

STAT3 jako terapeutyczny punkt uchwytu

STAT3 as a therapeutic target

Katarzyna Papierska, Violetta Krajka-Kuźniak

Katedra i Zakład Biochemii Farmaceutycznej, Uniwersytet Medyczny w Poznaniu

Streszczenie

STAT3 (ang. *signal transducer and activator of transcription* – przekaźnik sygnału i aktywator transkrypcji) jest kluczowym czynnikiem transkrypcyjnym w organizmie ludzkim. Pełni ważną funkcję w przekazywaniu sygnałów zewnątrzkomórkowych oraz w regulacji transkrypcji genów odpowiedzialnych za procesy proliferacji i przeżycia komórek oraz angiogenezy. Konstytutywna aktywacja lub deregulacja STAT3 przyczynia się do występowania raka i może być powiązana z pojawieniem się oporności na konwencjonalne terapie w niektórych nowotworach złośliwych. W związku z powyższym blokowanie ścieżki sygnałowej STAT3 stanowi atrakcyjną strategię interwencji terapeutycznych, a także potencjalną metodę zwiększenia odpowiedzi nowotworu na leczenie. W artykule przedstawiona została charakterystyka i możliwe drogi aktywacji STAT3 wraz z przeglądem stosowanych leków przeciwnowotworowych oraz tych będących w fazie badań przedklinicznych, których działanie wiąże się z ingerencją w przekaźnik sygnałowy STAT3. (*Farm Współ 2020; 13: 29-34*)

Słowa kluczowe: STAT3, leczenie nowotworów, EGFR, oporność wielolekowa

Abstract

STAT3 (signal transducer and activator of transcription) is a crucial transcription factor in the human body. It plays an important role in transmitting extracellular signals and in regulating the transcription of genes responsible for cell proliferation and survival, as well as angiogenesis. Permanent STAT3 activation and deregulation can be associated with conferring resistance to conventional therapies in some malignancies. Therefore, blocking the STAT3 signaling pathway is an attractive strategy for therapeutic interventions as well as a potential method of improving treatment response. This paper describes the structure and activation of STAT3 with the overview of the anticancer drugs used and those in the preclinical phase designed to inhibit this transcription signal factor. (*Farm Współ 2020; 13: 29-34*)

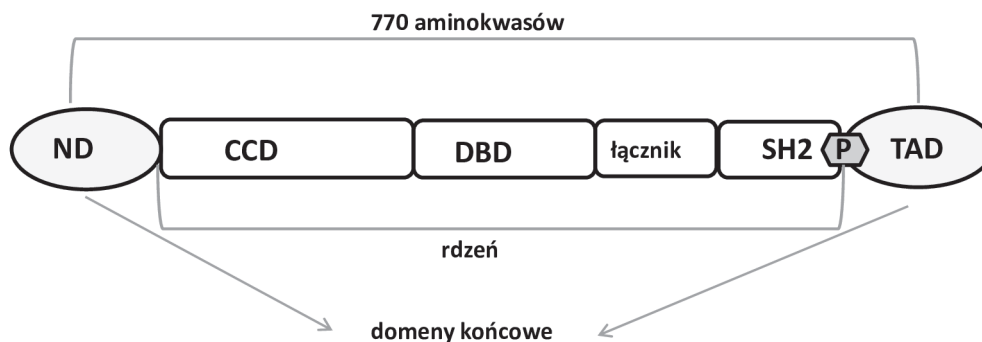
Keywords: STAT3, cancer treatment, EGFR, multi-drug resistance

Przekaźniki sygnałowe i aktywatory transkrypcji (STAT) to rodzina czynników transkrypcyjnych odgrywających ważną rolę w regulowaniu wielu funkcji biologicznych, w tym proliferacji komórek, apoptozy, odpowiedzi zapalnej, angiogenezy i oporności. Wyróżniamy siedem białek STAT (STAT 1, 2, 3, 4, 5a, 5b i 6), które zawierają pomiędzy 750 a 850 aminokwasów i są umieszczone na trzech różnych chromosomach. Geny kodujące STAT1 i STAT4 zlokalizowane są na chromosomie 2, STAT2 i STAT6 na chromosomie 17, a STAT3, STAT5a i STAT5b na chromosomie 12 [1]. Ulegają one aktywacji przez sygnały z cytokin i receptorów czynników wzrostu w błonie plazmatycznej, co umożliwia

regulację transkrypcji genów. Ich unikalną cechą jest pełnienie podwójnej roli, ponieważ są odpowiedzialne za transdukcję sygnału przez cytoplazmę oraz funkcjonują jako czynniki transkrypcyjne w jądrze. Zostały odkryte dzięki zdolności do pośredniczenia w przekazywaniu sygnału z receptorów interferonu (IFN) i interleukiny-6 (IL-6) po związaniu cytokin [2]. Jednym z kluczowych spośród wymienionych białek rodziny STAT jest przekaźnik sygnału i aktywator transkrypcji – STAT3.

Budowa białka STAT3

STAT3 jest białkiem zbudowanym z 770 aminokwasów o masie 89kDa zaliczanych do rodziny



Rycina 1. Struktura białka STAT3
Figure 1. Structure of STAT3 protein

białek STAT. Strukturę białka STAT3 tworzy sześć regionów strukturalnych (rycina 1), które obejmują domenę N-kończącą (ND), domenę zwojową (CCD), domenę wiążącą DNA (DBD), domenę łącznikową, domenę SH2 oraz C-kończącą domenę aktywacji transkrypcji (TAD). Monomeryczny rdzeń tworzy fragment zawierający domeny CCD, DBD, łącznik i SH2. Między domenami SH2 oraz TAD znajduje się segment ogonowy, czyli miejsce fosforylacji Y705 [3]. Domena ND odpowiada za tworzenie dimerów w niefosforylowanych STAT. Domena CCD odpowiada za połączenia z białkami regulatorowymi. Z kolei domena DBD umożliwia wiązanie z odpowiednimi miejscami w promotorze genów, natomiast domena łącznikowa utrzymuje właściwą konformację, a konserwatywna domena SH2 bierze udział w tworzeniu aktywnego dimeru [1].

Aktywacja STAT3

W warunkach fizjologicznych STAT3 jest zlokalizowany w cytoplazmie i jądrze. Przechodzenie STAT3 między tymi kompartmentami komórkowymi jest uzależnione od importyny α -3, α -6 oraz eksportyny 1 (CRM1), z którymi wiąże się on konstytutywnie [4].

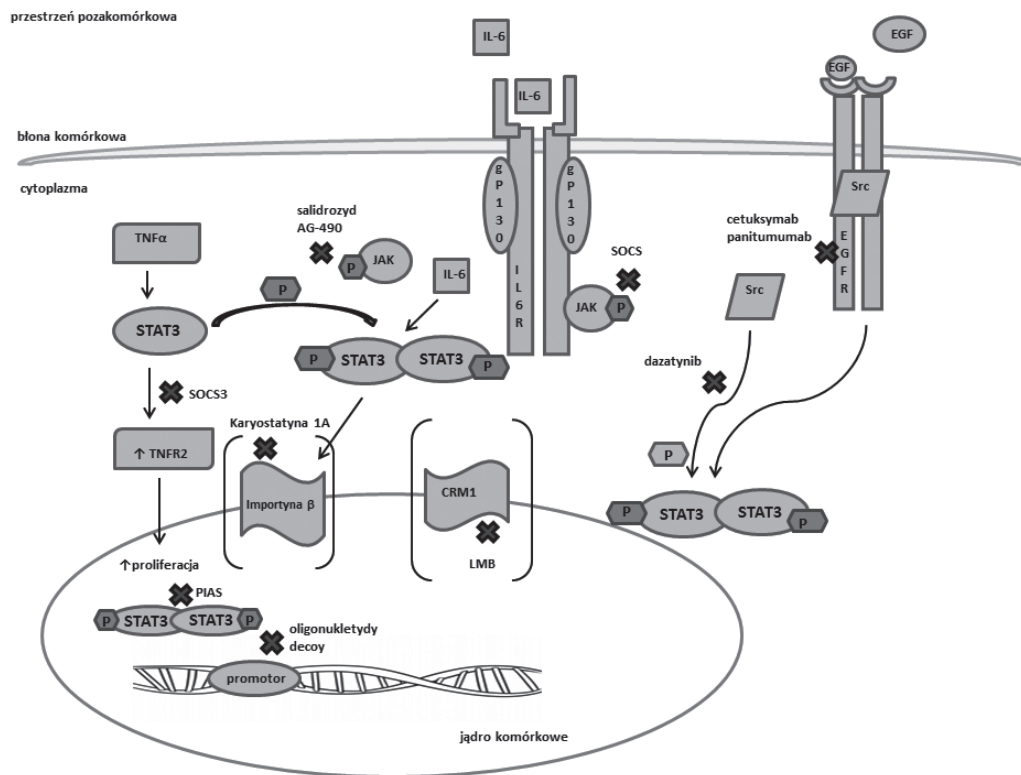
STAT3 może być również aktywowany przez IL-6, IL-7, IL-10, IL-20 i inne cytokiny, w tym czynnik hamujący białaczkę (LIF), kardiostrofinę-1, rzęskowy czynnik neurotropowy (CNTF), interferon γ (IFN- γ), czynnik martwicy nowotworu (TNF- α), białko chemotaktyczne monocytów-1 (MCP-1), makrofagi, zapalne białko-1 α (MIP-1 α), czynnik komórek macierzystych (SCF) i onkostatynę M (OSM) [5,6].

W odpowiedzi na stymulację STAT3 pod wpływem cytokin zaangażowana jest kinaza JANUS zwykle JAK1, która odpowiada za dimeryzację STAT3, a także

jądrowy transport oraz wiązanie do DNA. Z kolei kinaza serynowo-treoninowa STK (ang. *serine-threonine kinase*) pośredniczy w fosforylacji seryny, która powoduje maksymalną aktywność transkrypcyjną STAT3 i transport do mitochondrium.

Zdolność do stymulacji STAT3 wykazują również czynniki wzrostu, m. in. receptor epidermalnego czynnika wzrostu (EGFR), receptor czynnika wzrostu hepatocytów (HGFR), receptor czynnika wzrostu fibroblastów (FGFR), receptor płytkowych czynników wzrostu (PDGFR), receptor insulinopodobnego czynnika wzrostu (IGFR) i receptor czynnika wzrostu śródbłonna naczyń (VEGFR), a także niereceptorowe kinazy tyrozynowe, takie jak kinazy z rodziny Src, Bcr-Abl [7]. Dowiedziono, że Tyr705 może być też aktywowana przez receptor 1-fosforanu sfingozyny (S1PR1), a fosforylacja na serynie 727 może zachodzić dzięki kinazie białkowej, która jest aktywowana mitogenem (MAPK) [8]. Aktywacja STAT3 zachodzi przez fosforylację tyrozyny 705 w C-końcowej domenie, a także przez fosforylację seryny 727 w domenie transaktywacji [9,10]. Również niefosforylowany STAT3 może wykazywać aktywność transkrypcyjną, a ponadto jego działanie regulują też modyfikacje potranslacyjne, np. acetylacja, ubikwitynacja lub metylacja [11].

Aktywacja STAT3 jest kontrolowana przez inhibitory przekaźnictwa sygnału od cytokin – SOCS (ang. *suppressors of cytokine signaling*), białkowe inhibitory aktywnych STAT – białka PIAS (ang. *protein inhibitors of activated STAT*) oraz fosfatazy. Dodatkowo aktywatorami mogą być czynniki takie jak: nikotyna w dymie tytoniowym, bakteryjny lipopolisacharyd (LPS), cząstki spalin, światło ultrafioletowe, stres oksydacyjny, niskie pH, diazoksyd i olanzapina (rycina 2) [9].



Rycina 2. Strategie interwencji terapeutycznej celowanej w ścieżkę sygnałową STAT3
 Figure 2. Therapeutic intervention strategy in the STAT3 signaling pathway

Transdukcja sygnału rozpoczyna się przez dimeryzację gp130 na skutek oddziaływania czynnika wzrostu lub interleukiny. Kolejnym etapem jest fosforylacja kinazy tyrozynowej JAK, co prowadzi do fosforylacji STAT3 w miejscu Tyr705 i Ser727 [2]. Fosforylacja Ser727 jest ważna w procesach nowotworowych, ponieważ np. w glejaku zmniejszona fosforylacja Ser727 powoduje zwiększone ryzyko wystąpienia choroby nowotworowej [12]. Fosforylacja STAT3 umożliwia homodimeryzację. Domena SH oddziałuje z resztą Y705 na innym monomerycznym STAT3, następnie dimery są transportowane do jądra i wiążą ze specyficznymi elementami odpowiedzi DNA w regionach promotorowych, a następnie regulują ich transkrypcję [1,12].

STAT3 jako punkt uchwytu dla leków przeciwnowotworowych

STAT3 to czynnik transkrypcyjny o udowodnionej aktywności w komórkach rakowych, który jest nie tylko zaangażowany w hamowanie ich apoptozy, ale

także w rozwój i progresję kancerogenezy. Dlatego też STAT3 uznano za atrakcyjny punkt uchwytu dla nowych terapii przeciwnowotworowych, co zostało przedstawione na rycinie 2 [14]. Z uwagi na złożony mechanizm aktywacji STAT3 istnieje szereg możliwości oddziaływania na ten czynnik transkrypcyjny m.in. poprzez wpływ na kinazę JAK, białko onkogenne Src, EGFR, blokowanie translokacji do jądra komórkowego i procesu transkrypcji.

Hamowanie fosforylacji STAT3 Inhibitory ścieżki JAK/STAT

Salidrozyd to związek pochodzenia roślinnego, który może hamować proliferację oraz cykl komórkowy, zmniejszać migrację i inwazję komórek SW1116 raka okrężnicy w wyniku blokowania ekspresji białek związanych z sygnalizacją JAK-2/STAT3 (rycina 2) [16]. Podobne rezultaty otrzymano podczas badań na ludzkich liniach komórkowych gruczołu piersiowego. Salidrozyd hamował wówczas przeżywalność

i migrację komórek nowotworowych za pośrednictwem mechanizmu obejmującego ścieżkę sygnałową STAT3, proces transkrypcji metaloproteiny macierzy 2 oraz zależną do VEGF angiogenezę nowotworu [17]. Z kolei badania Lv i wsp. (2016) potwierdzają właściwości przeciwnowotworowe salidrozydu jako inhibitora fazy G1 cyklu komórkowego oraz induktora apoptozy komórek rakowych nerek [18].

Zarówno badania *in vitro*, jak i *in vivo*, z wykorzystaniem **AG-490** (oraz jego analogu LS-104) wykazały, że hamuje on aktywność kinazy JAK2 (rycina 2), zmniejsza poziom aktywnego STAT3 poprzez inhibicję syntezy białka gp130, blokuje wiązanie STAT3 do DNA oraz hamuje wzrost komórek rakowych ostrej białaczki limfoblastycznej [19,20].

Inhibitory białka onkogenego Src

Dazatynib to inhibitor kinaz tyrozynowych, który zatwierdzono do stosowania, po leczeniu imatynibem, u pacjentów z przewlekłą białaczką szpikową oraz w ostrej białaczce limfoblastycznej z chromosomem Philadelphia. Istnieją jednak doniesienia, że przedłużone hamowanie kinazy Src przez dazatynib tylko przejściowo hamuje aktywację STAT3 (rycina 2). Reaktywacja STAT3 po przedłużonym leczeniu dazatynibem wydaje się zachodzić za pośrednictwem zmienionego wiązania JAK-STAT i aktywności kinazy JAK, być może reprezentujących szlak kompensacyjny, który pozwala na przeżycie i proliferację raka, pomimo przewlekłego hamowania Src [21].

Antagoniści EGFR

Cetuksymab i **panitumumab** to przeciwciała monoklonalne ukierunkowane na domenę zewnątrzkomórkową EGFR (rycina 2). Cetuksymab to chimerne przeciwciało mysio-ludzkie, a panitumumab – przeciwciało w pełni ludzkie, skierowane przeciw EGFR. FDA (ang. *Food and Drug Administration*) zatwierdziła zastosowanie przeciwciał monoklonalnych anti-EGFR w leczeniu raka płaskonabłonkowego głowy i szyi (HNSCC). Poza tym przeciwciała te wykazują aktywność u pacjentów z rakiem jelita grubego z przerzutami, u których nie wystąpiła mutacja genu KRAS [22,23]. Niestety przeciwciała monoklonalne, które antagonizują interakcje ligand – EGFR mogą również zakłócać dalszą sygnalizację, a przez to aktywować przeciwnowotworową odporność komórkową [24].

Blokowanie jądrowej translokacji STAT3 poprzez inhibitory importyny β i eksportyny 1

Na podstawie badań, między innymi na linii komórkowej raka szyjki macicy HeLa, opisano działanie **karyostatyny 1A** [25,26]. Karyostatyna 1A to inhibitor importyny β (rycina 2), która obok importyny α i CRM1 reguluje stan pomiędzy proporcjami eksportu i importu ufosforylowanej formy czynnika STAT3 [25,27].

Hamowanie transkrypcji genów docelowych STAT3 poprzez inhibitory miejsca wiązania z promotorem

Oligonukleotydy decoy są potencjalnymi inhibitorami czynników transkrypcyjnych a tym samym ekspresji genów. Traktowanie komórek oligonukleotydem decoy, którego sekwencja ściśle odpowiada elementowi odpowiedzi czynnika transkrypcyjnego, może osłabić interakcję czynnika transkrypcyjnego z sekwencją promotora [29].

Badania wykazały, że czynnik transkrypcyjny STAT3 jest skutecznie blokowany przez oligonukleotydy decoy (rycina 2), względem różnych chorób, w tym chorób nowotworowych. Mechanizm inhibicji opiera się na współzawodnictwie między endogennymi elementami cis w regionach regulatorowych genów docelowych. Zaprojektowany oligonukleotyd posiada sekwencję 5'-CATTTCCTCCGTAATC-3', 3'GTAAAGGGCATTTCAC-5', przypominającą element odpowiedzi w regionie promotora docelowego genu STAT3. Wykazano, że oligonukleotydy decoy zmniejszają aktywność promotora STAT3 i znoszą ekspresję genu docelowego w liniach komórkowych raka głowy i szyi w warunkach *in vitro*. Działanie przeciwnowotworowe oligonukleotydu na decoy STAT3 oceniano także w innych nowotworach, takich jak rak piersi i płuc, gdzie hamowanie wzrostu guza przez oligonukleotydy decoy istotnie blokowało ekspresję docelowego genu STAT3 [21,26].

Oporność wielolekowa a STAT3

Trwała aktywacja STAT3 jest powiązana z rozwojem oporności na konwencjonalne terapie w niektórych nowotworach złośliwych. Celowanie w ścieżkę sygnałową STAT3 stanowi więc potencjalną strategię poprawy odpowiedzi na leczenie. Podwyższony poziom STAT3 odnotowano w kilku opornych na leki komórkach rakowych, w których, w wyniku inaktywacji STAT3, doszło do wzrostu wrażliwości komórek na działanie chemioterapeutyków. Opracowano

kilka strategii ukierunkowanych na szlak STAT3 w warunkach oporności na chemioterapię i radioterapię w przedklinicznych modelach raka układu krwiotwórczego, białaczki, czy guzów litych [29-31]. Nieprawidłowa aktywacja STAT3 w raku pęcherza związana jest z chemioopornością, czego przykładem są komórki nowotworowe Nic-T24. Komórki te, według badań Xia i wsp. (2002) wykazują wzmoczoną aktywność negatywnego regulatora STAT3, mianowicie białka SOCS3 (rycina 2). Obserwowana inhibicja STAT3 pod wpływem leczenia AG-490 zwiększała wrażliwość komórek na środki chemioterapeutyczne [32]. Poza tym AG-490 przywraca wrażliwość chemiczną w opornych na leki hematopoetycznych komórkach nowotworowych, co koreluje z inhibicją ekspresji Bcl-xL, genu kontrolowanego przez STAT3 [31].

Jednym ze sposobów przezwyciężenia oporności na terapię ukierunkowaną na EGFR jest zastosowanie kombinacji środków monoterapeutycznych o różnych mechanizmach działania, tak, aby jednocześnie celować w kilka ścieżek zaangażowanych w patogenezę HNSCC. Podejścia do terapii skojarzonej mogą obejmować dodawanie inhibitorów STAT3 lub białka onkogenego Src wraz ze związkami skierowanymi przeciw EGFR. Przedkliniczne badania HNSCC polegające zarówno na hamowaniu EGFR, jak i STAT3 wykazały indukcję apoptozy komórek rakowych [33].

Z kolei zastosowanie oligonukleotydów decoy, obniżających aktywność STAT3 zmniejszało żywotność komórek i ekspresję docelowych genów STAT3 w modelach opartych na liniach komórkowych

HNSCC. Dodanie inhibitora STAT3 do terapii blokowania EGFR znacznie wzmocniło działanie przeciwnowotworowe w warunkach *in vivo* [24].

Podsumowanie

Ścieżka STAT3 jest istotnym elementem procesów związanych z rozwojem nowotworów, a jej blokowanie może być obiecującym rozwiązaniem w przypadku terapii przeciwnowotworowych. Opracowanie nowych leków, dla których punktem uchwytu są miejsca aktywacji czynnika STAT3 jest uzasadnione między innymi z powodu kontrolowania przez ten czynnik cyklu komórkowego, proliferacji, apoptozy, czy angiogenezy komórek nowotworowych. Dalsze badania powinny być ukierunkowane na interakcje tego szlaku z innymi ścieżkami sygnałowymi kontrolującymi, gdyż stosunkowo niewielkie wskaźniki odpowiedzi nowotworów na środki terapeutyczne skierowane na EGFR, JAK i Src potwierdzają fakt, że hamowanie pojedynczych szlaków może nie być wystarczające do zablokowania aktywacji STAT3.

Konflikt interesów / Conflict of interest

Brak/None

Adres do korespondencji / Correspondence address

✉ Violetta Krajka-Kuźniak

Katedra i Zakład Biochemii Farmaceutycznej

Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

☎ (+48 61) 854 66 20

✉ kpapierska@ump.edu.pl

Piśmiennictwo/References

1. Kamran MZ, Patil P, Gude RP. Role of STAT3 in cancer metastasis and translational advances. *BioMed Res.* 2013. <https://www.hindawi.com/journals/bmri/2013/421821>.
2. Kuchipudi SV. The complex role of STAT3 in viral infections. *J Immunol Res.* 2015. <https://www.hindawi.com/journals/jir/2015/272359>.
3. Ren Z, Mao X, Mertens C, et al. Crystal structure of unphosphorylated STAT3 core fragment. *Biochem Biophys Res Commun.* 2008;374(1):1-5.
4. Germain D, Frank DA. Targeting the cytoplasmic and nuclear functions of signal transducers and activators of transcription 3 for cancer therapy. *Clin Cancer Res.* 2007;13(19):5665-9.
5. Hamilton KE, Simmons JG, Ding S, et al. Cytokine induction of tumor necrosis factor receptor 2 is mediated by STAT3 in colon cancer cells. *Mol Cancer Res.* 2011;9(12):1718-31.
6. Brantley EC, Benveniste EN. Signal transducer and activator of transcription-3: a molecular hub for signaling pathways in gliomas. *Mol Cancer Res.* 2008;6(5):675-84.
7. Debnath B, Xu S, Neamati N. Small molecule inhibitors of signal transducer and activator of transcription 3 (STAT3) protein. *J Med Chem.* 2012;55(15):6645-68.
8. Lee H, Pal SK, Reckamp K, et al. STAT3: a target to enhance antitumor immune response. *Cancer Immunol Immun.* 2011. https://doi.org/10.1007/82_2010_51.
9. Siveen KS, Sikka S, Surana R, et al. Targeting the STAT3 signaling pathway in cancer: Role of synthetic and natural inhibitors. *Biochim Biophys Acta BBA – Rev Cancer.* 2014;1845(2):13654.

10. Androutsellis-Theotokis A, Leker RR, Soldner F, et al. Notch signalling regulates stem cell numbers in vitro and in vivo. *Nature*. 2006;442(7104):823-6.
11. Galoczova M, Coates P, Vojtesek B. STAT3, stem cells, cancer stem cells and p63. *Cell Mol Biol Lett*. 2018;23(1):12. <https://doi.org/10.1186/s11658-018-0078-0>.
12. Mandal T, Bhowmik A, Chatterjee A, et al. Reduced phosphorylation of Stat3 at Ser-727 mediated by casein kinase 2 — Protein phosphatase 2A enhances Stat3 Tyr-705 induced tumorigenic potential of glioma cells. *Cell Signal*. 2014;26(8):1725-34.
13. Buettner R, Mora LB, Jove R. Activated STAT signaling in human tumors provides novel molecular targets for therapeutic intervention. *Clin Cancer Res*. 2002;8(4):945-54.
14. Furqan M, Akinleye A, Mukhi N, et al. STAT inhibitors for cancer therapy. *J Hematol Oncol J Hematol Oncol*. 2013. <http://www.jhonline.org/content/6/1/90>.
15. Catlett-Falcone R, Landowski TH, Oshiro MM, et al. Constitutive activation of STAT3 signaling confers resistance to apoptosis in human U266 myeloma cells. *Immunity*. 1999;10(1):105-15.
16. Sun K-X, Xia HW, Xia RL. Anticancer effect of salidroside on colon cancer through inhibiting JAK2/STAT3 signaling pathway. *Int J Clin Exp Pathol*. 2015;8(1):61-21.
17. Kang DY, Sp N, Kim DH, et al. Salidroside inhibits migration, invasion and angiogenesis of MDAMB 231 TNBC cells by regulating EGFR/Jak2/STAT3 signaling via MMP2. *Int J Oncol*. 2018;53(2):877-85.
18. Lv C, Huang Y, Liu ZX, et al. Salidroside reduces renal cell carcinoma proliferation by inhibiting JAK2/STAT3 signaling. *Cancer Biomark*. 2016;17(1):41-7.
19. Meydan N, Grunberger T, Dadi H, et al. Inhibition of acute lymphoblastic leukaemia by a Jak-2 inhibitor. *Nature*. 1996;379(6566):645-8.
20. Jing N, Twardy DJ. Targeting Stat3 in cancer therapy. *Anticancer Drugs*. 2005;16(6):601-7.
21. Sen M, Tosca PJ, Zwyer C, et al. Lack of toxicity of a STAT3 decoy oligonucleotide. *Cancer Chemother Pharmacol*. 2009;63(6):983-95.
22. Jonker DJ, O'Callaghan CJ, Karapetis CS, et al. Cetuximab for the Treatment of Colorectal Cancer. *N Engl J Med*. 2007;357(20):2040-8.
23. Amado RG, Wolf M, Peeters M, et al. Wild-Type KRAS is required for panitumumab efficacy in patients with metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol*. 2008;26(10):1626-34.
24. Sen M, Joyce S, Panahandeh M, et al. Targeting STAT3 abrogates EGFR inhibitor resistance in cancer. *Clin Cancer Res*. 2012;18(18):4986-96.
25. Liu L, McBride KM, Reich NC. STAT3 nuclear import is independent of tyrosine phosphorylation and mediated by importin- α 3. *Proc Natl Acad Sci*. 2005;102(23):8150-5.
26. Arshad S, Naveed M, Ullia M, et al. Targeting STAT-3 signaling pathway in cancer for development of novel drugs: Advancements and challenges. *Genet Mol Biol*. 2020. <http://dx.doi.org/10.1590/1678-4685-GMB-2018-0160>.
27. Hintersteiner M, Ambrus G, Bednenko J, et al. Identification of a small molecule inhibitor of importin beta mediated nuclear import by confocal on-bead screening of tagged one-bead one-compound libraries. *ACS Chem Biol*. 2010;5(10):967-79.
28. Bhattacharya S, Schindler C. Regulation of STAT3 nuclear export. *J Clin Invest*. 2003;111(4):553-9.
29. Leong PL, Andrews GA, Johnson DE, et al. Targeted inhibition of STAT3 with a decoy oligonucleotide abrogates head and neck cancer cell growth. *Proc Natl Acad Sci*. 2003;100(7):4138-43.
30. Chen RJ, Ho YS, Guo HR, et al. Long-term nicotine exposure-induced chemoresistance is mediated by activation of STAT3 and downregulation of ERK1/2 via nAChR and beta-adrenoceptors in human bladder cancer cells. *Toxicol Sci*. 2010;115(1):118-30.
31. Alas S, Bonavida B. Inhibition of constitutive STAT3 activity sensitizes resistant non-hodgkin's lymphoma and multiple myeloma to chemotherapeutic drug-mediated apoptosis. *Clin Cancer Res*. 2003;9(1):316-26.
32. Xia L, Wang L, Chung AS, et al. Identification of both positive and negative domains within the epidermal growth factor receptor COOH-terminal region for signal transducer and activator of transcription (STAT) activation. *J Biol Chem*. 2002;277(34):30716-23.
33. Chen LF, Cohen EEW, Grandis JR. New strategies in head and neck cancer: understanding resistance to epidermal growth factor receptor inhibitors. *Clin Cancer Res*. 2010;16(9):2489-95.