hepatocelulárního karcinomu. V současnosti je standardním protokolem dvojkombinační terapie pegylovaným interferonem α (IFN α) a ribavirinem (RBV), která zcela vytlačila původní monoterapii IFN α , jejíž účinnost byla jen 15–25 %, a dvojkombinační terapii nepegylovaným IFN α a RBV, jejíž účinnost byla asi 40 %. Úspěšná odpověď na léčbu (setrvalá virologická odpověď – SVR) je však i při dvojkombinaci pegylovaného IFN α /RBV pouze asi 55–60 % [1,2,3,4,5,6]. Do současné doby nejsou známy ani detailní mechanismy působení IFN α u pacientů infikovaných HCV, ani nejsou známy faktory z oblasti molekulární biologie, které by mohly u pacientů s chronickou hepatitidou C sloužit jako prediktory odpovědi na terapii. Tato nepříznivá situace je především důsledkem faktu, že chybí vhodný model infekce HCV. Dosaďadní pokusy o dlouhodobější kultivaci HCV in vitro selhávají a modely na pokusných zvířatech (šimpanz) jsou velmi nákladné [7]. Nadějně jsou pokusy na geneticky modifikovaných myších, avšak v klinické praxi se jako vhodné prognosticko-prediktivní znaky u pacientů s chronic-



Graf 1. Schéma signální dráhy proteinu STAT.

Tab. 1. Proteiny regulované působením STAT.

STAT	PROTEIN
STAT 1	ISG 54, IRF-1, p 21
STAT 2/3	IFN α/β , JunB, C-reaktivní protein, p 21, BCL-XL
STAT 4	IFN γ , IRF-1, CD 23, MHC třídy II
STAT 5	β -casein, p 21, cyklin D1
STAT 6	IL-4

ISG – interferon stimulated gene, IRF – interferon regulatory factor, p21 – protein 21, IFN – interferon, IL 4 – interleukin 4

kou hepatitidou C jeví pouze hodnoty vstupní viremie, genotyp viru hepatitidy, poměr alaninaminotransferázy/aspartátaminotransferázy (ALT/AST), hodnoty gama-glutamyltransferázy (GGT), věk, pohlaví, tělesná hmotnost a intenzita zánětlivé aktivity procesu (grading) a související míra fibrózy (staging) zjištěné histologickým vyšetřením jaterní biopsie [8,9,10].

Mechanismy ovlivňující interakci HCV a interferonu α

Mechanismy, které ovlivňují interakci HCV a interferonu α , resp. jeho působení u pacientů s chronickou hepatitidou C, lze rozdělit do tří hlavních skupin [11,12]:

1. genotyp HCV
2. viremie (viral load – VL)
3. interference HCV se signálními dráhami regulovanými/aktivovanými interferonem α .

Genotyp HCV

V současné době je popsáno 6 genotypů viru hepatitidy C s více než 50 subtypy. Existují značné geografické rozdíly, v Evropě a USA je nejčastější genotyp 1, naopak např. v Severní Africe či na Blízkém Východě je nejčastější genotyp 4. Je známo, že nosičství genotypu 1 je spojeno s rezistencí vůči léčbě interferonem, respektive že SVR je dosažena pouze asi u 10 % pacientů při monoterapii

IFN α , u pacientů s dvojkombinací IFN α /RBV pak v asi 25–35 %. U genotypu 2 nebo 3 je SVR dosaženo u 60–80 % pacientů. Důvod těchto rozdílů není přesně znám, předpokládá se role více faktorů. Důležitou roli v rezistenci vůči léčbě IFN α hrají některé geny viru HCV, např. E2, jež pravděpodobně blokuje aktivaci PKR (dsRNA-dependent protein kinase), a tím některé důležité buněčné funkce (apoptóza, indukce IFN, proliferace apod) nebo NS5A, u něhož mutace v místě ISDRE (interferon sensitivity determining region) vede k rezistenci na léčbu IFN α [13].

Viremie

Tzv. viral load je v současnosti považován za nezávislý prediktor odpovědi na léčbu. Kvantifikace ribonukleové kyseliny HCV (HCV RNA) je tedy užitečná z hlediska monitorování úspěšnosti léčby. Za vysokou viremii (high viral load) je považováno dosažení více než 800 000 IU/ml. U pacientů s těmito hodnotami je SVR dosažena pouze u 7–13 % v porovnání s 29–31 % u pacientů z nízkou viremii [14].

Interference HCV se signálními dráhami regulovaných/aktivovaných interferonem α

Mezi signální dráhy regulované/aktivované interferonem α patří dráhy zprostředkované proteiny JAK-STAT, ERK 1/2, NF κ B, MAP atd. Tyto tzv. transdukční proteiny vedou indukci transkripce příslušných genů k regulaci celé řady buněčných dějů a lze se domnívat, že porušená signalizace některých těchto drah, resp. poškození či inhibice funkce příslušných proteinů vlivem infekce HCV, mohou způsobit rezistenci na eventuelní léčbu IFN α .

Proteiny rodiny STAT (Signal Transducers and Activator of Transcription) a ERK (Extracellular signal-Regulated Kinase) patří mezi transkripční faktory/proteinkinázy, které po aktivaci, translokaci z cytoplazmy do buněčného jádra a vazbě na speci-

fické oblasti DNA (DNA response elements) ovlivňují expresi různých genů regulujících důležité buněčné funkce (graf 1, tab. 1) [15,16,17]. Pro indukci STAT, respektive jejich fosorylaci a následnou tvorbu homodimerů a heterodimerů, je nutná aktivace rodiny cytoplazmatických tyrozinových kináz JAK (Janus Kinases) [18,19]. Existuje 6 členů rodiny STAT (STAT 1–6), 6 členů rodiny ERK (ERK1–6) a 3 členové rodiny JAK (JAK 1–3). Rodina proteinů JAK tvoří iniciální součást důležité signální dráhy aktivované nadrodinou cytokinových receptorů (tyto receptory totiž nemají vlastní tyrozin kinázovou aktivitu), především receptorů pro interferony (α , β , γ) a interleukiny (zvláště IL 2, IL 3, IL 4, IL 6, IL 7, IL 12, EGF atd). Tyto látky se indukci transkripce příslušných genů cestou JAK/STAT podílejí na regulaci celé řady buněčných dějů, např. na aktivaci dalších cytokinů, modulaci apoptózy a na ovlivnění proliferace buňky [20,21,22,23,24].

Naopak, především růstovými faktory je aktivována rodina proteinů ERK, jež je součástí kaskády RAS-RAF-MEK-ERK. Podobně jako dráha JAK-STAT, tak i tato vysoce konzervovaná signální dráha zabezpečuje přenos extracelulárních signálů do jádra s následným ovlivněním důležitých buněčných funkcí [25,26].

Je prokázáno, že porušená signalizace dráhou JAK/STAT (i přes vzájemné propojení s jinými signálními dráhami) nebo poškození či inhibice funkce příslušných proteinů rodin JAK a STAT mohou být příčinou selhání imunitního dozoru [27,28], ale i napomáhat při vzniku a šíření různých nádorů [29,30]. Je známo, že především poruchy proteinů rodiny STAT (jak ztráta funkce, tak častější nadměrná aktivace) se vyskytují u mnoha nádorů, jako jsou např. leukemie [31], T-lymfomy [32], maligní melanomy [33,34], dlaždicobuněčné karcinomy oblasti hlavy a krku [35], plic [36], mléčné žlázy [37]

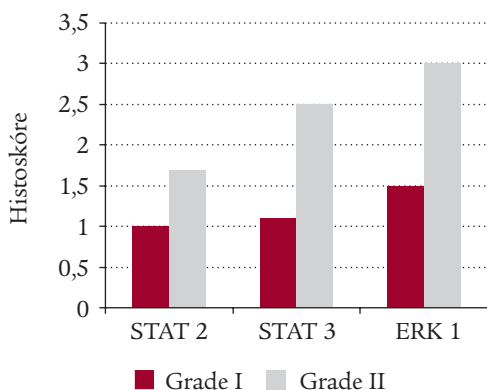
aj. Výsledky nejnovějších prací ukazují také na roli STAT v procesu sebeobnovy nádorových kmenových buněk [38]. Také poruchy signální dráhy resp. proteinů RAS-RAF-MEK-ERK mohou vést ke vzniku různých nádorů či k jejich progresi, jak bylo zjištěno u leukemií [39], maligních melanomů [40] či ovariálních nádorů [41].

Jedním z mechanismů, jak je v játrech udržena chronická infekce HCV, je inhibice antivirové aktivity interferonu α , a to non-strukturálním proteinem 5A (NS 5A) viru. Tento protein interferuje s aktivitou proteinkinázy PKR, která ve svém funkčním stavu po indukci interferonem α blokuje syntézu proteinů [42,43]. Bylo zjištěno, že NS 5A HCV je také schopen aktivovat STAT 3, a to mechanismem oxidativního stresu, jež HCV během své replikace vyvolává [44,45]. STAT 3 je však také aktivován pomocí korového proteinu HCV, a tato aktivace může vést k nádorové transformaci infikované buňky [46]. Aktivita STAT 3 však může také indukovat intracelulární anti-HCV procesy v buňkách [47] a existují i studie, podle kterých je inhibice antivirového účinku IFN α způsobena hypometylací resp. inhibicí STAT 1, STAT 2 a STAT 3 [48,49,50]. Zdá se tedy, že HCV může signální dráhu JAK-STAT regulovat různým způsobem, například v závislosti na stimulaci rozdílnými cytokiny (IL 6 versus IFN α) [51]. Význam role proteinů rodiny STAT u HCV infekce podporují také studie zabývající se přirozenými inhibitory těchto proteinů. Bylo zjištěno, že SOCS jsou schopny inhibovat expresi antivirových proteinů 2,5-OAS a MxA a také IFN α indukovanou aktivaci JAK-STAT [52]. Poslední studie Imanaky [53] dokonce prokazuje, že exprese SOCS 1 může sloužit jako prediktor SVR – s vyšší expresí SOCS 1 koreluje signifikantně nižší SVR.

Infekce virem HCV (zvláště korovými proteiny, tzv. HCV core) však

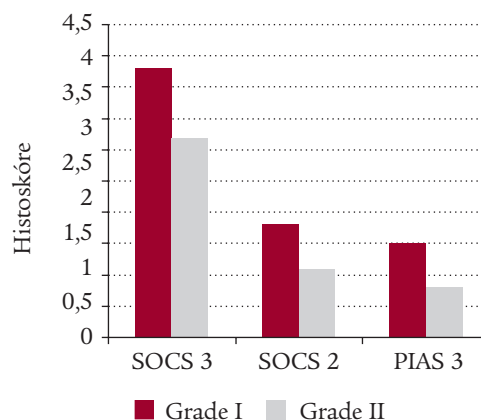
Tab. 2. Použité protilátky.

Protilátka	Klon	Výrobce
Anti-STAT 2 (C20)	Polyclonal rabbit	Santa Cruz Biotechnology Inc., Santa Cruz, California, USA
Anti-phospho STAT 3	Monoclonal mouse 6E4	Chemicon Inc., Temecula, California, USA
Anti-JAK 1 (H 106)	Polyclonal rabbit	Santa Cruz Biotechnology Inc., Santa Cruz, California, USA
Anti-SOCS 2 (H 74)	Polyclonal rabbit	Santa Cruz Biotechnology Inc., Santa Cruz, California, USA
Anti-SOCS 3	Polyclonal rabbit	Santa Cruz Biotechnology Inc., Santa Cruz, California, USA
Anti-PIAS 3 (H 169)	Polyclonal rabbit	Santa Cruz Biotechnology Inc., Santa Cruz, California, USA
Anti-ERK 1 (K23)	Polyclonal rabbit	Santa Cruz Biotechnology Inc., Santa Cruz, California, USA
Anti-ERK 2	Monoclonal mouse D2	Santa Cruz Biotechnology Inc., Santa Cruz, California, USA



Pozn. vysvětlení zkratk a pojmů je uvedeno v textu.

Graf 2. Výsledky – grade (grade I – 17 případů, grade II – 9 případů).



Pozn. vysvětlení zkratk a pojmů je uvedeno v textu.

Graf 3. Výsledky – grade (grade I – 17 případů, grade II – 9 případů).

také může způsobit alteraci jiných důležitých regulačních proteinů, především těch, které se podílejí na procesu zánětu a na procesu potlačení fibrogenese. Mezi tyto proteiny patří RXR, „orphan“-receptor PPAR α , TGF β 1, NF κ B, APO 2 atd. Signální dráhy jsou pravděpodobně vzájemně propojené, protože bylo také prokázáno, že i interferon α je schopen inhibovat proces fibrotizace [54,55]. Přestože existují studie prokazující, že progresse fibrózy je při léčbě IFN α snížena i u skupiny pacientů bez odpovědi [3,4,5], názory na tuto problematiku nejsou jednotné a nelze vyloučit, že staging (intenzita fibrózy) u pacientů rezistentních vůči léčbě IFN α může být vyšší.

Vlastní zkušenosti autorů

Cílem pilotní studie bylo imunohistochemické stanovení a analýza ex-

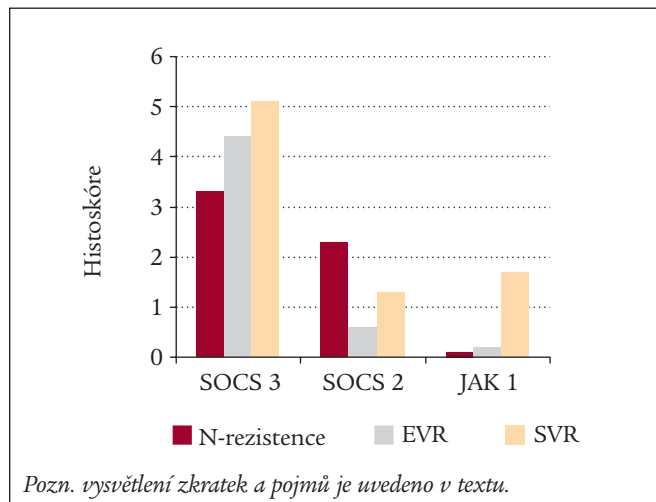
prese proteinů STAT 2, 3, SOCS 2, 3, PIAS 3, JAK 1 a ERK 1/2 v jaterních biopsiích pacientů s chronickou hepatitidou C a korelace výsledků imunohistochemické analýzy s histologickým obrazem a klinickou odpovědí na léčbu.

Pilotní soubor tvořilo 26 pacientů s chronickou hepatitidou C léčených dvojkombinací IFN α /RBV. Kromě ostatních klinických a laboratorních údajů byla sledována odpověď na léčbu (N – rezistence na terapii, EVR – časná virologická odpověď, SVR – setrvalá virologická odpověď) a případný relaps onemocnění. U všech pacientů byla před léčbou provedena biopsie jater. Histologické vyšetření biopsie jater bylo doplněno stanovením grádingu a stagingu chronické hepatitidy C dle Ludwiga/Battse [56].

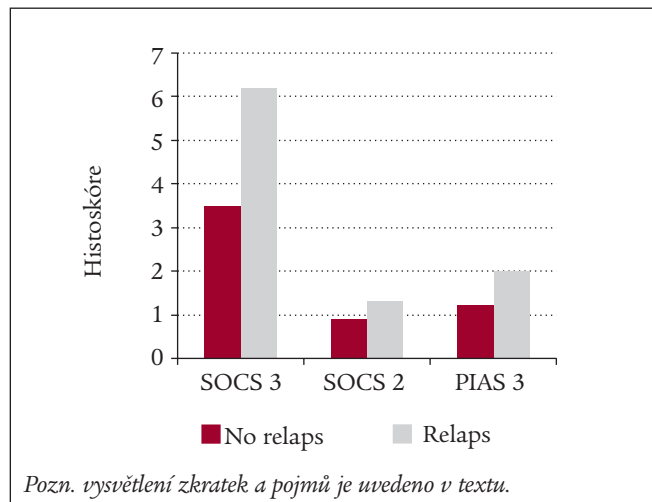
Ke stanovení exprese proteinů STAT, SOCS, JAK, PIAS a ERK v he-

patocytech, v jaterních biopsiích, pomocí monoklonálních a polyklonálních protilátek (tab. 2) byla použita nepřímá imunohistochemická metoda [57] s použitím diaminobenzidinu (DAB) jako chromogenu. Exprese proteinů byla hodnocena semikvantitativně, pomocí tzv. histoskóre, což je součin pozitivita (skóre 0–3) a intenzity (skóre 0–3) barvení – nejvyšší hodnota je 9 [58].

Výsledky ukázaly zvýšenou expresi proteinů STAT 3, STAT 2 a ERK 1 a sníženou expresi jejich inhibitorů – proteinů SOCS 3, SOCS 2 a PIAS 3 v hepatocytech pacientů s vyšší intenzitou zánětu (vyšším grádingem) a s výraznější fibrózou (vyšším stagingem) (graf 2 a 3). V hepatocytech pacientů se setrvalou virologickou odpovědí byla v porovnání s pacienty rezistentními na terapii zjištěna zvýšená exprese SOCS 3 a JAK 1 a snížená



Graf 4. Výsledky – odpověď na léčbu (N – 10 případů, EVR – 5 případů, SVR – 8 případů).



Graf 5. Výsledky – relaps (No relaps – 13 případů, relaps – 6 případů).

expresí SOCS 2 (graf 4). Relaps onemocnění byl doprovázen zvýšenou expresí SOCS 3 a PIAS 3 (graf 5).

I když výsledky, především díky malému počtu pacientů, nedosáhly statistické významnosti, přesto je pravděpodobné, že proteiny rodiny JAK/STAT a jejich inhibitory z rodiny SOCS a PIAS (zvláště skupina STAT 2/3, SOCS 2/3 a PIAS 3) se podílejí na regulaci odpovědi na léčbu infekce HCV. V současnosti však nelze tyto proteiny považovat za jednoznačné prediktory terapie (s výjimkou SOCS 1–53). Studie bude pokračovat na rozšířeném souboru pacientů doplněním kvantifikací fibrózy jater metodou počítačové analýzy obrazu. Bude též analyzována role ostatních členů nadrodiny STAT/JAK a jejich inhibitorů.

Závěr

Stanovení a analýza exprese proteinů signálních drah v závislosti na klinické, laboratorní a histologické (grading, staging) odpovědi na léčbu IFN α může vést k identifikaci molekul s prediktivním významem. Částečné vyřešení této otázky by mohlo přispět k přesnější indikaci léčby IFN α a RBV a vedlo by k větší úspěšnosti léčby. Detekce některých studovaných proteinů by se mohla v blízké budoucnosti stát součástí

standardního vyšetřování při provádění jaterní biopsie před léčbou chronické hepatitidy C.

Podpořeno grantem IGA MZ ČR NR/7814-3 a VZ MSM 6198959216.

Literatura

1. Zuckerman AJ, Thomas HC. Viral hepatitis. Section IV – Hepatitis C virus. 2nd ed. Oxford: Churchill Livingstone 1998; 253–358.
2. Husa P, Urbánek P, Šperl J et al. Diagnostika a léčba chronické hepatitidy C. Vnitř Lék 2005; 51: 1307–1313.
3. Manns MP, McHutchison JG, Gordon SC et al. Peginterferon α -2b plus ribavirin compared with interferon α -2b plus ribavirin for initial treatment of chronic hepatitis C: a randomised trial. Lancet 2001; 358: 958–965.
4. Poynard T, McHutchison JG, Manns M et al. Impact of pegylated interferon α -2b and ribavirin on liver fibrosis in patients with chronic hepatitis C. Gastroenterology 2002; 122: 1303–1313.
5. Shiffman M, Hoffman CM, Contos MJ. A randomised controlled trial of maintenance interferon therapy for patients with chronic hepatitis C virus and persistent viremia. Gastroenterology 1999; 117: 1164–1172.
6. Husa P, Husová L. Treatment of chronic hepatitis C patients with combination of α -interferon and ribavirin, consensus and pegylated interferons. Bratisl Lék Listy 2001; 102: 248–252.
7. Crabb C. Hard-won advances spark excitement about hepatitis C. Science 2001; 294: 506–507.

8. Fontaine H, Nalpas B, Poulet B et al. Hepatitis activity index is a key factor in determining the natural history of chronic hepatitis C. Hum Pathol 2001; 32: 904–909.

9. Husa P. Jaterní biopsie u chronické infekce virem hepatitidy C – nezbytné, vhodné nebo zbytečné? Vnitř Lék 2002; 48: 1004–1006.

10. Zeuzem S. Heterogeneous virologic response rates to interferon-based therapy in patients with chronic hepatitis C: who responds less well? Ann Intern Med 2004; 140: 370–381.

11. Capobianchi MR, Abbate I, Capiello G et al. HCV and interferon: viral strategies for evading innate defence mechanisms in the virus-host battle. Cell Death Differ 2003; 10: S22–S24.

12. Giannini C, Brechot C. Hepatitis C virus biology. Cell Death Differ 2003; 10(Suppl): S27–S38.

13. Enomoto N, Sakuma I, Asahuna Y et al. Mutations in the nonstructural protein 5A gene and response to interferon in patients with chronic hepatitis C virus 1b infection. N Engl J Med 1996; 334: 77–81.

14. Urbánek P. Infekce virem hepatitidy C. Praha: Galén 2004.

15. Darnell JE Jr. STATs and gene regulation. Science 1997; 277: 1630–1635.

16. Taniguchi T. Cytokine signaling through nonreceptor protein tyrosine kinases. Science 1995; 268: 251–255.

17. Seger R, Krebs EG. The MAPK signaling cascade. FASEB J 1995; 9: 726–735.

18. Parganas E, Wang D, Stravopodis D et al. Jak2 is essential for signaling through a variety of cytokine receptors. Cell 1998; 93: 397–409.

19. O'Shea JJ, Gadina M, Schreiber RD. Cytokine signaling in 2002: new surprises in the Jak-Stat pathway. *Cell* 2002; 109(Suppl): S121–S131.
20. Frank DA. STAT signaling in the pathogenesis and treatment of cancer. *Mol Med* 1999; 5: 432–456.
21. Bowman T, Garcia R, Turkson J et al. STATs in oncogenesis. *Oncogene* 2000; 19: 2474–2488.
22. Ward AC, Touw I, Yoshimura A. The Jak-Stat pathway in normal and perturbed hematopoiesis. *Blood* 2000; 95: 19–29.
23. Chapman RS, Lourenco PC, Tonner E et al. Suppression of epithelial apoptosis and delayed mammary gland involution in mice with a conditional knockout of Stat3. *Genes Dev* 1999; 13: 2604–2616.
24. Bromberg JF, Wrzeszczynska MH, Devgan G et al. STAT3 as an oncogene. *Cell* 1999; 98: 295–303.
25. Kyriakis JM. Making the connection: coupling of stress-activated ERK/MAPK (extracellular-signal-regulated kinase/mitogen-activated protein kinase) core signalling modules to extracellular stimuli and biological responses. *Biochem Soc Sym* 1999; 64: 29–48.
26. Hilger RA, Scheulen ME, Strumberg D. The Ras-Raf-MEK-ERK pathway in the treatment of cancer. *Onkologie* 2002; 25: 511–518.
27. Cheng F. A critical role for STAT3 signaling in immune tolerance. *Immunity* 2003; 19: 425–436.
28. Wang T, Niu G, Kortylewski M et al. Regulation of the innate and adaptive immune responses by Stat-3 signaling in tumor cells. *Nature Med* 2004; 10: 48–54.
29. Boudný V, Kovařík J. JAK/STAT signaling pathways and cancer. *Janus kinases/signal transducers and activators of transcription*. *Neoplasia* 2002; 49: 349–355.
30. Ostrand-Rosenberg S, Grusby MJ, Clements VK. Cutting edge: STAT6-deficient mice have enhanced tumor immunity to primary and metastatic mammary carcinoma. *J Immunol* 2000; 165: 6015–6019.
31. Gouilleux-Gruart V, Gouilleux F, Desaint C et al. Stat-related transcription factors are constitutively activated in peripheral blood cells from acute leukaemia patients. *Blood* 1996; 87: 1692–1697.
32. Sun WH, Pabon Y, Alsayed PP et al. Interferon α resistance in a cutaneous T-cell lymphoma cell line is associated with lack of STAT1 expression. *Blood* 1998; 91: 570–576.
33. Kovařík J, Boudný V, Kocák I et al. Malignant melanoma associates with deficient IFN-induced STAT 1 phosphorylation. *Int J Mol Med* 2003; 12: 335–340.
34. Boudný V, Kocák I, Lauerová L et al. Interferon inducibility of STAT 1 activation and its prognostic significance in melanoma patients. *Folia Biologica* 2003; 49: 142–146.
35. Rubin-Grandis J, Drenning SD, Zeng Q et al. Constitutive activation of STAT3 signaling abrogates apoptosis in squamous cell carcinogenesis. *In Vivo* 1998; 97: 4227–4232.
36. Fernandes A, Hamburger AW, Gerwin BI. ErbB-2 kinase is required for constitutive STAT3 activation in malignant human lung epithelial cells. *Int J Cancer* 1999; 83: 564–570.
37. Watson CJ. Stat transcription factors in mammary gland development. *J Mammary Gland Biol and Neoplasia* 2001; 6: 115–127.
38. Nakashima K, Colamarino S, Gage FH. Embryonic stem cells: staying plastic on plastic. *Nature Med* 2004; 10: 23–24.
39. Steelman LS, Pohnert SC, Shelton JG et al. JAK/STAT, Raf/MEK/ERK, PI3K/akt and BCR-ABL in cell cycle progression and leukemogenesis. *Leukemia* 2004; 18: 189–218.
40. Smaley KS. A pivotal role for ERK in the oncogenic behaviour of malignant melanoma? *Int J Cancer* 2003; 104: 527–532.
41. Nicosia SV, Bai W, Cheby JQ et al. Oncogenic pathways implicated in ovarian epithelial cancer. *Hematol Oncol Clin North Am* 2003; 17: 927–943.
42. Waris G, Tardif KD, Siddiqui A. Endoplasmic reticulum (ER) stress: hepatitis C virus induces an ER-nucleus signal transduction pathway and activates NF- κ B and STAT-3. *Biochem Pharmacol* 2002; 64: 1425–1430.
43. Waris G, Siddiqui A. Regulatory mechanisms of viral hepatitis B and C. *J Biosci* 2003; 28: 311–321.
44. Gong G, Waris G, Tanveer R et al. Human hepatitis C virus NS5A protein alters intracellular calcium levels, induces oxidative stress, and activates STAT-3 and NF- κ B. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 98: 9599–9604.
45. Waris G, Turkson J, Hassanein T. Hepatitis C virus (HCV) constitutively activates STAT-3 via oxidative stress: role of STAT-3 in HCV replication. *J Virol* 2005; 79: 1569–1580.
46. Yoshida T, Hanada T, Tokuhisa T et al. Activation of STAT-3 by the hepatitis C virus core protein leads to cellular transformation. *J Exp Med* 2002; 196: 641–653.
47. Zhu H, Shang X, Terada N et al. STAT 3 induces anti-hepatitis C viral activity in liver cells. *Biochem Biophys Res Com* 2004; 324: 518–528.
48. Duong FHT, Filipowicz M, Tripodi M et al. Hepatitis C virus inhibits interferon signaling through up-regulation of protein phosphatase 2A. *Gastroenterol* 2004; 126: 263–277.
49. Melen K, Fagerlund R, Nyqvist M et al. Expression of hepatitis C virus core protein inhibits interferon-induced nuclear import of STATs. *J Med Virol* 2004; 73: 536–547.
50. Heim MH, Moradpour D, Blum HE. Expression of hepatitis C virus protein inhibits signal transduction through the Jak-STAT pathway. *J Virol* 1999; 73: 8469–8475.
51. Hosui A, Ohkawa K, Ishida H et al. Hepatitis C virus core protein differently regulates the JAK-STAT signaling pathway under interleukin-6 and interferon-gamma stimuli. *J Biol Chem* 2003; 278: 28562–28571.
52. Vlotides G, Sörensen AS, Kopp F et al. SOCS-1 and SOCS-3 inhibit IFN- α -induced expression of the antiviral proteins 2,5-OAS and MxA. *Biochem Biophys Res Com* 2004; 320: 1007–1014.
53. Imanaka K, Tamura S, Fukui K et al. Enhanced expression of suppressor of cytokine signalling-1 in the liver of chronic hepatitis C: possible involvement in resistance to interferon therapy. *J Viral Hepat* 2005; 12: 130–138.
54. Mallat A, Preaux AM, Blazejewski S et al. Interferon α and inhibit proliferation and collagen synthesis of human Ito cells in culture. *Hepatology* 1995; 21: 1003–1010.
55. Schuppan D, Krebs A, Bauer M et al. Hepatitis C and liver fibrosis. *Cell Death Differ* 2003; 10(Suppl): S59–S67.
56. Batts KP, Ludwig J. Chronic hepatitis. An update on terminology and reporting. *Am J Surg Pathol* 1995; 19: 1409–1417.
57. Ehrmann J Jr, Galuszková D, Ehrmann J et al. Immunohistochemical analysis of the apoptosis-related proteins, BCL-2, BAX, FAS, FAS-L and PCNA in liver biopsies of patients with chronic hepatitis B virus infection. *Pathol Oncol Res* 2000; 6: 130–135.
58. Lísová S, Ehrmann J, Kolek A et al. Imunohistochemická studie mechanismů apoptózy a proliferace ve sliznici tenkého střeva u celiakální sprue. *Čes Slov Patol* 2005; 41: 85–93.

doc. MUDr. Jiří Ehrmann, Ph.D.
www.ustavpatologie.upol.cz
e-mail: cz953006@tiscali.cz

Doručeno do redakce: 5. 10. 2005
Přijato po recenzi: 16. 12. 2005