

网络出版时间:2025-08-28 16:11:00 网络出版地址:https://link.cnki.net/urlid/34.1065.R.20251028.1127.005

STAT4 在肺腺癌中的表达及其功能研究

柴倩¹,张砚珂²,吴敏¹,赵磊¹

(¹ 安徽医科大学第一附属医院呼吸与危重症医学科,安徽省公共卫生临床中心呼吸与危重症医学科,合肥 230022;² 安徽医科大学附属阜阳医院呼吸与危重症医学科,阜阳 236000)

摘要 目的 探讨信号转导与转录激活因子4(STAT4)在肺腺癌(LUAD)中的表达水平,并分析其对LUAD细胞增殖、侵袭和迁移能力的影响。方法 通过高通量基因表达数据库(GEO)、人类蛋白质图谱数据库(HPA)以及卡普兰-迈耶绘图数据库(Kaplan-Meier Plotter)探究STAT4在LUAD中的表达及对患者生存的影响。使用慢病毒包装技术构建STAT4敲低的LUAD细胞稳系,然后用RT-qPCR检测STAT4的敲低效率。再利用CCK-8技术和细胞克隆形成实验检测STAT4对LUAD细胞增殖的影响,同时利用细胞划痕试验和Transwell实验检测STAT4对LUAD细胞侵袭和迁移能力的影响。结果 STAT4在LUAD中低表达,且其低表达不利于LUAD患者的生存。在LUAD中敲低STAT4后,LUAD细胞的增殖、侵袭和迁移能力增强。结论 STAT4是LUAD中的预后标记蛋白,对LUAD细胞的增殖、侵袭和迁移能力有抑制作用,其有望成为新的治疗靶点。

关键词 肺腺癌;STAT4;敲低;细胞增殖;细胞迁移;细胞侵袭

中图分类号 R 734.2

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2025)10-1799-09

doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2025.10.004

近年来,在全球范围内肺癌的发病率逐渐上升^[1],由于肺癌起病隐匿,常常在疾病晚期才被诊断出来,所以肺癌患者的5年存活率很低^[2]。早期发现肺癌可以有更好的治疗效果,探索肺癌的潜在靶点和预后标志物对肺癌具有重要意义^[3]。信号转导和转录激活因子(signal transducer and activator of transcription, STAT)是细胞质转录因子的一个基因家族,已被确定为DNA结合蛋白的主要组分,这些蛋白响应多种细胞因子并激活基因转录^[4-5]。研究^[6]表明,STAT家族中的7个不同成员(STAT1、STAT2、STAT3、STAT4、STAT5A、STAT5B和STAT6)可调节许多生理和病理过程,在许多生物过程中发挥着重要作用,包括细胞增殖、分化、凋亡和存活。STAT4主要由白细胞介素(interleukin, IL)-12激活,在Th1细胞的分化中起关键作用并且在调节抗病毒防御、诱导细胞死亡和生长停滞方面也起着重要的作用^[7]。STAT4与肿瘤的发生和进展有一定的关系,其在结直肠癌的侵袭性和转移性表型的获得中发挥作用,还与胃癌的转移密切相关^[8]。STAT

家族在各种癌症进展中起关键作用,并已被确定为潜在的治疗靶点^[9]。然而,STAT家族在肺癌患者中的预后价值尚未完全表征。本研究探讨STAT4在肺腺癌(lung adenocarcinoma, LUAD)中的作用及功能,为STAT4作为LUAD全新的治疗靶点提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 材料 肺腺癌细胞(A549、PC9)、人胚肾细胞(293T)购自武汉普诺赛生命科技有限公司;胎牛血清购自南京生航生物技术有限公司;高糖液体培养基、聚凝胺、嘌呤霉素购自合肥白鲨生物科技有限公司;RNA提取试剂盒购自山东思科捷生物技术有限公司;限制性内切酶(AgeI、EcoRI)均购自北京安诺伦生物技术有限公司;细胞增殖及毒性检测试剂盒CCK-8购自广州信天翁生物技术有限公司;细胞培养小室购自苏州甄选生物技术有限公司; β -actin抗体购自武汉三鹰生物技术有限公司(66009-1-Ig);STAT4抗体购自美国Med Chem Express公司(HY-P80903);RT-qPCR引物购自合肥有康生物有限公司。引物序列见表1。

1.2 生物信息分析方法

1.2.1 卡普兰-迈耶绘图数据库(Kaplan-Meier Plotter) Kaplan-Meier Plotter数据库是一个权威的生存分析工具,用于评估基因表达与患者生存率之

2025-07-04 接收

基金项目:安徽省高等学校科学研究项目(编号:2022AH050790、2024AH050746)

作者简介:柴倩,女,硕士研究生;

赵磊,男,博士,教授,博士生导师,通信作者,E-mail: ayefyzaolei@163.com

表1 引物碱基序列

Tab.1 Sequences of primers

Gene name	Primer sequences(5'-3')
GAPDH	F:CAACTGCTTAGCACCCCTGG
	R:GTCAAAGGTGGAGGAGTGGG
STAT4	F:AATGGGCTCGACCAGCTTC
	R:AGGTGACTCTTCTAGCATGTGA

间的关系,能够直接绘制生存曲线。本研究使用该数据库分析 STAT4 对 LUAD 患者生存的影响。

1.2.2 高通量基因表达数据库 (gene expression omnibus data base, GEO) GEO 是美国国立生物技术信息中心 (National Center for Biotechnology Information, NCBI) 创建并维护的基因表达数据库。数据库提供的数据类型包括基因表达综合系列 (gene expression omnibus series, GSE) 数据编号、基因表达综合样本 (gene expression omnibus sample, GSM) 数据编号。本研究通过 GSE103512 和 GSE21933 数据集的分析,探究 STAT4 在 LUAD 中的表达水平。

1.2.3 人类蛋白质图谱数据库 (human protein atlas, HPA) HPA 数据库分为细胞、组织、病理 3 个部分,分别展示了蛋白在细胞、正常组织和癌变组织中的表达情况,其结果用免疫组化染色图表示。本研究中免疫组化图来源于该数据库。

1.3 方法

1.3.1 细胞培养 A549、PC9 和 293T 用含 10% 胎牛血清的 DMEM 高糖培养基于 37 °C、5% CO₂ 培养箱。

1.3.2 构建 STAT4 敲低及过表达载体 根据实验需要,选择 pLKO.1 载体,用 AgeI、EcoRI 内切酶双酶切 pLKO.1 载体。根据引物设计原则设计引物,退火后得到目的片段。与酶切后的 pLKO.1 载体酶联,得到 pLKO.1-STAT4 shRNA 的载体。pLVX 载体使用 EcoRI 内切酶酶切 pLVX 载体。根据引物设计原则设计引物,PCR 扩增得到目的片段。与酶切后的 pLVX 载体同源重组,得到 pLVX-STAT4 的载体。

1.3.3 STAT4 敲低及过表达细胞稳系构建 取两个 1.5 mL 离心管,分为 A 管和 B 管。A 管:将 5 μg 骨架质粒、2.5 μg 的慢病毒包装质粒 (VSV-G) 质粒和 5 μg 的 P8.9 质粒加入到 400 μL Opti-MEM 中并混匀。B 管:将 37.5 μL 转染试剂聚乙烯亚胺 (polyethyleneimine, PEI) 加入到 400 μL Opti-MEM 中静置 5 min, A、B 管混匀后室温静置 15 min。将混合液均匀加入 293T 细胞中,放入培养箱孵育 16 h 后换液。分别于转染 48、72 h 后用 0.45 μm 的滤器过滤 293T 病毒上清液。将收集的病毒感染 A549 细胞和 PC9

细胞,并于 12 h 后加入 2 μg/mL 嘌呤霉素,筛选 48 h 后进行后续细胞实验。细胞实验中,敲低组中 NonT shRNA 细胞为对照组,STAT4 shRNA 细胞为实验组;而过表达组中 Control 细胞为对照组,pLVX STAT4 细胞为实验组。

1.3.4 RT-qPCR 实验 收集细胞,使用 RNA 提取试剂盒提取细胞总 RNA,反转录成 cDNA 后进行实时荧光定量 PCR 扩增(引物序列见表 1)。

1.3.5 CCK-8 实验 准备敲低的 STAT4 细胞,密度生长至 80% ~ 90% 时消化细胞。用无血清培养基将细胞制成每毫升培养基含 2 × 10⁵ 个细胞的单细胞悬液。每孔取 100 μL 单细胞悬液,3 个孔为 1 次重复。待细胞贴壁后将培养基和 CCK-8 以 10 : 1 的比例混合,每孔加入 100 μL 混合试剂。孵育 1.5 h 后,用酶标仪检测 450 nm 波长的吸收峰,连续处理 5 d。

1.3.6 克隆形成实验 计数前的实验步骤同 CCK-8 实验,取 50 μL 单细胞悬液,铺于 6 孔板中,每 3 天换 1 次液,培养 14 d。收出 6 孔板用 PBS 清洗 3 次,多聚甲醛固定 10 min,结晶紫染色 10 min 后拍照。

1.3.7 划痕试验 慢病毒感染 LUAD 细胞后待细胞密度至 90% 左右,用 200 μL 吸头在 6 孔板内垂直于板底面划痕。弃去原有培养液,使用 PBS 漂洗 3 次冲去漂浮细胞。用不含胎牛血清的 DMEM 继续培养,4 倍光学显微镜下每隔 12 h 采集 1 次划痕图片,Image J 软件分析平均划痕宽度,并计算划痕愈合率。划痕愈合率 = (0 h 划痕宽度 - 72 h 划痕宽度) / 0 h 划痕宽度 × 100%。

1.3.8 Transwell 实验 细胞迁移检测:在 6 孔板中用 10% 血清的培养基培养细胞,密度生长至 80% ~ 90% 时消化细胞。用无血清培养基将细胞制成每毫升培养基含 4 × 10⁵ 个细胞的单细胞悬液,小室内加单细胞悬液,小室底部加完全培养基,将小室置于培养箱中培养 14 h。弃掉培养液,PBS 清洗 2 次,4 °C 固定 30 min,室温结晶紫染色 30 min 后显微镜下观察并计数。细胞侵袭检测:在小室中加入 100 μL 基质胶,1 h 后再加入细胞悬液,其余实验步骤同细胞迁移实验。

1.4 统计学处理 本文所涉及的数据分析和作图均由 GraphPad Prism 8.0.2 进行图形绘制,两组间比较符合正态分布者用独立样本 *t* 检验,不符合正态分布者用秩和检验,多组间均数比较采用单因素方差分析,*P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 STAT4 在 LUAD 中低表达,且其低表达不利

于 LUAD 患者的生存 为探究 STAT4 对 LUAD 患者生存的影响,该实验使用 Kaplan-Meier Plotter 数据库进行生存分析。结果显示,STAT4 低表达时患者生存期短,STAT4 高表达的时候患者生存期长(图 1A);通过 GEO 数据库中 GSE103512、GSE21933 数据集分别对 STAT4 在正常组织和 LUAD 组织中的表达量进行分析,显示 STAT4 在 LUAD 组织中低表达(图 1B);同时对 HPA 数据库中 STAT4 免疫组化数据进行分析,结果显示,STAT4 在 LUAD 组织中的表达水平低于正常肺组织(图 1C);通过 RT-qPCR(图 1D)和 Western blot 实验(图 1E),表明了 STAT4 在 LUAD 细胞系中低表达。

2.2 STAT4 shRNA 载体构建 根据实验目的选择慢病毒载体 pLKO.1(图 2A)。用 AgeI、EcoRI 酶切 pLKO.1 载体(图 2B),根据设计的引物退火后得到目的片段,用酶切后的 pLKO.1 载体与目的片段酶联,测序后结果比对显示,pLKO.1-STAT4 shRNA 载体构建成功(图 2C)。

2.3 检测 STAT4 在 LUAD 中的敲低效率 为了验证 STAT4 shRNA 的敲低效率,该实验进行了 RT-qPCR 和 Western blot 实验。结果显示,在 LUAD 细胞系中 STAT4 shRNA 组细胞中 STAT4 的 mRNA 和蛋白表达水平均低于 NonT shRNA 组(图 3),提示 STAT4 的敲低稳系构建成功。

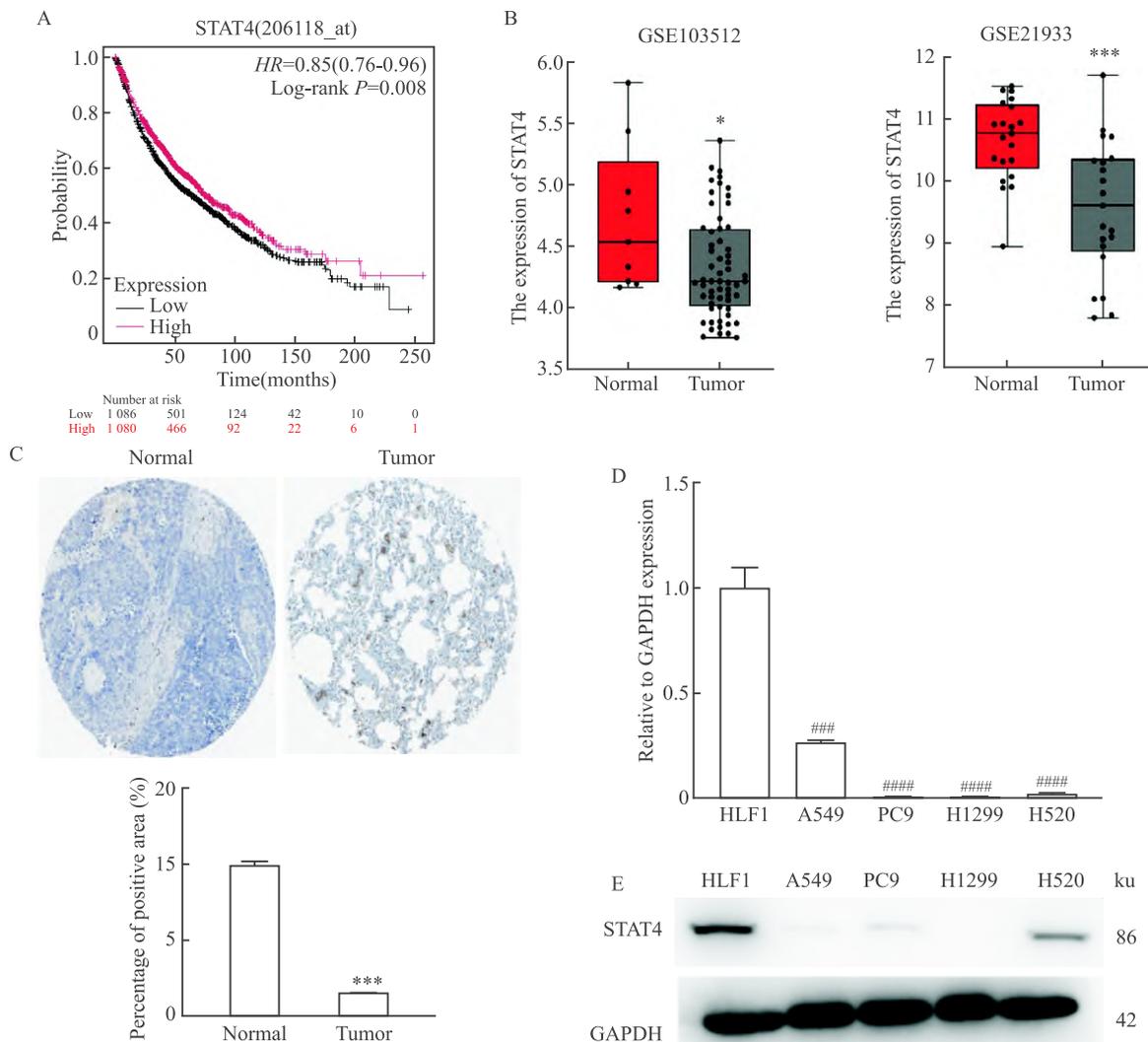


图 1 STAT4 在肺腺癌中低表达且与患者生存期呈正相关

Fig. 1 STAT4 expression levels were lower and positively correlated with patient survival in LUAD

A: Survival analysis of STAT4 was performed using the Kaplan-Meier Plotter database; B: The expression levels of STAT4 were analyzed in the GSE103512 and GSE21933 datasets; C: The HPA database was used to detect STAT4 expression in normal tissues and LUAD tissues $\times 4$; D: RT-qPCR results showed the low expression of STAT4 in LUAD; E: Western blot results showed the low expression of STAT4 in LUAD; * $P < 0.05$, *** $P < 0.001$ vs Normal group; ### $P < 0.001$, #### $P < 0.0001$ vs HLF1 group.

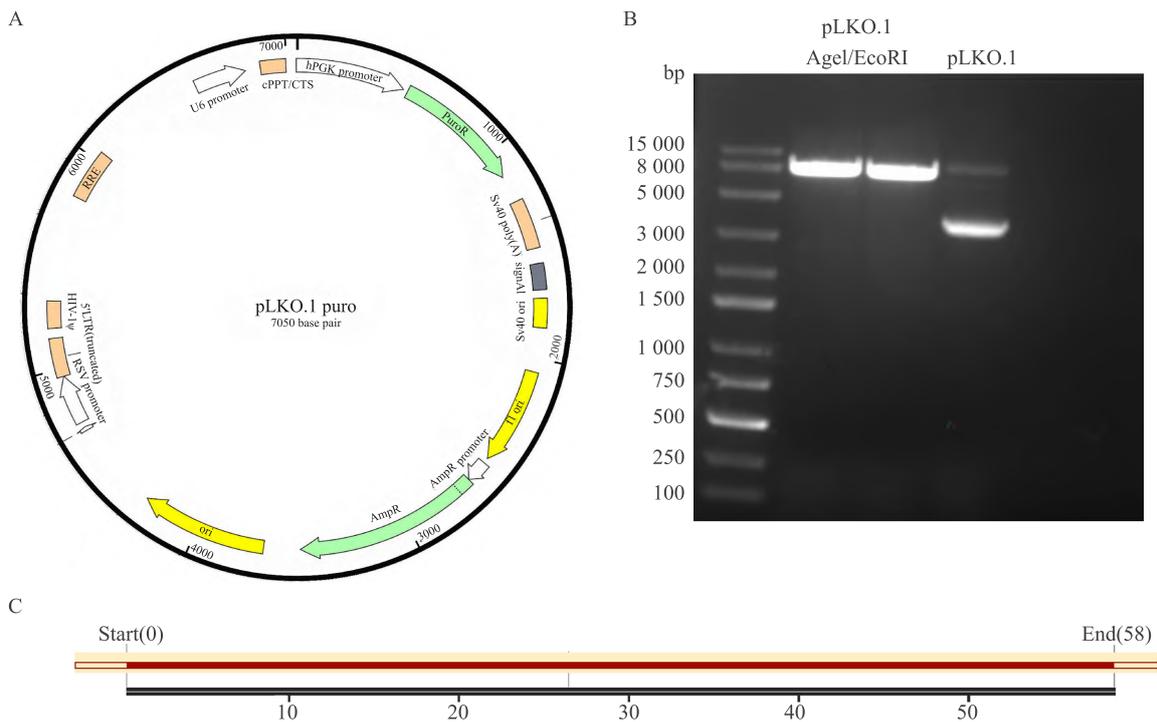


图2 STAT4 shRNA 载体构建

Fig. 2 Construction of STAT4 shRNA vector

A: Schematic diagram of the pLKO.1 vector; B: Agarose gel electrophoresis image of the pLKO.1 vector digested by AgeI and EcoRI enzymes; C: Sequencing result alignment map of the pLKO.1-STAT4 shRNA vector.

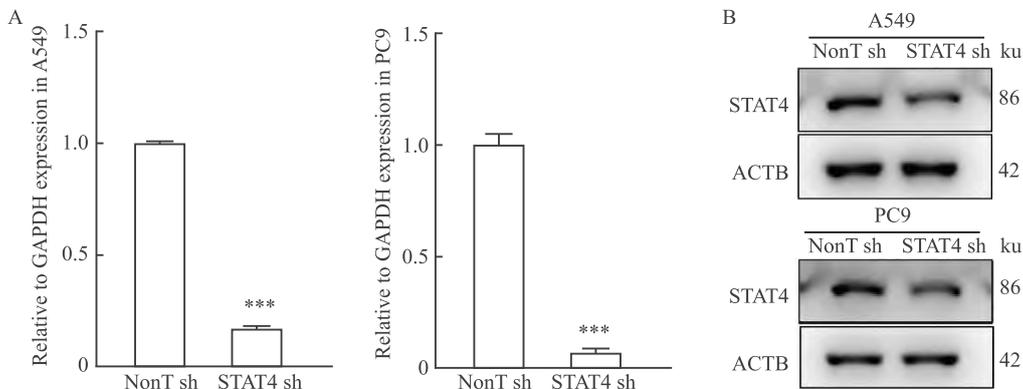


图3 STAT4 敲低 LUAD 稳系构建

Fig. 3 Establishment of STAT4-knockdown stable LUAD cell lines

A: RT-qPCR results showed the successful knockdown of STAT4 in LUAD cells at mRNA level; B: Western blot results showed the knockdown of STAT4 in LUAD cells at protein level; *** $P < 0.001$ vs NonT sh group.

2.4 敲低 STAT4 促进 LUAD 细胞的增殖能力

为探究 STAT4 对 LUAD 增殖的影响,该研究进行 CCK-8 实验。结果显示,敲低 STAT4 后 LUAD 细胞的增殖能力增强(图 4A、4B);克隆形成实验进一步检测细胞增殖的变化。结果显示,敲低 STAT4 能够促进单个细胞的增殖能力,进一步验证 STAT4 对 LUAD 细胞增殖的抑制作用(图 4C、4D)。

2.5 敲低 STAT4 促进 LUAD 迁移和侵袭的能力

为探究敲低 STAT4 对细胞迁移和侵袭的影响,该实验进行细胞划痕试验。结果显示,敲低 STAT4 后,划痕两边的细胞能更快的向中间迁移(图 5A、5B),即细胞迁移能力增强;随后进行 Transwell 实验,显示敲低 STAT4 后穿过小室底部的细胞更多,再次验证敲低 STAT4 能够促进 LUAD 的侵袭和迁移(图 5C、5D)。

2.6 STAT4 过表达载体构建 根据实验目的选择

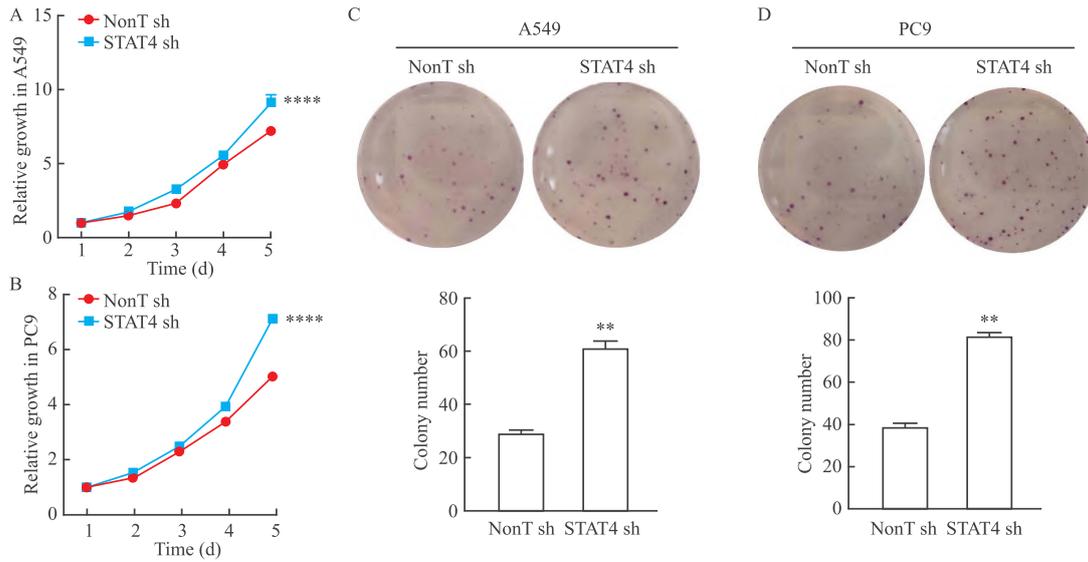


图4 敲低 STAT4 促进了 LUAD 增殖

Fig. 4 The knockdown of STAT4 promoted the proliferation of LUAD cells

A, B: CCK-8 assay was used to detect cell proliferation ability; C, D: Cell colony formation assay was used to detect the proliferation ability of single cell; ** $P < 0.01$, **** $P < 0.0001$ vs NonT sh group.

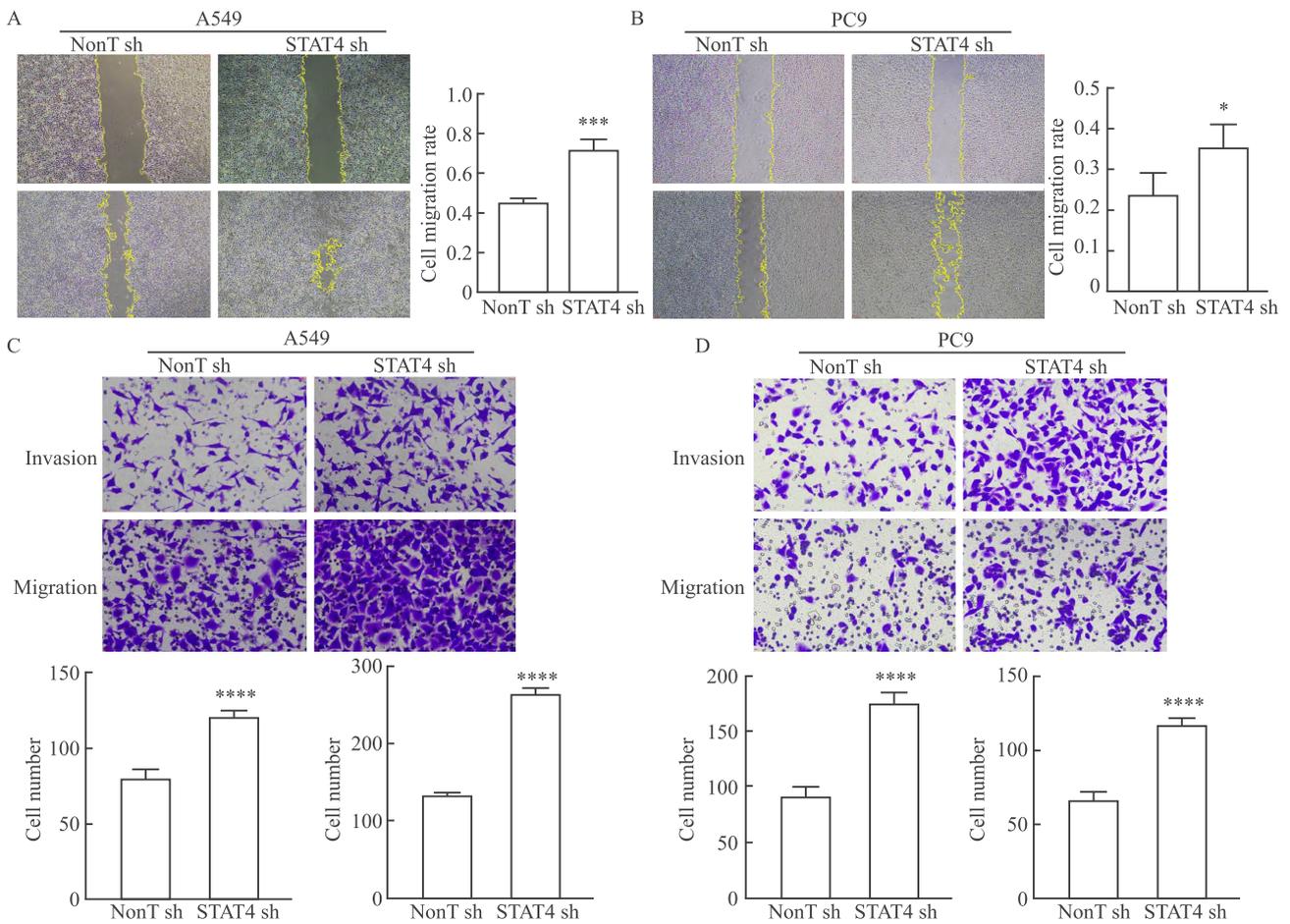


图5 敲低 STAT4 促进肺腺癌细胞侵袭、迁移

Fig. 5 The knockdown of STAT4 enhanced the invasion and migration of LUAD cells

A, B: Wound-healing assay was used to detect changes in cell migratory ability $\times 4$; C, D: Transwell assay was used to detect changes in cell migration and invasion abilities $\times 20$; * $P < 0.05$, *** $P < 0.001$, **** $P < 0.0001$ vs NonT sh group.

慢病毒载体 pLVX (图 6A)。用 EcoRI 酶切 pLVX 载体(图 6B),根据设计的引物 PCR 扩增得到目的片段,酶切后的 pLVX 载体与目的片段酶联,测序结果比对显示 pLVX-STAT4 载体构建成功(图 6C)。

2.7 检测 STAT4 在 LUAD 中的过表达效率 RT-qPCR 和 Western blot 实验结果显示,在 LUAD 细胞系中 pLVX-STAT4 组细胞中 STAT4 在 mRNA (图 7A)和蛋白(图 7B)表达水平均高于 Control 组,提

示 STAT4 的过表达稳系构建成功。

2.8 过表达 STAT4 抑制 LUAD 细胞的增殖能力

为探究 STAT4 对 LUAD 增殖的影响,该实验进行 CCK-8 实验。结果显示,过表达 STAT4 后 LUAD 细胞的增殖能力降低(图 8A、8B);克隆形成实验进一步检测细胞增殖的变化。结果显示,过表达 STAT4 能够降低单个细胞的增殖能力,进一步验证了 STAT4 对 LUAD 细胞增殖的抑制作用(图 8C、8D)。

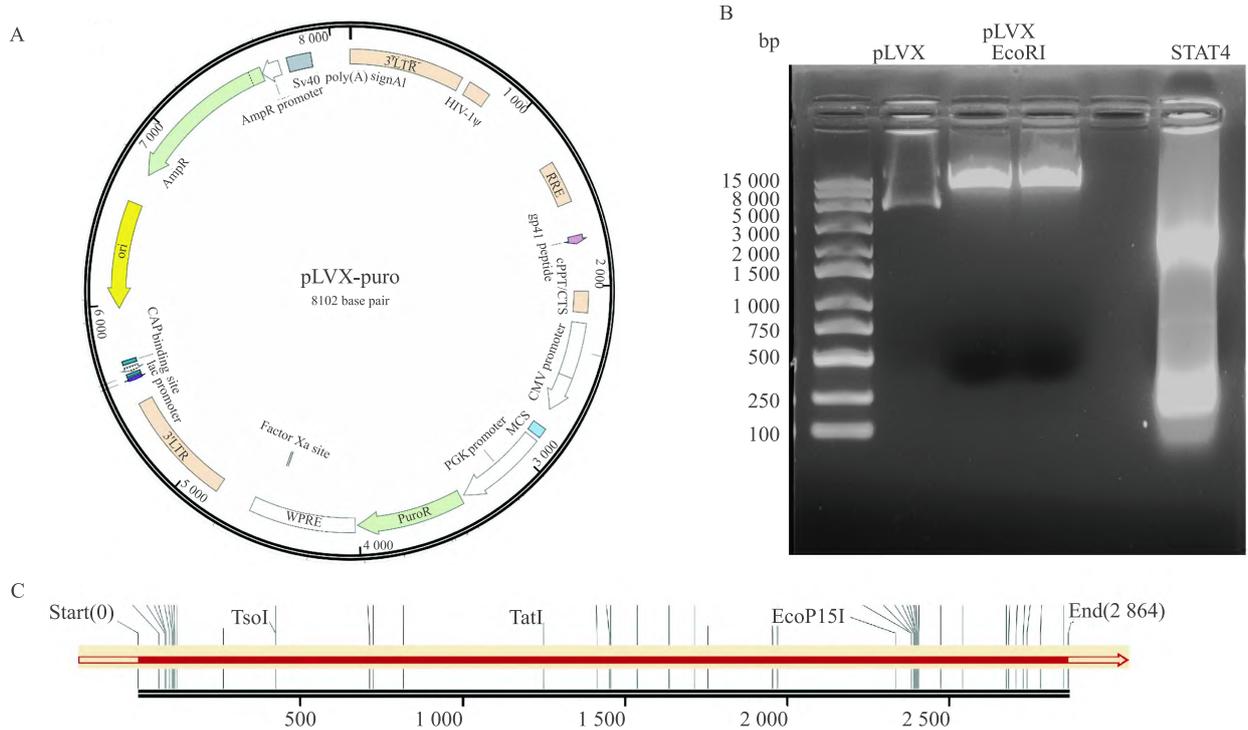


图 6 pLVX-STAT4 载体构建

Fig. 6 Construction of the pLVX-STAT4 vector

A: Schematic diagram of the pLVX vector; B: Agarose gel electrophoresis image of the pLVX vector digested by EcoRI enzyme; C: Sequencing result alignment map of the pLVX-STAT4 vector.

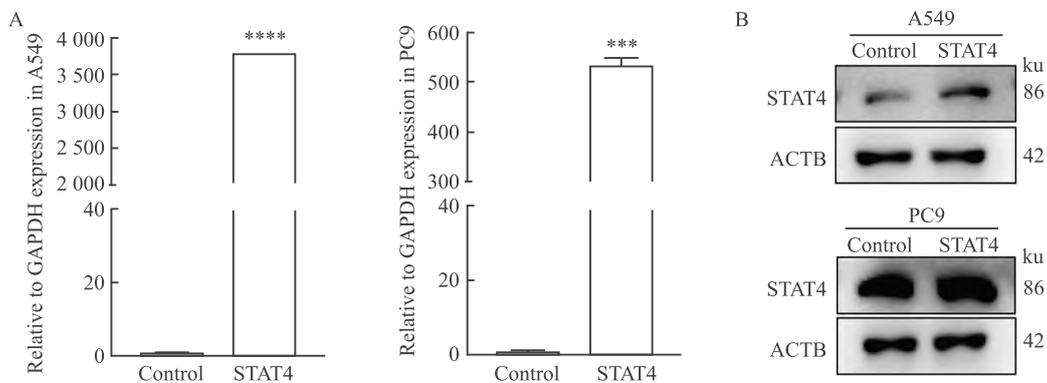


图 7 STAT4 过表达 LUAD 稳系构建

Fig. 7 Establishment of STAT4-overexpressing stable LUAD cell lines

A: RT-qPCR results showed the successful overexpression of STAT4 in LUAD cells at mRNA level; B: Western blot results showed the overexpression of STAT4 in LUAD cells at protein level; *** $P < 0.001$, **** $P < 0.0001$ vs Control group.

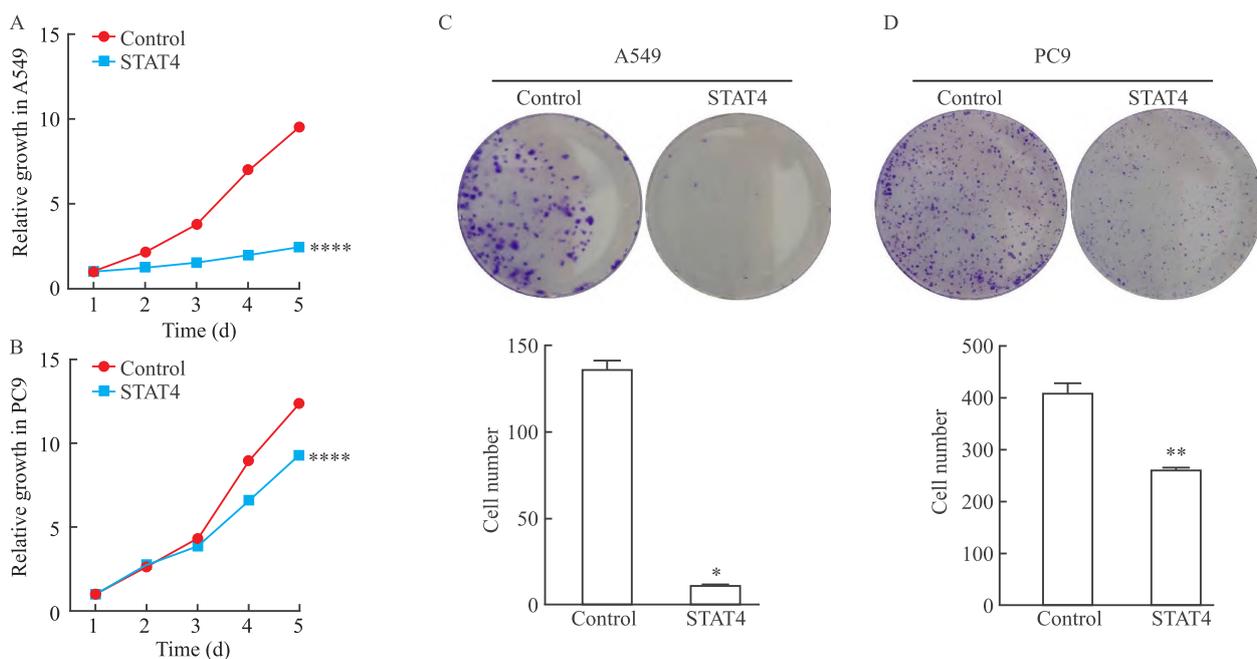


图8 过表达 STAT4 对 LUAD 增殖的影响

Fig. 8 The effects of STAT4 overexpression on LUAD cell proliferation

A, B: CCK-8 assay was used to detect cell proliferation ability; C, D: Cell colony formation assay was used to assess the proliferation ability of single cell; * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, **** $P < 0.0001$ vs Control group.

2.9 过表达 STAT4 抑制 LUAD 迁移和侵袭的能力 为探究过表达 STAT4 对细胞迁移和侵袭的影响,细胞划痕试验结果显示,过表达 STAT4 后,划痕两边的细胞向中间迁移的更慢(图 9A、9B),即细胞迁移能力减弱。随后进行了 Transwell 实验,显示过表达 STAT4 后,穿过小室底部的细胞更少,再次验证过表达 STAT4 能降低 LUAD 细胞的侵袭和迁移能力(图 9C、9D)。

3 讨论

肺腺癌常见的治疗包括手术、化疗及免疫疗法等,但具有易复发、副反应大和耐药等缺陷,最终进展为难治性疾病,对患者的健康和生存质量造成威胁。基于对生物标志物的探索,肺腺癌的治疗模式发生了巨大变化,肺腺癌的治疗逐渐倾向于靶向和免疫疗法^[10]。分子靶向治疗是通过抑制肿瘤发生、发展过程中具有信息传递、调控等作用的某些或某个特定分子,在微观世界控制肿瘤细胞过度繁殖及运动侵袭,从而达到精准抑制、靶向治疗的目的^[11]。之前的研究^[12]表明 STAT 家族成员与人类癌症的发展、进展、转移、存活和治疗耐药性有关。人类基因组中已鉴定出 7 个 STAT 基因: STAT1、

STAT2、STAT3、STAT4、STAT5a、STAT5b 和 STAT6^[13-14],它们对细胞外信号蛋白有不同反应,主要是通过改变效应细胞中的基因转录实现^[15]。STAT4 作为 STAT 家族的一员,其在 LUAD 中的功能尚不清楚。

本研究系统地探讨了 STAT4 在 LUAD 中的表达水平及其功能。通过 GEO 数据库生信分析及免疫组化结果显示,STAT4 在 LUAD 组织中的表达水平低于邻近正常组织。随后,该研究做了 RT-qPCR 和 Western blot 实验,结果显示,STAT4 在 LUAD 细胞系中低表达。为探索 STAT4 在 LUAD 中的作用及功能,该研究敲低 STAT4 后显示,其能促进 LUAD 细胞的增殖、侵袭和迁移能力,而过表达 STAT4 后显示,其能降低 LUAD 细胞的增殖、侵袭和迁移能力。这些结果提示 STAT4 在 LUAD 的发生发展过程中可能发挥抑癌作用,其表达水平的降低可能促进了 LUAD 的恶性进展。然而,本研究尚存在一些局限性。例如,样本量相对较小,可能存在一定的选择偏倚;未深入探讨 STAT4 在 LUAD 中发挥作用的分子机制等。因此,未来的研究需要进一步扩大样本量、验证实验结果,并深入探讨 STAT4 在 LUAD 中的具体作用机制及其与其他信号通路的交互作用。

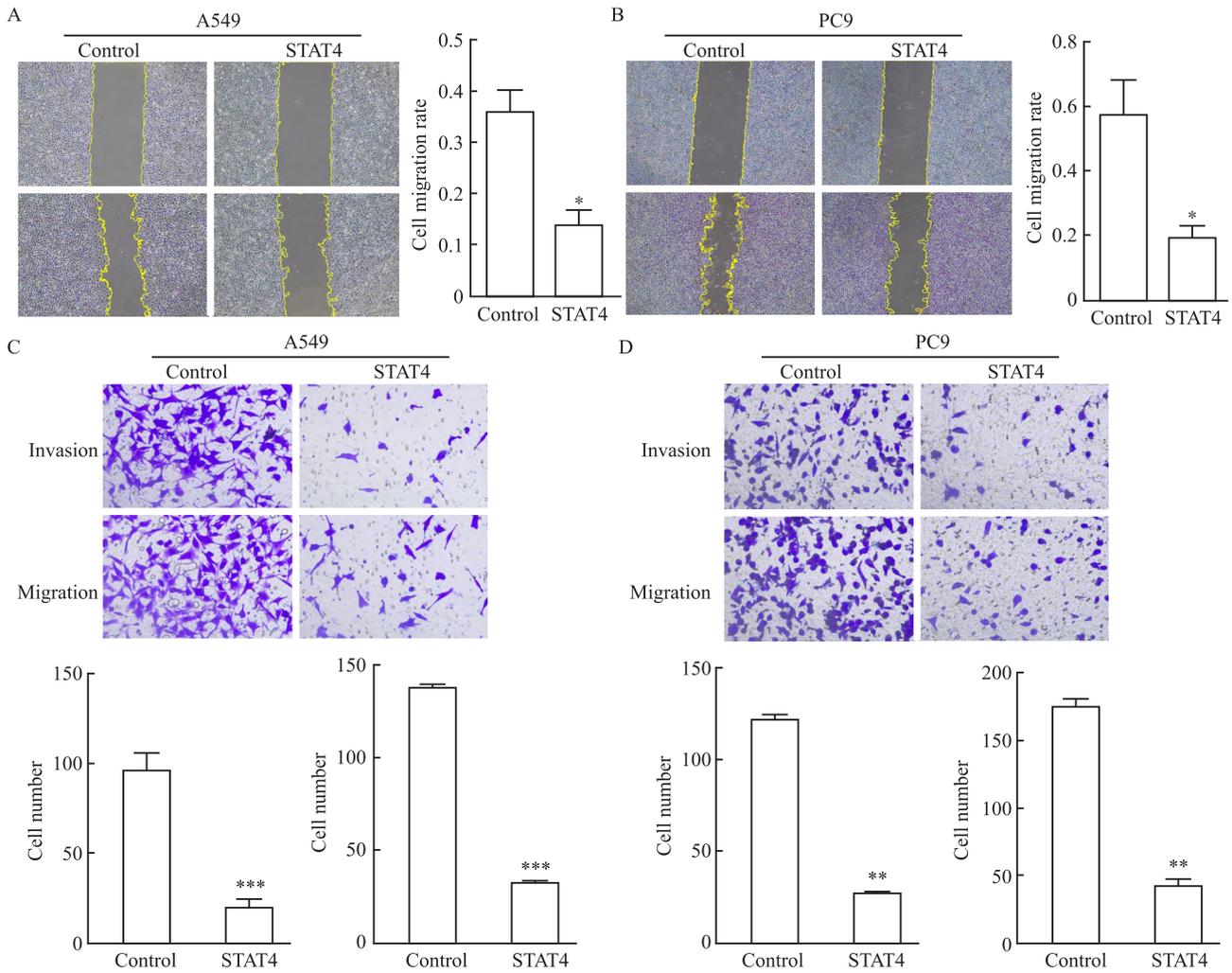


图9 过表达 STAT4 对 LUAD 细胞侵袭、迁移的影响

Fig. 9 The effects of STAT4 overexpression on the migratory and invasive abilities of LUAD cells

A, B: Wound-healing assay was used to detect changes in cell migratory ability $\times 4$; C, D: Transwell assay was used to assess cell migration and invasion abilities $\times 20$; * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ vs Control group.

参考文献

- [1] Ganti A K, Klein A B, Cotarla I, et al. Update of incidence, prevalence, survival, and initial treatment in patients with non-small cell lung cancer in the US [J]. JAMA Oncol, 2021, 7 (12): 1824–32. doi:10.1001/jamaoncol.2021.4932.
- [2] Chan J M, Quintanal-Villalonga Á, Gao V R, et al. Signatures of plasticity, metastasis, and immunosuppression in an atlas of human small cell lung cancer [J]. Cancer Cell, 2021, 39 (11): 1479–96. e18. doi:10.1016/j.ccell.2021.09.008.
- [3] Skoulidis F, Li B T, Dy G K, et al. Sotorasib for lung cancers with KRAS mutation [J]. N Engl J Med, 2021, 384 (25): 2371–81. doi:10.1056/nejmoa2103695.
- [4] Awasthi N, Liongue C, Ward A C. STAT proteins: a kaleidoscope of canonical and non-canonical functions in immunity and cancer [J]. J Hematol Oncol, 2021, 14 (1): 198. doi:10.1186/s13045-021-01214-y.
- [5] Zhu M, Li S, Cao X, et al. The STAT family: key transcription factors mediating crosstalk between cancer stem cells and tumor immune microenvironment [J]. Semin Cancer Biol, 2023, 88: 18–31. doi:10.1016/j.semcancer.2022.11.011.
- [6] Liu J, Wang F, Luo F. The role of JAK/STAT pathway in fibrotic diseases: molecular and cellular mechanisms [J]. Biomolecules, 2023, 13 (1): 119. doi:10.3390/biom13010119.
- [7] Powell M D, Read K A, Sreekumar B K, et al. IL-12 signaling drives the differentiation and function of a TH1-derived TFH1-like cell population [J]. Sci Rep, 2019, 9: 13991. doi:10.1038/s41598-019-50614-1.
- [8] 钟文韬, 张琦, 李方琪, 等. STAT 家族在肿瘤中的作用及药物研发 [J]. 国际老年医学杂志, 2023, 44 (3): 347–50. doi:10.3969/j.issn.1674-7593.2023.03.020.
- [8] Zhong W T, Zhang Q, Li F Q, et al. The role of STAT family in tumor progression and drug development [J]. Int J Geriatr, 2023, 44 (3): 347–50. doi:10.3969/j.issn.1674-7593.2023.

03. 020.
- [9] Erdogan F, Radu T B, Orlova A, et al. JAK-STAT core cancer pathway: an integrative cancer interactome analysis[J]. *J Cell Mol Med*, 2022, 26(7): 2049 – 62. doi:10.1111/jemm.17228.
- [10] Chen F, Song J, Ye Z, et al. Integrated analysis of cell cycle-related and immunity-related biomarker signatures to improve the prognosis prediction of lung adenocarcinoma[J]. *Front Oncol*, 2021, 11: 666826. doi:10.3389/fonc.2021.666826.
- [11] 陈璐, 李长天, 刘艳丽, 等. 肺腺癌分子生物标志物的研究进展[J]. *河北医药*, 2024, 46(24): 3795 – 800. doi:10.3969/j.issn.1002-7386.2024.24.026.
- [11] Chen L, Li C T, Liu Y L, et al. Research progress on molecular biomarkers of lung adenocarcinomas[J]. *Hebei Med J*, 2024, 46(24): 3795 – 800. doi:10.3969/j.issn.1002-7386.2024.24.026.
- [12] Hu X, Li J, Fu M, et al. The JAK/STAT signaling pathway: from bench to clinic[J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2021, 6(1): 402. doi:10.1038/s41392-021-00791-1.
- [13] Rao S S, Nelson P A, Lunde H S, et al. Evolutionary, comparative, and functional analyses of STATs and regulation of the JAK-STAT pathway in lumpfish upon bacterial and poly(I: C) exposure[J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2023, 13: 1252744. doi:10.3389/fcimb.2023.1252744.
- [14] Agashe R P, Lippman S M, Kurzrock R. JAK: not just another kinase[J]. *Mol Cancer Ther*, 2022, 21(12): 1757 – 64. doi:10.1158/1535-7163.mct-22-0323.
- [15] Yang C, Mai H, Peng J, et al. STAT4: an immunoregulator contributing to diverse human diseases[J]. *Int J Biol Sci*, 2020, 16(9): 1575 – 85. doi:10.7150/ijbs.41852.

The expression and function of STAT4 in lung adenocarcinoma

Chai Qian¹, Zhang Yanke², Wu Min¹, Zhao Lei¹

(¹*Pulmonary and Critical Care Medicine, The First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Anhui Public Health Clinical Center, Pulmonary and Critical Care Medicine, Hefei 230022;*

²*Pulmonary and Critical Care Medicine, Fuyang Hospital of Anhui Medical University, Fuyang 236000)*

Abstract Objective To investigate the expression level of signal transducer and activator of transcription 4 (STAT4) in lung adenocarcinoma (LUAD), and to analyze its impact on the proliferation, invasion, and migration abilities of LUAD cells. **Methods** Gene expression omnibus data base (GEO), human protein atlas (HPA) and Kaplan-Meier Plotter databases were used to explore the expression of STAT4 in LUAD and its effect on the survival of patients with LUAD. Stable LUAD cell lines with STAT4 knockdown were constructed using lentiviral packaging technology, and the knockdown efficiency of STAT4 was assessed *via* RT-qPCR. The effects of STAT4 on LUAD cell proliferation were evaluated using CCK-8 assays and colony formation assays, while the impacts on cell migration and invasion were assessed through wound healing assays and Transwell assays. **Results** STAT4 was lowly expressed in LUAD, and its low expression was unfavorable to the survival of LUAD patients. After STAT4 was knocked down in LUAD, the proliferation, invasion and migration abilities of lung adenocarcinoma cells were enhanced. **Conclusion** STAT4 is a prognostic marker in LUAD which significantly inhibits the proliferation, invasion, and migration abilities of LUAD cells. STAT4 is expected to become a new therapeutic target for LUAD.

Key words lung adenocarcinoma; STAT4; knock-down; cell proliferation; cell migration; cell invasion

Fund programs Natural Science Research Project of Anhui Educational Committee (Nos. 2022AH050790, 2024AH050746)

Corresponding author Zhao Lei, E-mail: ayefyzhaolei@163.com