

胃癌患者手术前后外周血 Th1 / Th2 细胞因子表达

Peripheral Blood Th1 / Th2 Cytokine Expression in Patients with Stomach Cancer Pre- and Post-operation // JIANG Zheng-shun

蒋正顺 (临海市第二人民医院, 浙江 临海 317016)

摘要: [目的] 评价胃癌患者外周血 Th1 / Th2 细胞因子表达水平。[方法] 流式细胞仪检测 82 例胃癌患者手术前后和 50 例胃良性疾病患者(对照组)外周血 Th1 类细胞因子(IFN- γ 、IL-2) 和 Th2 类细胞因子(IL-4、5、10)的表达水平。[结果] 与对照组比较, 胃癌患者 Th1 类细胞因子 (IFN- γ 、IL-2) 低于对照组, 但差异无统计学意义 ($P > 0.05$); Th2 类细胞因子(IL-4、5、10)高于对照组, 且 IL-4、IL-10 表达水平差异有统计学意义 (P 均 < 0.05)。术后胃癌 Th1 类细胞因子 IFN- γ 较术前有所升高 (18.65 ± 6.74 vs 23.07 ± 4.15 , $P < 0.01$); Th2 类细胞因子 (IL-10) 较术前有所下降 (6.56 ± 3.46 vs 4.67 ± 2.75 , $P < 0.01$)。[结论] 胃癌患者 Th1 细胞向 Th2 细胞漂移, 手术治疗能逆转其漂移状态。Th1/Th2 细胞因子检测可为胃癌的免疫治疗提供参考依据。

关键词: 胃肿瘤; T 辅助淋巴细胞; 细胞因子

中图分类号: R735.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-170X(2012)06-438-03

辅助性 T 细胞(Th 细胞)是机体重要的免疫调节细胞。人类 Th 细胞存在 T 辅助淋巴细胞 I 型(T helper cell 1, Th1) / T 辅助淋巴细胞 II 型(T helper cell 2, Th2)两个不同的功能亚群, 其中以分泌白细胞介素-2 (interleukin 2, IL-2)、 γ -干扰素(interferon- γ , INF- γ) 和肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor β , TNF)为主的称为 Th1, 主要介导细胞免疫和移植物排异等; 而 Th2 细胞主要分泌 IL-4、IL-5、IL-6 及 IL-10, 主要介导体液免疫和过敏反应。两类细胞处于相互抑制、相互转化的平衡状态。当 Th1 / Th2 细胞因子的平衡失调, 机体会处于 Th1 优势或 Th2 优势的状态, 即所谓的 Th1 / Th2 漂移, 从而出现各种病理反应。Th1、Th2 在肿瘤发生、发展及复发过程中起十分重要的作用。我们采用流式细胞仪检测胃癌患者外周血 Th1 类细胞因子(IFN- γ 、IL-2) 和 Th2 类细胞因子(IL-4、IL-5、IL-10)的表达水平, 观察胃癌患者手术前后 Th1/Th2 表达状况, 有助于了解胃癌患者的免疫调节机制, 为胃癌的免疫治疗提供参考依据。

收稿日期: 2012-04-30; 修回日期: 2012-05-30

1 资料与方法

1.1 研究对象

选取 2003 年 1 月至 2011 年 10 月在临海市第二人民医院初治的经病理学确诊的胃癌手术患者 82 例, 男性 54 例, 女性 28 例, 年龄 37~75 岁, 中位年龄 59 岁。根据 UICC TNM 临床病理分期标准, I 期 6 例, II 期 21 例, III 期 31 例, IV 期 24 例; 根据组织分化程度, 高分化 13 例, 中分化 49 例, 低分化 20 例。选取同期住院的胃良性疾病患者 50 例作为对照组, 男性 29 例, 女 21 例, 年龄 35~77 岁, 中位年龄 54 岁, 包括慢性浅表性胃炎、慢性萎缩性胃炎和胃溃疡等疾病, 均经胃镜组织病理检查确诊。两组患者年龄和性别差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。所有病例均无自身免疫疾病史, 同时排除严重感染, 抽血前未接受任何其他治疗。胃癌患者术前和术后一周(未接受化学治疗前)与对照组均空腹抽外周静脉血 3ml, 分离血清保存送检, 检测 Th1 类细胞因子(IFN- γ 、IL-2) 和 Th2 类细胞因子 (IL-4、IL-5、IL-10) 的表达水平。

1.2 Th1 类和 Th2 类细胞因子检测

血清 Th1 类和 Th2 类细胞因子检测采用美国 BD 公司流式细胞仪,按操作流程进行。主要步骤:配制混合 Beads 液;加样、反应,每只试管均加入 Beads 液、PE 试剂、待测血清各 50 μ l,充分混匀,室温闭光 3h;加 1ml 洗液至每管,2 000r/min 离心 5min,弃上清液,加 200 μ l 洗液混匀后立即上机检测。5 种细胞因子表达的正常参考值分别为:IFN- γ 7.3~16.5ng/ μ l, IL-2 1.5~3.6ng/ μ l, IL-4 1.8~2.9ng/ μ l, IL-5 1.3~2.2ng/ μ l, IL-10 2.5~4.6ng/ μ l。

1.3 统计学处理

数据分析采用 SPSS 16.0 统计软件,不同临床分期和分化程度间患者细胞因子水平比较采用 *t* 检验或 *F* 检验,手术前后血清细胞因子水平比较采用配对 *t* 检验,检验水准 $\alpha=0.05$ 。

表 1 胃癌与胃良性疾病患者 Th1/Th2 类细胞因子水平比较 (ng/ μ l, $\bar{x}\pm s$)

组别	例数	IFN- γ	IL-2	IL-4	IL-5	IL-10
对照组	50	20.16 $\pm$ 11.17	4.94 $\pm$ 1.27	2.39 $\pm$ 1.07	1.67 $\pm$ 0.83	3.07 $\pm$ 1.12
胃癌	82	18.65 $\pm$ 6.74	4.71 $\pm$ 0.89	5.68 $\pm$ 2.33	2.99 $\pm$ 1.35	6.56 $\pm$ 3.46
<i>t</i> 值		0.77	0.27	3.82	1.81	5.87
<i>P</i> 值		0.56	0.80	0.03	0.14	<0.01

表 2 不同分化程度胃癌患者细胞因子水平比较 (ng/ μ l, $\bar{x}\pm s$)

分化程度	例数	IFN- γ	IL-2	IL-4	IL-5	IL-10
高分化	13	17.23 $\pm$ 10.28	4.94 $\pm$ 1.22	5.79 $\pm$ 1.74	3.13 $\pm$ 1.07	5.67 $\pm$ 3.17
中分化	49	19.93 $\pm$ 11.10	4.84 $\pm$ 1.83	5.21 $\pm$ 2.62	2.82 $\pm$ 1.48	6.46 $\pm$ 2.28
低分化	20	18.71 $\pm$ 13.78	4.56 $\pm$ 1.17	5.58 $\pm$ 2.18	2.99 $\pm$ 1.94	6.64 $\pm$ 3.01
<i>F</i> 值		-0.28	-0.90	0.00	-0.23	0.58
<i>P</i> 值		0.68	0.37	0.99	0.74	0.61

表 3 不同临床分期胃癌患者细胞因子水平比较 (ng/ μ l, $\bar{x}\pm s$)

临床分期	例数	IFN- γ	IL-2	IL-4	IL-5	IL-10
I~II	27	19.15 $\pm$ 10.30	4.46 $\pm$ 1.06	4.27 $\pm$ 0.52	2.25 $\pm$ 1.24	4.73 $\pm$ 1.67
III	31	19.02 $\pm$ 13.74	4.68 $\pm$ 1.23	5.79 $\pm$ 2.42	3.03 $\pm$ 1.77	6.89 $\pm$ 2.32
IV	24	17.81 $\pm$ 8.19	4.76 $\pm$ 1.37	6.42 $\pm$ 2.38	3.53 $\pm$ 1.92	6.58 $\pm$ 1.24
<i>F</i> 值		0.56	0.90	0.83	0.26	0.88
<i>P</i> 值		0.57	0.39	0.45	0.82	0.43

表 4 胃癌患者手术前后细胞因子水平比较 (ng/ μ l, $\bar{x}\pm s$)

项目	例数	IFN- γ	IL-2	IL-4	IL-5	IL-10
胃癌术前	82	18.65 $\pm$ 6.74	4.71 $\pm$ 0.89	5.68 $\pm$ 2.33	2.99 $\pm$ 1.35	6.56 $\pm$ 3.46
胃癌术后	82	23.07 $\pm$ 4.15	5.28 $\pm$ 1.39	4.74 $\pm$ 2.43	2.80 $\pm$ 1.20	4.67 $\pm$ 2.75
<i>t</i> 值		3.46	0.58	0.90	0.83	4.93
<i>P</i> 值		<0.01	0.64	0.35	0.94	<0.01

2 结 果

与对照组相比,82 例胃癌患者 Th1 类细胞因子 (IFN- γ 、IL-2)低于对照组,但差异无统计学意义 ($P>0.05$);Th2 类细胞因子 (IL-4、5、10) 高于对照组,且 IL-4、IL-10 表达水平差异有统计学意义 (*t* 值分别为 3.82 和 5.87, P 均 <0.05),见表 1。提示胃癌患者 Th1 细胞向 Th2 细胞漂移。

由表 2 和表 3 可见,在不同分化程度和临床分期胃癌中的 5 种细胞因子水平差异均无统计学意义 ($P<0.05$)。

术后胃癌 Th1 类细胞因子 (IFN- γ 、IL-2)较术前有所升高,且 IFN- γ 升高有统计学意义 (18.65 $\pm$ 6.74ng/ μ l vs 23.07 $\pm$ 4.15 ng/ μ l, $P<0.01$);Th2 类细胞因子 (IL-4、5、10)较术前有所下降,且 IL-10 水平术前与术后相比较差异有统计学意义 (6.56 $\pm$ 3.46 ng/ μ l vs 4.67 $\pm$ 2.75 ng/ μ l, $P<0.01$)。见表 4。

3 讨 论

1986 年 Mosmann 等^[1]发现小鼠的 CD4⁺T 细胞株按产生细胞因子的类型和生物功能可分为 Th1 和 Th2 两种亚型, Th1 细胞分泌 IL-2、INF- γ 和 TNF, Th2 细胞分泌 IL-4、5、6、9、10 和 13。Th1、Th2 细胞为 Th 细胞的两个功能性亚群,通常将细胞因子 IL-2、IFN- γ 代表 Th1 亚群,细胞因子 IL-4、IL-10 代表 Th2 亚群。Th1 分泌的细胞因子 IL-2、IFN- γ 在机体的抗肿瘤免疫中发挥重要作用。Th1 型细胞占优势时,机体处于良好的抗肿瘤状态,一旦 Th2 类细胞因子占优势,即造成免疫抑制状态,机体的抗肿瘤免疫将受到影响。

许多肿瘤包括非小细胞肺癌、直肠癌、胃癌、肝癌、恶性黑色素瘤等肿瘤患者存在着 Th1/Th2 细胞因子失衡, Th1/Th2 细胞免疫平衡偏向以 Th2 细胞免疫占优势的免疫应答^[2,3], Th2 型细胞因子优势状态导致机体抗肿瘤免疫功能减弱, 保护肿瘤逃逸免疫监视和免疫攻击, 这可能是肿瘤发生发展的免疫机制之一。陈远崇等^[4]分析采用双抗体夹心酶联免疫吸附法(ELISA)检测 45 例结直肠癌患者和 10 例健康体检者外周血中 IFN- γ 、IL-2、4、10 的水平, 研究发现结直肠癌患者外周血中 Th1/Th2 免疫反应失衡, 向 Th2 方向漂移; 结直肠癌患者外周血 Th1/Th2 失衡程度与临床分期呈正相关, 与肿瘤的组织分型无关。李洁羽等^[5]采用流式细胞术分析 36 例原发性肝细胞癌的癌组织及非癌组织标本, 发现肝癌组织中 IL-6、IL-10 和 TNF 水平均比正常非癌组织升高 (P 均 <0.01), 肝癌组织 IL-2、IL-4 显著低于正常非癌组织 (P 均 <0.01), 显示肝癌组织中抗肿瘤效应性细胞比例下降, Th1/Th2 比例失衡, 且向 Th2 方向漂移。焦付丰等^[6]对山东大学附属省立医院 2001 年 5 月~2009 年 1 月住院手术的胃癌患者 78 例 (胃癌组) 及同期健康体检者 80 例 (对照组) 外周静脉血采用 ELISA 法检测血清细胞因子水平, 与对照组比较, 胃癌组血清 IL-4、IL-6 和 IL-10 均升高 ($P<0.05$)。乔治等^[7]分析 25 例术前胃癌患者外周血样本研究结果也提示胃癌患者免疫状态低下, 机体抗肿瘤免疫功能抑制。

本文比较胃癌患者 82 例与对照组 Th1 /Th2 细胞因子时发现, 胃癌患者的 Th1 类细胞因子(IFN- γ 、IL-2)低于对照组 ($P>0.05$); Th2 类细胞因子(IL-4、5、10)高于正常对照组, 且 IL-4、IL-10 表达水平差异有统计学意义 (P 均 <0.05), 提示胃癌患者 Th1 细胞向 Th2 细胞漂移。IL-10、IL-4 含量增高的原因可能是肿瘤患者体内单核巨噬细胞和中性粒细胞杀伤作用增强, 也可能是肿瘤细胞自分泌所致。细胞因子在胃癌患者外周血中均不同程度变化, 可通过影响机体内环境的稳定, 导致胃癌患者免疫功能紊乱。本文进一步分析手术前后的细胞因子水平变化, 发现术后胃癌 Th1 类细胞因子 IFN- γ 较术前有所升高

($P<0.01$); Th2 类细胞因子 (IL-10) 较术前有所下降 ($P<0.01$)。提示手术治疗能逆转其漂移状态。

通过研究 Th1/Th2 细胞亚群漂移状态与疾病的发生发展机制, 选择性地调节 Th1 或 Th2 细胞水平, 逆转其漂移状态, 从而可治疗某些特定疾病。Recchia 等^[8]研究报道低剂量 IL-2 可提高肿瘤相关免疫力, 在二线化疗获益且 VEGF 表达水平升高的 65 例晚期卵巢癌患者给予低剂量 IL-2, 随访 5 年, 结果显示患者的淋巴细胞和 NK 细胞数量提高, 5 年无疾病进展生存率分别为 29% 和 38%, 显示较好的临床疗效。

综上, 胃癌患者 Th1 细胞向 Th2 细胞漂移, 手术治疗能逆转其漂移状态, 为胃癌的免疫治疗提供了参考依据。

参考文献:

- [1] Mosmann TR, Cherwinski H, Bond MW, et al. Two types of murine helper T cell clone. I. Definition according to profiles of lymphokine activities and secreted proteins[J]. J Immunol, 1986, 136 (7): 2348-2357.
- [2] 姚金晶, 陈宜涛. Th1/Th2 平衡调节与疾病发生的研究进展[J]. 现代生物医学进展, 2009, 9(13): 2597-2600.
- [3] 袁少洋, 王爱丽, 庞启贞, 等. 上皮性卵巢癌患者外周血 Th1 / Th2 细胞因子表达水平的变化 [J]. 第四军医大学学报, 2008, 29 (17): 1635-1638.
- [4] 陈远崇, 陈竹雨. 结直肠癌患者血清 Th1/Th2 细胞因子水平变化及其临床意义研究[J]. 中国全科医学, 2011, 14 (36): 4136-4138.
- [5] 李洁羽, 黎巧连, 彭峰, 等. 流式细胞微球阵列术检测肝癌组织中细胞因子水平及其意义 [J]. 中华临床医师杂志, 2011, 5(22): 6657-6661.
- [6] 焦付丰, 曲维兰, 王长印. 胃癌患者血清细胞因子水平变化及与肿瘤分化程度的关系 [J]. 山东医药, 2011, 51 (43): 26-27.
- [7] 乔治, 李荣, 徐迎新. Th1/Th2 及 Tc1/Tc2 在胃癌患者外周血中的漂移及意义[J]. 世界华人消化杂志, 2009, 17(12): 1238-1240.
- [8] Recchia F, Di Orio F, Candeloro G, et al. Maintenance immunotherapy in recurrent ovarian cancer: long term follow-up of a phase II study[J]. Gynecol Oncol, 2010, 116 (2): 202-207.