

基于 TLR4/MyD88/NF- κ B 信号通路研究右美托咪定对肝癌切除术大鼠免疫功能的影响

徐化雪¹, 王佳², 李俊峰³, 刘文洪³, 黎丹², 钱江²

(1. 浙江省开化县中医院(浙江医院开化分院), 浙江 衢州 324300; 2. 浙江医院, 浙江 杭州 310030;

3. 浙江中医药大学基础医学院, 浙江 杭州 310053)

摘要: [目的] 基于 TLR4/MyD88/NF- κ B 信号通路探讨右美托咪定对肝癌切除术大鼠免疫功能的影响。[方法] 采用肝包膜下植入肝癌组织建立大鼠原位肝癌模型, 并以随机数字表法将 24 只原位肝癌 SD 大鼠分为对照组(C 组)和右美托咪定低、中、高剂量组(DL 组、DM 组、DH 组), 每组 6 只大鼠。右美托咪定组大鼠于麻醉诱导前 15min 内静脉输注右美托咪定, 麻醉诱导插管后, 持续静脉输注右美托咪定至实验结束, 对照组则静脉输注等量生理盐水。各组分别于术前(T0)、术后 2d(T1)和术后 5d(T2)采集尾静脉血。采用流式细胞仪测定 T 淋巴细胞亚群 CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺ 水平, 计算 CD4⁺/CD8⁺; 采用 ELISA 法检测血浆白细胞介素-2(IL-2)、白细胞介素-10(IL-10)、白细胞介素-17A(IL-17A)及干扰素- γ (IFN- γ) 的浓度; T2 取血后, 处死大鼠, 观察脾组织病理变化, 并运用 Western blot 检测脾组织中 TLR4、MyD88、NF- κ B p65 蛋白表达。[结果] 在 T1 和 T2 时, DH 组 CD3⁺、CD4⁺ T 细胞数量均比 C 组显著提高 (T1: 45.80±8.95 vs 26.03±8.45, $P<0.05$; 19.73±3.23 vs 10.00±2.95, $P<0.01$; T2: 45.70±5.41 vs 23.77±5.98, 15.30±3.15 vs 8.73±2.80, P 均 <0.05), CD8⁺ T 细胞数量则降低, 但无显著差异($P>0.05$)。IL-2、IL-17A 和 IFN- γ 水平显著提高(T1: 53.72±1.32 vs 51.89±1.19, $P<0.05$; 225.16±2.46 vs 216.80±2.77, $P<0.01$; 1 556.02±20.72 vs 1 528.55±19.77, $P<0.05$; T2: 53.30±1.35 vs 49.93±1.28, $P<0.01$; 223.57±2.55 vs 211.42±2.61, $P<0.01$; 1 553.81±21.24 vs 1 524.72±15.65, $P<0.05$), IL-10 水平降低 (T1: 145.56±1.50 vs 155.36±1.19; T2: 148.51±1.39 vs 166.26±2.12, P 均 <0.01)。与 T0 时比较, 各组在 T1、T2 时 CD3⁺、CD4⁺ T 细胞数量均降低, CD4⁺/CD8⁺ 升高, CD8⁺ T 细胞数量升高。T2 时, C 组和 DL 组的 IL-2、IL-17A 水平均显著降低 (C 组: 49.93±1.28 vs 56.02±0.98, 211.42±2.61 vs 226.77±2.59, P 均 <0.01 ; DL 组: 50.77±0.83 vs 55.02±1.13, $P<0.01$; 219.67±2.03 vs 225.82±2.64, $P<0.05$), IL-10 水平显著升高 (166.26±2.12 vs 146.28±1.50, 155.40±1.57 vs 143.59±1.19, P 均 <0.01), 各组在 T1、T2 时 IFN- γ 水平无显著变化。病理结果显示, 与 C 组相比, 右美托咪定组脾脏中成熟淋巴细胞数量增加, 白髓面积相对扩大。Western blot 结果显示, 右美托咪定呈剂量依赖性显著下调 TLR4、MyD88 和 NF- κ B p65 的表达。[结论] 右美托咪定可改善原位肝癌切除术大鼠术后细胞免疫功能抑制, 可能是通过阻碍 TLR4/MyD88/NF- κ B 信号通路的激活而发挥免疫调节作用。

关键词: 右美托咪定; 肝癌切除术; 免疫功能; TLR4/MyD88/NF- κ B

中图分类号: R735.7 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-170X(2021)06-0466-08

doi: 10.11735/j.issn.1671-170X.2021.06.B010

Study on the Effect of Dexmedetomidine on the Immune Function of Rats Undergoing Liver Cancer Resection Based on TLR4/MyD88/NF- κ B Signaling Pathway

XU Hua-xue¹, WANG Jia², LI Jun-feng³, LIU Wen-hong³, LI Dan², QIAN Jiang²

(1. Kaihua Hospital of Traditional Chinese Medicine (Kaihua Branch of Zhejiang Hospital), Quzhou 324300, China;

2. Zhejiang Hospital, Hangzhou 310030, China; 3. College of Basic Medicine Science, Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310053, China)

Abstract: [Objective] To explore the effect of dexmedetomidine on the immune function of rats undergoing liver cancer resection based on TLR4/MyD88/NF- κ B signaling pathway. [Methods] Orthotopic liver cancer was induced by intrahepatic tumor implantation with Walker-256 cells. Twenty-four male SD rats were randomly divided into dexmedetomidine low, medium, high dose group (group DL, DM, DH) and control group (group C) with 6 rats in each group. Rats in the dexmedetomidine group were intravenously infused with dexmedetomidine within 15 minutes before induction of anesthesia. After intubation of anesthesia induction, the rats were continuously infused with dexmedetomidine until the end of the experiment. The equal volume of normal saline was administered in group C. In each group, blood was obtained from the tail vein before operation (T0), 2 days after operation (T1) and 5 days after operation (T2). The levels of T lymphocyte subsets (CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺) were determined by flow cytometry. CD4⁺/CD8⁺ ratio was calculated. Plasma interleukin-2 (IL-2), interleukin-10 (IL-10), interleukin-17A (IL-17A) and interferon- γ (IFN- γ) were detected by ELISA methods. After taking blood from T2, the rats were sacrificed to observe the pathological changes of spleen tissues, and Western blot was used to detect the protein expression of TLR4, MyD88 and

基金项目: 浙江省医药卫生科技计划项目(2018KY001, 2021KY012); 浙江省医学会临床科研基金项目(2018ZYC-A02)

通信作者: 钱江, 副主任医师, 硕士; 浙江医院麻醉科, 浙江省杭州市西湖区古墩路 1229 号(310030); E-mail: 1582434669@qq.com

收稿日期: 2021-01-23; **修回日期:** 2021-03-28

NF- κ B p65 in spleen. [Results] At T1 and T2, the number of CD3⁺ and CD4⁺ T cells significantly increased in group DH than those in group C (T1: 45.80 $\pm$ 8.95 vs 26.03 $\pm$ 8.45, P <0.05; 19.73 $\pm$ 3.23 vs 10.00 $\pm$ 2.95, P <0.01; T2: 45.70 $\pm$ 5.41 vs 23.77 $\pm$ 5.98, 15.30 $\pm$ 3.15 vs 8.73 $\pm$ 2.80, all P <0.05), and the number of CD8⁺ T cells reduced but not significantly. The levels of IL-2, IL-17A and IFN- γ significantly increased (T1: 53.72 $\pm$ 1.32 vs 51.89 $\pm$ 1.19, P <0.05; 225.16 $\pm$ 2.46 vs 216.80 $\pm$ 2.77, P <0.01; 1 556.02 $\pm$ 20.72 vs 1 528.55 $\pm$ 19.77, P <0.05; T2: 53.30 $\pm$ 1.35 vs 49.93 $\pm$ 1.28, P <0.01; 223.57 $\pm$ 2.55 vs 211.42 $\pm$ 2.61, P <0.01; 1 553.81 $\pm$ 21.24 vs 1 524.72 $\pm$ 15.65, P <0.05), while IL-10 reduced (T1: 145.56 $\pm$ 1.50 vs 155.36 $\pm$ 1.19, T2: 148.51 $\pm$ 1.39 vs 166.26 $\pm$ 2.12, all P <0.01). Compared with T0, the CD4⁺/CD8⁺ ratios, level of CD3⁺ and CD4⁺ T cells reduced and CD8⁺ T cells increased at T1 and T2 in each group. The levels of IL-2 and IL-17A significantly reduced (group C: 49.93 $\pm$ 1.28 vs 56.02 $\pm$ 0.98, 211.42 $\pm$ 2.61 vs 226.77 $\pm$ 2.59, all P <0.01; group DL: 50.77 $\pm$ 0.83 vs 55.02 $\pm$ 1.13, P <0.01; 219.67 $\pm$ 2.03 vs 225.82 $\pm$ 2.64, P <0.05) and IL-10 significantly increased at T2 in group C and DL (166.26 $\pm$ 2.12 vs 146.28 $\pm$ 1.50, 155.40 $\pm$ 1.57 vs 143.59 $\pm$ 1.19, all P <0.01). There was no significant change in IFN- γ levels at T1 and T2 in each group. Pathological results showed that, the number of mature lymphocytes in the spleen of the dexmedetomidine group increased, the area of white pulp was relatively enlarged compared with group C. Western blot results showed that, dexmedetomidine down-regulated the expression of TLR4, MyD88 and NF- κ B p65 in a dose-dependent manner. [Conclusion] Dexmedetomidine could improve the suppression of cellular immune function in rats after orthotopic liver cancer resection, which may play an immunomodulatory effect by blocking the activation of TLR4/MyD88/NF- κ B signaling pathway.

Subject words: dexmedetomidine; hepatoma surgery; immune function; TLR4/MyD88/NF- κ B

肝癌是全球常见恶性肿瘤之一,其发病率逐年增加,发展中国家发病率更高^[1]。中国是肝癌负担严重的国家之一,发病率高,且因人口基数大,全球高达50%的肝癌患者在中国。目前,手术切除仍是肝癌治疗的首选手段,一方面能显著改善肝癌患者的预后、延长生存期,但手术也不可避免地影响了患者全身内分泌、代谢、炎症和免疫应激等反应^[2]。

肝癌的发生、发展与机体的免疫功能,尤其是细胞免疫功能有着密切的关系,肝癌患者术后免疫功能状态与肿瘤细胞的扩散、转移及术后感染等有关。研究发现,手术、麻醉、疼痛等围手术期诸多因素可直接影响肿瘤细胞,参与肿瘤复发与转移进程,导致肿瘤患者机体免疫功能,特别是细胞免疫功能受抑制,这种抑制作用会显著增大术后肿瘤病死率和复发率的风险,对于患者远期预后极其不利^[3-5]。因此,如何在恶性肿瘤患者的临床麻醉实施过程中更好地控制应激强度、维持肿瘤患者的免疫平衡,进而提高患者围手术期的免疫功能状态,对促进肿瘤患者的术后康复具有至关重要的意义。

右美托咪定(dexmedetomidine, DEX)是一种新型的肾上腺素能受体激动剂,具有抑制交感神经、镇静、催眠、镇痛和麻醉作用,作为麻醉辅助药物越来越多地应用于临床。研究表明,右美托咪定能够改善肝癌手术患者的免疫功能,改善免疫抑制^[6-8],主要作用于细胞因子和细胞亚群变化方面,其免疫作用

机制尚未明确。本研究通过建立大鼠原位肝癌模型,分析右美托咪定对肝癌大鼠围手术期免疫功能的影响,从调控TLR4/MyD88/NF- κ B信号通路探讨其应用于肝癌的可能作用机制,为临床麻醉辅助药物在肝癌治疗的免疫调节机制研究提供新的思路。

1 材料与方法

1.1 动物与试剂

动物: 24只SPF级、12~18周龄、体重240~300g的雄性SD大鼠【SCXK(沪)2017-0005】购自上海斯莱克公司,由浙江中医药大学动物实验研究中心饲养。大鼠在SPF级动物房适应性饲养1周,给予自来水和无菌饲料喂养,隔天换1次垫料,昼夜各12h。本研究动物实验严格遵守《实验动物饲养管理和使用指南》^[9]的相关规定,已获浙江医院实验动物伦理委员会批准。

试剂和生产公司: 右美托咪定注射液(江苏恒瑞医药);丙泊酚注射液(四川国瑞药业);Walker-256细胞(美国ATCC细胞库);胎牛血清(美国Hyclon);RPMI-1640培养基(美国Gibco);TLR4、MyD88和NF- κ B p65单抗(美国CST); β -actin单抗和辣根过氧化物酶标记的二抗(英国Abcam);RIPA细胞裂解液、BCA蛋白浓度检测试剂盒、ECL化学发光试剂及Western blot检测所需试剂(上海碧云天)。

1.2 细胞培养

大鼠 Walker-256 细胞常规复苏,培养在含 10% 灭活胎牛血清的 RPMI-1640 培养基中,置于 37℃、5% CO₂ 湿度培养箱中。每天在倒置显微镜下观察细胞生长状态,定时更换培养液,每隔 3d 胰蛋白酶消化传代,取对数生长期的细胞用于实验。

1.3 大鼠肝脏原位成瘤

取 5×10^6 个对数生长期的 Walker-256 细胞,在 12~18 周龄的雄性 SD 大鼠皮下成瘤。15d 后,取皮下肿瘤,用手术刀切取瘤块,选取鱼肉样新鲜瘤组织,剪成 1mm³ 大小块状,将欲接种肿瘤的雄性 SD 大鼠麻醉后仰卧固定于动物固定架上,剃去腹部体毛,安尔碘消毒,上腹部横切口约 0.5cm 入腹。依次剪开皮肤、皮下组织、腹膜,暴露大鼠肝脏,用湿棉棒托出左肝外叶,用眼科剪刺破肝包膜,在包膜下做一长隧道,将备好的瘤组织块用眼科镊植入,显微缝线闭合创口,确认无出血后关腹。

1.4 麻醉方法和手术

在肿瘤后第 15d 行肝癌切除术,切除肉眼可见的肝脏原位肿瘤。随机选择原位成瘤的大鼠,分为右美托咪定低(1.5μg/kg, DL 组)、中(3μg/kg, DM 组)、高(6μg/kg, DH 组)剂量组和对照组(C 组),每组 6 只大鼠。在大鼠腹腔内注射丙泊酚(100mg/kg)行麻醉诱导,后行气管插管进行机械通气,呼吸频率 70 次/min,潮气量 6~7ml/次,尾静脉注射丙泊酚 0.5mg/(kg·min)行麻醉维持。右美托咪定低、中、高剂量组大鼠于麻醉诱导前 15min 内静脉输注右美托咪定。麻醉诱导插管后,持续静脉输注右美托咪定至实验结束。对照组静脉输注等量生理盐水。肝癌切除手术结束大鼠清醒后,拔除气管插管。

1.5 流式细胞仪检测外周血 T 细胞亚群变化

取麻醉诱导前(T0)、术后 2d(T1)、术后 5d(T2) 各组大鼠尾静脉血各 0.5ml,注入 1.5ml 离心管中加入肝素抗凝,备用。取全血样本 50μl,分别加入 CD3⁺ 2μl、CD4⁺ 5μl、CD8⁺ 5μl,充分混匀,室温避光 15min,然后加入裂解液 1ml,充分混匀,静置避光 10min 后以 1 500r/min 离心 5min,弃除上清液。加 1ml PBS 洗涤,1 500r/min 离心 5min,弃除上清液。再加 500μl PBS 混匀,样品在 6h 内上流式细胞仪检测,用 CELLQuest 软件分析。

1.6 ELISA 检测细胞因子变化

各组于 T0、T1 和 T2 时,取尾静脉血 0.5ml,根

据 ELISA 试剂盒确定 IL-2、IL-10、IL-17A 和 IFN-γ 的水平。

1.7 HE 染色观察脾脏组织病理变化

T2 取血后,处死大鼠,取脾组织,以生理盐水洗净,立即投入 10% 甲醛溶液中固定,乙醇脱水,二甲苯透化,石蜡包埋,常规切片,HE 染色,在光学显微镜下观察各组大鼠脾脏组织病变情况。

1.8 Western blot 检测脾细胞中 TLR4、MyD88、NF-κB p65 蛋白表达

取脾脏样本加入裂解液,采用 Bradford 法进行蛋白定量检测。获得总蛋白,以 5×品缓冲液配平上样体积后,沸水浴中 5min 使蛋白变性,上样。SDS-PAGE 电泳,半干电转膜仪转膜(30mA, 90min)。5% TBS-T 脱脂奶粉封闭后加入一抗,4℃过夜。TBS-T 漂洗液洗膜 10min,共 3 次,加入 HRP 标记的二抗,37℃振荡 60min。将 PVDF 膜置 ECL 混合液中于室温下振荡温育 5min,X 线胶片曝光,经显影、定影、扫描后观察结果。应用 Image-ProPlus 软件对扫描图像的目的条带进行灰度分析,各目的条带与 β-actin 的灰度比值为目的蛋白的相对表达量。

1.9 统计学处理

采用 SPSS19.0 软件进行数据分析。计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,多样本数据比较采用方差分析,配对设计两样本均数比较采用 *t* 检验,*P* < 0.05 表示差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 右美托咪定对肝癌切除术大鼠外周血 T 细胞亚群的影响

与 C 组比较,右美托咪定能够抑制肝癌切除术大鼠外周血 CD3⁺、CD4⁺ T 细胞数量下降,以及 CD8⁺ T 细胞数量增加。在 T0、T1 和 T2 时,DH 组 CD3⁺、CD4⁺ T 细胞数量均显著提高(T0:50.97±8.29 vs 29.53±2.67, 26.77±4.44 vs 13.57±2.40, *P* 均 < 0.01; T1:45.80±8.95 vs 26.03±8.45, *P* < 0.05; 19.73±3.23 vs 10.00±2.95, *P* < 0.01; T2:45.70±5.41 vs 23.77±5.98, 15.30±3.15 vs 8.73±2.80, *P* 均 < 0.05)。CD8⁺ T 细胞数量降低,但无显著性差异(*P* > 0.05)(Table 1)。

与 T0 时比较,各组在 T1、T2 时 CD3⁺、CD4⁺ T 细胞数量及 CD4⁺/CD8⁺ 降低,CD8⁺ T 细胞数量则升

Table 1 Effect of dexmedetomidine on T cell subsets in peripheral blood of rats undergoing liver cancer resection ($\bar{x} \pm s, n=6$)

Item	Groups	T0	T1	T2
CD3 ⁺	C	29.53±2.67	26.03±8.45	23.77±5.98
	DL	43.53±3.65**	35.33±5.24	33.00±15.44
	DM	46.40±2.49**	39.47±5.06	39.03±7.07
	DH	50.97±8.29**	45.80±8.95*	45.70±5.41*
CD4 ⁺	C	13.57±2.40	10.00±2.95 ^{##}	8.73±2.80 ^{##}
	DL	21.50±1.04*	14.23±2.40 [#]	9.47±2.08 [#]
	DM	25.10±2.87**	16.13±0.71 [#]	10.00±2.86 ^{##}
	DH	26.77±4.44**	19.73±3.23**	15.30±3.15 [#]
CD8 ⁺	C	21.10±2.51	23.73±3.83	30.87±6.13
	DL	13.53±3.32*	20.40±3.67	28.67±8.98
	DM	14.83±2.57	20.30±1.35	26.33±2.50 ^{##}
	DH	15.77±5.04	18.90±5.96	22.10±2.47
CD4 ⁺ /CD8 ⁺	C	0.65±0.17	0.42±0.10 [#]	0.30±0.14 ^{##}
	DL	1.68±0.57	0.70±0.06	0.36±0.15
	DM	1.74±0.46	0.79±0.02	0.39±0.14 [#]
	DH	1.92±1.08*	1.15±0.52*	0.69±0.10**

Notes: * $P<0.05$, ** $P<0.01$ vs control group; [#] $P<0.05$, ^{##} $P<0.01$ vs T0

高。其中,C组、DL组和DM组在T1、T2时CD4⁺T细胞数量明显降低(C组:10.00±2.95 vs 13.57±2.40, 8.73±2.80 vs 13.57±2.40, P 均<0.01;DL组:14.23±2.40 vs 21.50±1.04, 9.47±2.08 vs 21.50±1.04, P 均<0.05;DM组:16.13±0.71 vs 25.10±2.87, $P<0.05$, 10.00±2.86 vs 25.10±2.87, $P<0.01$)(Table 1)。T0时,各实验组部分流式结果见Figure 1。

2.2 右美托咪定对肝癌切除术大鼠血浆细胞因子的影响

与C组比较,在T1、T2时DH组IL-2、IL-17A和IFN- γ 水平显著提高(T1:53.72±1.32 vs 51.89±1.19, $P<0.05$;225.16±2.46 vs 216.80±2.77, $P<0.01$;1 556.02±20.72 vs 1 528.55±19.77, $P<0.05$;T2:53.30±1.35 vs 49.93±1.28, $P<0.01$;223.57±2.55 vs 211.42±2.61, $P<0.01$;1 553.81±21.24 vs 1 524.72±15.65, $P<0.05$)。IL-10水平显著降低(T1:145.56±1.50 vs 155.36±1.19, T2:148.51±1.39 vs 166.26±2.12, P 均<0.01)(Figure 2)。

与T0时比较,C组在T1、T2时IL-2、IL-17A水平均显著降低,IL-10水平显著升高(T1:51.89±1.19 vs 56.02±0.98, 216.80±2.77 vs 226.77±2.59, 155.36±1.19 vs 146.28±1.50, P 均<0.01;T2:49.93±1.28 vs 56.02±0.98, 211.42±2.61 vs 226.77±2.59, 166.26±2.12 vs 146.28±1.50, P 均<0.01)。DL组在T2时IL-2、IL-17A水平均显著降低,IL-10水平显著升高(50.77±0.83

vs 55.02±1.13, $P<0.01$;219.67±2.03 vs 225.82±2.64, $P<0.05$),各组在T1、T2时IFN- γ 水平无显著变化(Figure 2)。

2.3 右美托咪定对肝癌切除术大鼠脾脏病理变化的影响

与C组(Figure 3A)相比,右美托咪定干预后脾脏淋巴细胞数量增加,白髓面积扩大(Figure 3B, 3C, 3D),表明右美托咪定能够减轻脾脏组织病理变化。

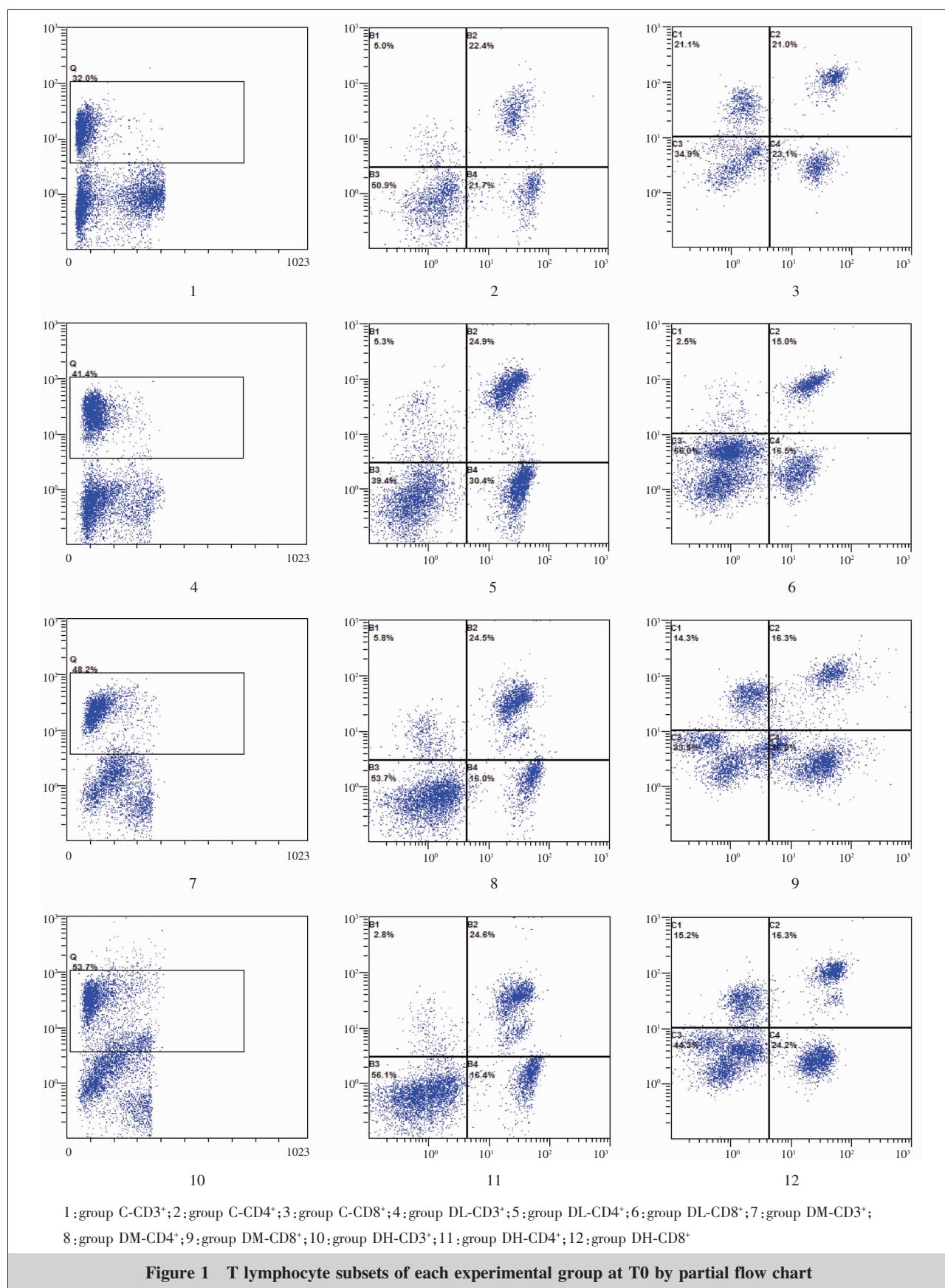
2.4 右美托咪定对肝癌切除术大鼠脾脏TLR4/MyD88/NF- κ B信号通路蛋白表达的影响

与C组比较,各组脾脏TLR4、MyD88、NF- κ B p65蛋白表达量均显著降低(DL组:0.84±0.21 vs 1.06±0.14, 0.62±0.15 vs 0.83±0.08, 0.65±0.40 vs 1.05±0.33;DM组:0.55±0.50 vs 1.06±0.14, 0.59±0.19 vs 0.83±0.08, 0.53±0.52 vs 1.05±0.33;DH组:0.52±0.53 vs 1.06±0.14, 0.47±0.30 vs 0.83±0.08, 0.45±0.59 vs 1.05±0.33, P 均<0.01),并呈现剂量依赖性(Figure 4),提示右美托咪定可能通过调控TLR4/MyD88/NF- κ B信号通路影响肝癌切除术大鼠围手术期免疫平衡。

3 讨论

围手术期肝癌患者的免疫功能大多降低,术后患者复发率及病死率显著增加,这对患者的远期预后极其不利^[10-12]。因此,提高围手术期患者的免疫功能变得十分重要。T细胞是机体主要的免疫效应细胞,在肿瘤免疫中起重要作用,人体成熟T淋巴细胞按分化后表达抗原不同,可分为CD4⁺T细胞和CD8⁺T细胞。CD4⁺T细胞能促进B细胞、T细胞和其他免疫细胞的增殖和分化,协调免疫细胞间的相互作用,对细胞免疫起促进作用;CD8⁺T细胞对免疫应答有负性调节的作用;临床上常以CD4⁺/CD8⁺升高提示机体免疫功能的增强。本研究结果显示,肝癌切除术大鼠术后CD3⁺、CD4⁺、CD4⁺/CD8⁺水平低于术前,术后右美托咪定组大鼠的CD3⁺、CD4⁺和CD4⁺/CD8⁺水平高于对照组,与周世凤等^[13]、王宁琳等^[14]研究结果相符,表明右美托咪定能在一定程度上减轻肝癌切除术创伤导致的免疫功能抑制,改善术后免疫功能。

IFN- γ 、IL-2和IL-10是参与免疫应答的重要细胞因子。IFN- γ 、IL-2是促炎细胞因子,诱导CD8⁺T



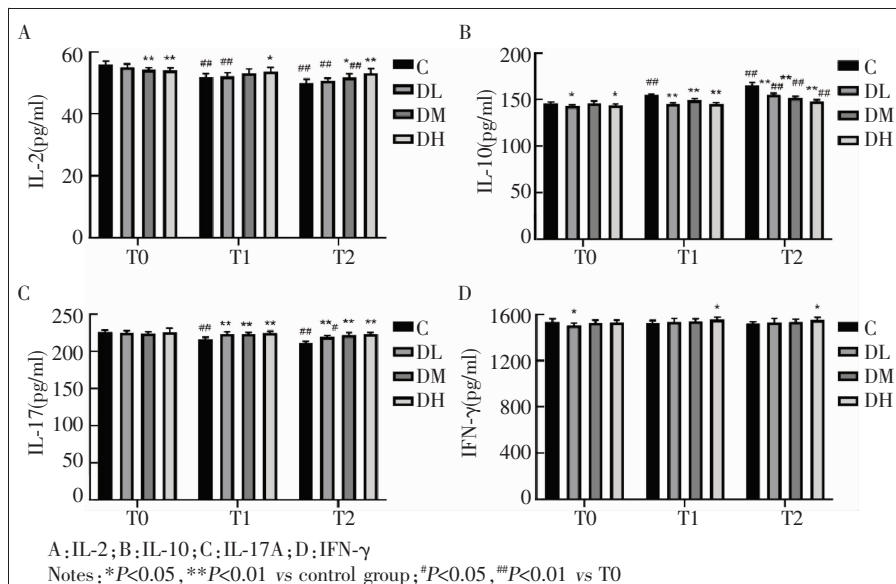


Figure 2 Effects of dexmedetomidine on plasma cytokines in rats undergoing liver cancer resection

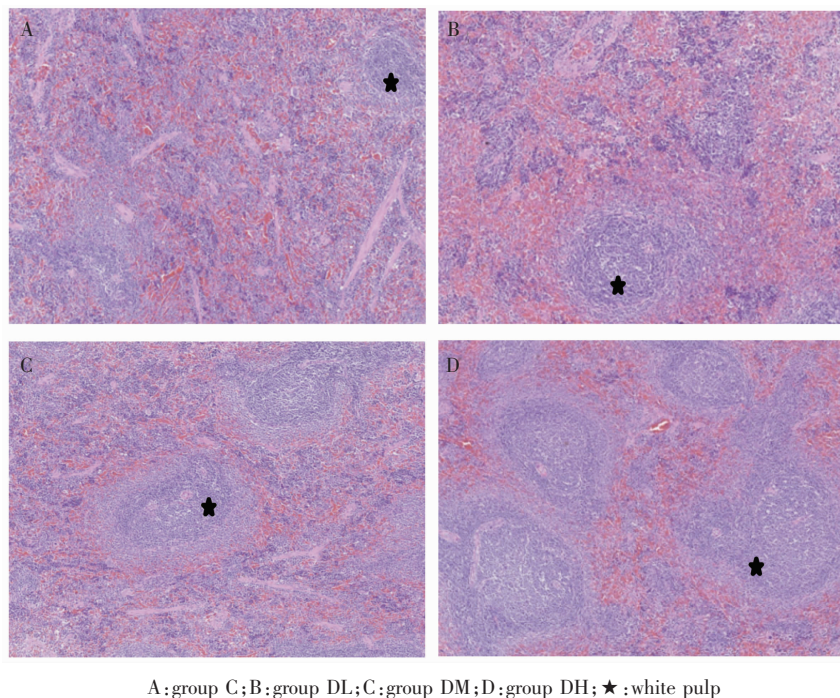
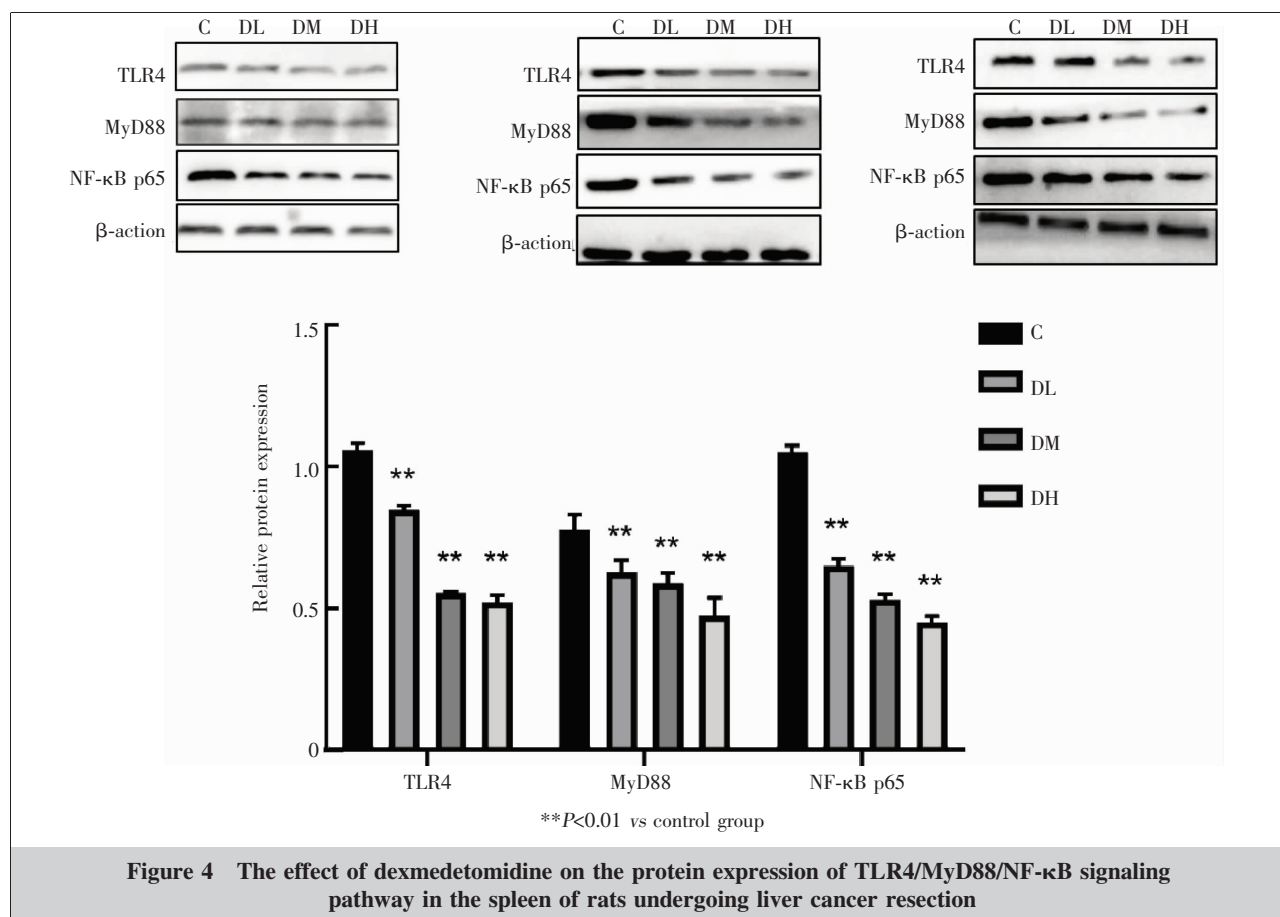


Figure 3 Effect of dexmedetomidine on pathological changes of spleen in rats undergoing liver cancer resection (HE×40)

细胞,进一步活化NK细胞及巨噬细胞、树突状细胞等抗原递呈细胞,抑制肿瘤的生长。而IL-10的主要功能是启动抑炎细胞因子基因的表达,诱发T细胞免疫无能,使机体抗肿瘤免疫减弱,肿瘤细胞逃避机体免疫监视从而发生免疫逃逸^[15]。IL-17A在机体免疫、感染、肿瘤免疫、自身免疫性疾病中均发挥重要

作用,作为促炎性细胞因子呈现出一定的抗肿瘤功能^[16]。朱雅萍等^[17]研究发现,乳腺癌根治术患者给予右美托咪定,术后1d、7d的血清IL-10与INF- γ 含量均显著高于对照组。苏晓英等^[18]研究表明,右美托咪定组小鼠IL-2、INF- γ 水平高于对照组。本研究显示给予右美托咪定可显著提高IL-2、IL-17A和INF- γ 水平,而显著降低IL-10水平,与前人研究不完全一致^[16]。IL-10作为免疫逃逸的重要免疫抑制性因子,能抑制肿瘤浸润炎症细胞,使细胞在肿瘤组织中的浸润、分化和成熟受到抑制,同时也可以抑制这些炎症细胞对肿瘤的杀伤作用,体现出双向调节作用^[19]。因此,右美托咪定是可以改善肝癌切除术大鼠炎性因子水平的药物。同时HE染色显示右美托咪定干预后脾脏淋巴细胞数量增加、白髓面积扩大,提示右美托咪定能够减轻脾脏组织的病理变化。

TLR4信号通路在刺激肝脏免疫和炎症反应相关基因表达中具有重要的调控作用^[20-21]。MyD88是TLR4受体复合物的关键下游信号配体,也是NF- κ B信号通路的重要衔接蛋白,有助于炎症基因的表达。NF- κ B是TLR4的下游激活因子,参与TLR4/MyD88依赖性信号通路,并诱导与肝脏炎症相关的多种促炎趋化因子(如INF- γ 、TNF α 等)的转录和表达^[22]。本研究表明,右美托咪定干预肝癌切除术大鼠后,脾脏TLR4、MyD88、NF- κ B p65蛋白表达量均显著降低,且呈剂量依赖性,提示右美托咪定可能通过抑制TLR4/MyD88/NF- κ B信号通路的激活影响肝癌切除



术大鼠围手术期的免疫平衡。综上所述,右美托咪定可减轻肝癌切除术大鼠术后细胞免疫功能抑制,通过分析 TLR 信号通路与细胞免疫的关系,可能为提高肝癌患者免疫功能提供新的方向。

参考文献:

- [1] Yang J, Hainaut P, Gores JG, et al. A global view of hepatocellular carcinoma: trends, risk, prevention and management[J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2019, 16 (10): 589-604.
- [2] Anwanwan D, Singh SK, Singh S, et al. Challenges in liver cancer and possible treatment approaches [J]. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer*, 2020, 1873(1): 188314.
- [3] Wang L, Wang FS. Clinical immunology and immunotherapy for hepatocellular carcinoma: current progress and challenges[J]. *Hepatol Int*, 2019, 13(5): 521-533.
- [4] Tang X, Shu Z, Zhang W, et al. Clinical significance of the immune cell landscape in hepatocellular carcinoma patients with different degrees of fibrosis [J]. *Ann Transl Med*, 2019, 7(20): 528.
- [5] Rizvi S, Wang J, El-Khoueiry AB. Liver cancer immunity [J]. *Hepatology*, 2021, 73(Suppl 1): 86-103.
- [6] 陈文华, 陈铭君, 陈志强, 等. 右美托咪定对原发性肝癌患者围术期免疫功能的影响[J]. *江西医药*, 2019, 54(2): 160-164.
Chen WH, Chen MJ, Chen ZQ, et al. Effect of dexmedetomidine on perioperative immune function in patients with primary liver cancer [J]. *Jiangxi Medical Journal*, 2019, 54 (2): 160-164.
- [7] 尹彩星, 司海超, 范兆阳, 等. 右美托咪定对肝癌根治术患者 Th1、Th2、Th17、Treg 细胞及相关细胞因子的影响 [J]. *广东医学*, 2019, 40(24): 3452-3456.
Yin CX, Si HC, Fan ZY, et al. Effect of dexmedetomidine on Th1, Th2, Th17, Treg cells and related cytokines in patients undergoing radical resection of liver cancer [J]. *Guangdong Medical Journal*, 2019, 40(24): 3452-3456.
- [8] 黄以庭, 罗慧, 冯雅薇, 等. 右美托咪定对肝癌患者围术期细胞免疫功能的影响 [J]. *实用医学杂志*, 2017, 33 (12): 2016-2018.
Huang YT, Luo H, Feng YW, et al. Effect of dexmedetomidine on perioperative cell immune function in patients

- undergoing hepatoma surgery [J]. The Journal of Practical Medicine, 2017, 33(12): 2016–2018.
- [9] 美国《实验动物饲养管理和使用指南》修订委员会, 美国国家学术研究委员会. 实验动物饲养管理和使用指南[M]. 第8版. 上海: 上海科学技术出版社, 2012. Revision committee of “Guide for the care and use of laboratory animals”, National Research Council. Guide for the care and use of laboratory animals[M]. 8th edition. Shanghai: Shanghai Scientific & Technical Publishers, 2012.
- [10] Sorski L, Melamed R, Levi B, et al. Prevention of liver metastases through perioperative acute CpG-C immune stimulation [J]. Cancer Immunol Immunother, 2020, 69(10): 2021–2031.
- [11] 龚由伟, 薛颖泓, 唐涌连, 等. 预存式自体输血对原发性肝癌患者围术期免疫功能的影响 [J]. 广西医科大学学报, 2020, 37(9): 1648–1652. Gong YW, Xue YH, Tang YL, et al. Effect of preoperative autologous blood donation on perioperative immune function in patients with primary liver cancer [J]. Journal of Guangxi Medical University, 2020, 37(9): 1648–1652.
- [12] 曹中文, 陈梅福, 张治桥, 等. 腹腔镜精准肝切除对原发性肝癌患者肝功能、免疫功能及炎性因子的影响[J]. 现代生物医学进展, 2020, 20(1): 110–114. Cao ZW, Chen MF, Zhang ZQ, et al. Effect of laparoscopic precise hepatectomy on liver function, immune function and inflammatory factors in patients with primary hepatocellular carcinoma [J]. Progress in Modern Biomedicine, 2020, 20(1): 110–114.
- [13] 周世凤, 詹玮, 边成富. 右美托咪定对行肝叶切除术原发性肝癌患者氧化应激、肝功能及外周血单核细胞内Toll样受体2和Toll样受体4表达的影响[J]. 新乡医学院学报, 2020, 37(9): 869, 872–876. Zhou SF, Zhan W, Bian CF. Effect of dexmedetomidine on oxidative stress, liver function and expression of Toll-like receptor 2 and Toll-like receptor 4 in peripheral blood mononuclear cells in patients with primary liver cancer undergoing hepatectomy [J]. Journal of Xinxiang Medical University, 2020, 37(9): 869, 872–876.
- [14] 王宁琳, 刘琳, 陈军. 右美托咪定复合七氟烷对子宫肿瘤切除术患者围术期应激反应及T淋巴细胞亚群的影响[J]. 实用癌症杂志, 2020, 35(10): 1727–1730. Wang NL, Liu L, Chen J. Effects of dexmedetomidine combined with sevoflurane on perioperative stress response and T lymphocyte subsets in patients undergoing hysterectomy[J]. The Practical Journal of Cancer, 2020, 35(10): 1727–1730.
- [15] Jiao S, Subudhi SK, Aparicio A, et al. Differences in tumor microenvironment dictate T helper lineage polarization and response to immune checkpoint therapy [J]. Cell, 2019, 179(5): 1177–1190.
- [16] Ruiz de Morales JMG, Puig L, Daudén E, et al. Critical role of interleukin(IL)-17 in inflammatory and immune disorders: an updated review of the evidence focusing in controversies[J]. Autoimmun Rev, 2020, 19(1): 102429.
- [17] 朱雅萍, 宋一民, 魏金聚. 右美托咪定对中老年全身麻醉乳腺癌根治术患者IL-10及INF- γ 的影响[J]. 实用癌症杂志, 2020, 35(11): 1806–1809. Zhu YP, Song YM, Wei JJ. Effects of dexmedetomidine on IL-10 and INF- γ in middle-aged and elderly patients underwent radical mastectomy for breast cancer [J]. The Practical Journal of Cancer, 2020, 35(11): 1806–1809.
- [18] 苏晓英, 王红又, 董倩, 等. 右美托咪定对Lewis肺癌小鼠免疫功能影响机制探讨 [J]. 中华肿瘤防治杂志, 2020, 27(13): 1040–1048. Su XY, Wang HY, Dong Q, et al. Effects of dexmedetomidine on the immune function of Lewis lung cancer mice by regulating IL-6/STAT3 pathway[J]. Chinese Journal of Cancer Prevention and Treatment, 2020, 27(13): 1040–1048.
- [19] 王佳丽, 刘丽华. IL-10对肿瘤免疫双向调节的研究进展[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2016, 23(1): 130–134. Wang JL, Liu LH. Research progress on bi-directional regulation of tumor immunity by IL-10[J]. Chinese Journal of Cancer Biotherapy, 2016, 23(1): 130–134.
- [20] Wei S, Zhou H, Wang Q, et al. RIP3 deficiency alleviates liver fibrosis by inhibiting ROCK1-TLR4-NF- κ B pathway in macrophages[J]. FASEB J, 2019, 33(10): 11180–11193.
- [21] Huang Z, Chen M, Wei M, et al. Liver inflammatory injury initiated by DAMPs-TLR4-MyD88/TRIF-NF κ B signaling pathway is involved in monocrotaline-induced HSOS [J]. Toxicol Sci, 2019, 172(2): 385–397.
- [22] Serrya MS, Zaghoul MS. Mycophenolate mofetil attenuates concanavalin A-induced acute liver injury through modulation of TLR4/NF- κ B and Nrf2/HO-1 pathways[J]. Pharmacol Rep, 2020, 72(4): 945–955.