

宫颈癌及宫颈上皮瘤变患者 Th1/Th2 水平变化及其相关炎症因子的检测与临床意义

董勇佔, 王 香

作者单位: 274400 山东,曹县中医医院妇产科(董勇佔); 250000 济南,山东省肿瘤医院妇三科(王 香)
作者简介: 董勇佔(1965 -),男,大学本科,医学学士,副主任医师,研究方向:不孕不育诊治。E-mail:490983190@qq.com

【摘要】 目的 观察比较宫颈癌患者、宫颈上皮瘤变患者(cervical intrepithelium neoplasia, CIN)及健康对照者外周血中 Th1/Th2 水平变化及相关炎症因子 IL-2、IFN- γ 、IL-6、IL-4、IL-10 的表达水平变化,为宫颈癌及宫颈上皮瘤变的早期诊断提供理论依据。**方法** 采用酶联免疫吸附(ELISA)法检测 40 例子宫颈癌患者、40 例子子宫肌瘤患者及 50 名健康对照者外周血中 Th1 细胞因子白细胞介素-2(IL-2)、干扰素- γ (IFN- γ)的表达水平,Th2 细胞因子 IL-4、IL-6、IL-10 的表达水平,流式细胞仪检测 Th1/Th2 细胞的比值变化。**结果** 宫颈癌组及宫颈上皮瘤变组与对照组比较,Th2 细胞因子 IL-4、IL-6、IL-10 表达均升高($P < 0.05$),Th1 细胞 IL-2、IFN- γ 表达均下降($P < 0.05$),Th1/Th2 比值下降($P < 0.05$)。随着宫颈癌分化程度的降低,Th1 细胞因子的降低和 Th2 细胞因子的升高更加明显($P < 0.05$)。**结论** 宫颈癌患者中可见 Th1 细胞因子降低,Th2 细胞因子升高,Th1/Th2 比值下降,且与肿瘤分化程度有一定的关系,提示其可能在宫颈癌的发生、发展过程中扮演着重要的角色,对其水平的检测将有助于宫颈癌病情监测。

【关键词】 宫颈癌; 宫颈上皮瘤变; Th1/Th2; 炎症因子
【中图分类号】 R 737.33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1674-3806(2015)10-0943-04
doi:10.3969/j.issn.1674-3806.2015.10.15

Changes of the levels of Th1/Th2 subpopulations and the relevant inflammatory cytokines expression in patients with cervical cancer and cervical intrepithelium neoplasia DONG Yong-zhan, WANG Xiang. Department of Obstetrics and Gynecology, Cao County Hospital of Traditional Chinese Medicine, Shandong 274400, China

【Abstract】 Objective To detect the expression levels of Th1/Th2 subpopulations and Th1 cytokines interleukin-2(IL-2), interferon- γ (IFN- γ) and Th2 cytokines IL-4, IL-6, IL-10 in the serum of patients with cervical carcinoma, hysteromyoma and the healthy controls, and to provide the basis for the early diagnosis of cervical cancer and cervical intrepithelium neoplasia. **Methods** The peripheral blood was collected from 40 cases with cervical carcinoma, and other 40 cases with cervical intrepithelium neoplasia and 50 healthy people. Th1 cytokines interleukin-2(IL-2), interferon- γ (IFN- γ) and Th2 cytokines IL-4, IL-6, IL-10 in the serum of all cases were detected using ELISA kit. Flow cytometry was used to detect the ratio of Th1/Th2 subpopulations. **Results** The expression levels of IL-2, IFN- γ decreased, and IL-4, IL-6, IL-10 increased, the ratio of Th1/Th2 decreased in the cervical cancer group and CIN group compared with those in the control group($P < 0.05$). Th1 cytokines reduced more and Th2 cytokines rose more in CIN group than those did in the cervical cancer group($P < 0.05$). **Conclusion** Th1 cytokines decrease while Th2 cytokines increase, and the ratio of Th1/Th2 decreases in the patients with cervical cancer. The expression levels of Th1 and Th2 are associated with tumor pathological grade, which reveals that Th1/Th2 plays a vital role in the development of cervical carcinoma, and could be helpful to determine and monitor the tumors properly.

【Key words】 Cervical carcinoma; Cervical intrepithelium neoplasia(CIN); Th1/Th2; Inflammatory cytokines

宫颈癌是女性人群中发病率最高的恶性肿瘤之一,近年来宫颈癌的发病率逐年增加并且出现了低龄化趋势^[1,2]。目前认为宫颈癌的发生是遗传因素与环境因素的相互作用导致的,这些因素共同作用

导致机体免疫系统功能失衡,机体抗肿瘤能力降低,最终引起肿瘤的形成^[3]。宫颈上皮内瘤变(cervical intrae-pithelial neoplasia, CIN)包括宫颈不典型增生和宫颈原位癌,是与宫颈浸润癌密切相关的癌前期

病变,反映了宫颈癌发生发展的连续过程^[4]。辅助性 T 细胞(Th)对于调节机体免疫系统至关重要。正常生理情况下,Th1、Th2 两类细胞处于相互转化、相互抑制的平衡状态,一旦打破这种平衡,机体就会出现炎症、肿瘤、移植排斥等病理反应^[5]。Th1 细胞分泌的 IL-2 刺激造成肿瘤细胞凋亡,而 IFN- γ 具有较强的抗肿瘤和免疫调节作用,因此 Th1 细胞有助于发挥抗肿瘤作用^[6]。Th2 细胞分泌的 IL-4、IL-6、IL-10 不仅能直接作用于靶细胞,而且能通过旁分泌和其他细胞因子间接发挥作用,破坏机体的免疫系统,促进肿瘤细胞的浸润和转移^[7],可见 Th2 细胞会严重干扰机体的抗肿瘤免疫。本研究通过检测 40 例宫颈癌患者、40 例宫颈上皮瘤变患者及 50 名健康对照者外周血中 IL-2、IFN- γ 、IL-4、IL-6、IL-10 的表达水平,分析这 5 种细胞因子的表达和 Th1/Th2 平衡偏移与肿瘤发生发展和分化程度的关系,为宫颈癌、宫颈上皮瘤变的早期诊断和免疫治疗提供一定的临床依据。

1 对象与方法

1.1 研究对象 选择 2012-02 ~ 2013-12 就诊于我院妇产科的 40 例宫颈癌患者,年龄(45.8 $\pm$ 11.3)岁,其中高分化宫颈癌 14 例,中分化宫颈癌 14 例,低分化宫颈癌 12 例,所有病例经临床症状、影像检查以及病理检测等方法综合诊断证实为宫颈癌。另选择同一时期就诊于我院妇产科经病理诊断为宫颈上皮瘤变的患者 40 例,年龄(48.6 $\pm$ 12.4)岁。以上宫颈癌患者与宫颈上皮瘤变患者均无其他部位原发肿瘤,无感染性疾病,无传染病病史,无自身免疫性疾病病史。健康对照组为同期于我院体检中心的 50 名无任何疾病的女性健康体检者,年龄(51.9 $\pm$ 9.1)岁。本课题经医院伦理委员会批准,所有患者均知情同意。

1.2 血清的收集 所有宫颈癌、宫颈上皮瘤变患者于手术前 2 h 空腹抽取 5 ml 静脉血置促凝管中,然后 4℃下,3 000 rpm 离心 5 min 后并分离上血清至 1.5 ml EP 管中,-80℃保存直至使用。健康对照组的血清按上述方法于体检当日清晨收集。

1.3 血清 IL-2、IFN- γ 、IL-4、IL-6、IL-10 水平的检测

方法 通过酶联免疫分析法检测患者血清中的 IL-2、IFN- γ 、IL-4、IL-6、IL-10 水平,人干扰素(IFN- γ) Elisa 试剂盒购于上海凯博生化试剂有限公司,商品编号 KB1032,其他酶联免疫分析试剂盒均购于上海邦奕生物科技有限公司,商品编号 BYE12265/BYE-12321/BYE12786/BYE12524。其主要采用双抗体夹心法检测患者血清中相关细胞因子的浓度,具体的操作步骤严格按照 ELISA 试剂盒提供的说明书进行标准品稀释、加样、加酶、显色、终止、测定等过程,最后根据所检测样本的光度值及所绘制的标准曲线计算出各样本血清中 IL-2、IFN- γ 、IL-4、IL-6、IL-10 的浓度。主要实验仪器:酶标仪(iMark,BIO-RAD)。

1.4 外周血 Th1/Th2 细胞亚群比值的检测方法 采用三标记荧光染色,以 CD8 设门进行 FCM 分析,通过检测所有患者样本外周血 CD8 + 细胞中 IFN- γ 和 IL-4 的表达,确定 Th1/Th2 细胞的百分率(直标单抗 CD8-FITC、IL4-PE、IFN- γ -PE,购自 Immunotech 公司,流式细胞仪,Beckman Coulter 公司,Epics-XL)。

1.5 统计学方法 应用 SPSS18.0 统计软件进行数据处理,通过 Shapiro-Wilk Test、Levene's Test 两种统计方法判断三组 IL-2、IFN- γ 、IL-4、IL-6、IL-10 浓度是否符合正态分布及方差是否齐性,若同时满足以上两条件则采用单因素方差分析及 LSD-*t* 检验分析判断三组间 5 种细胞因子表达水平的差异是否具有统计学意义,*P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 三组血清 IL-2、IFN- γ 、IL-4、IL-6、IL-10 水平比较 与健康对照组比较,宫颈癌患者血清中 IL-2、IFN- γ 的浓度明显下降,IL-4、IL-6、IL-10 的浓度明显升高,差异具有统计学意义(*P* < 0.05);同样,宫颈上皮瘤变患者血清中 IL-2、IFN- γ 的浓度明显下降,IL-4、IL-6、IL-10 的浓度明显升高,差异具有统计学意义(*P* < 0.05)。见表 1。

2.2 三组外周血 Th1/Th2 细胞亚群比值比较 与健康对照组比较,利用直标抗体 IFN- γ 标记 Th1 细胞,IL-4 标记 Th2 细胞进行流式细胞术检测,宫颈癌组和宫颈上皮瘤变组外周血中 Th1/Th2 细胞亚群的比值均明显增加,差异具有统计学意义(*P* < 0.05)。见表 2。

表 1 三组血清 IL-2、IFN- γ 、IL-4、IL-6、IL-10 水平比较[($\bar{x} \pm s$),ng/ml]

组 别	例数	IL-2	IFN- γ	IL-4	IL-6	IL-10
宫颈癌组	40	9.61 $\pm$ 3.58	11.54 $\pm$ 2.79	3.54 $\pm$ 0.96	3.40 $\pm$ 1.21	4.27 $\pm$ 2.11
宫颈上皮瘤变组	40	9.05 $\pm$ 3.14	11.14 $\pm$ 2.23	3.89 $\pm$ 1.04	3.63 $\pm$ 0.94	4.68 $\pm$ 2.25
健康对照组	50	12.22 $\pm$ 2.09	13.63 $\pm$ 2.51	1.36 $\pm$ 0.29	1.34 $\pm$ 0.13	1.25 $\pm$ 0.41
<i>F</i>	-	5.834	6.393	3.134	3.646	4.145
<i>P</i>	-	0.012	0.009	0.042	0.038	0.026

表 2 三组外周血 Th1/Th2 细胞亚群比值比较[$(\bar{x} \pm s)$, %]

组 别	例数	Th1	Th2	Th1/Th2
宫颈癌组	40	256.8 ± 12.45	115.8 ± 12.45	21.22 ± 3.23
宫颈上皮瘤变组	40	211.8 ± 13.89	144.8 ± 11.45	12.22 ± 2.76
健康对照组	50	544.8 ± 20.45	99.8 ± 10.45	78.53 ± 2.09
<i>F</i>	—	23.546	18.492	13.255
<i>P</i>	—	0.000	0.000	0.000

表 3 临床不同病理分级宫颈癌患者血清中 IL-2、IFN- γ 、IL-4、IL-6、IL-10 水平比较[$(\bar{x} \pm s)$, ng/ml]

分化程度	例数	IL-2	IFN- γ	IL-4	IL-6	IL-10
低分化组	12	8.35 ± 3.34	10.11 ± 2.86	4.27 ± 1.57	4.85 ± 1.24	4.99 ± 1.89
中分化组	14	9.74 ± 3.64	12.23 ± 3.29	3.72 ± 1.02	3.63 ± 1.17	4.45 ± 1.87
高分化组	14	10.30 ± 2.69	13.26 ± 1.89	3.58 ± 0.94	3.33 ± 1.77	3.90 ± 1.70
<i>F</i>	—	5.367	6.385	4.255	4.658	4.789
<i>P</i>	—	0.015	0.010	0.019	0.016	0.014

3 讨论

3.1 辅助性 T 细胞根据其分泌的细胞因子类型分为 Th1 和 Th2 两种亚型^[8],其中 Th1 细胞分泌白细胞介素 2(interleukin-2, IL-2)、干扰素- γ (interferon- γ , INF- γ)和肿瘤坏死因子- β (tumor necrosis factor β , TNF- β),Th2 细胞主要分泌 IL-4、5、6、9 和 10。IL-2 主要由 Th1 细胞表达,是免疫应答和免疫调节中主要的核心细胞因子,不仅能够参与 T 细胞凋亡和促进 T 细胞增殖,而且还具有抑制免疫的作用,其活性高低直接影响免疫细胞功能及宫颈局部的免疫状态^[9]。IFN- γ 是 Th1 分泌的主要细胞因子,具有较强抑制肿瘤细胞增殖以及免疫调节作用,通过增强机体的固有免疫和适应性免疫实现其抗病毒和抗肿瘤效应,国外文献报道 IFN- γ 是宫颈癌临床诊断中重要指标,与宫颈癌的发生发展密切相关^[10,11]。本研究发现 IL-2 和 IFN- γ 在宫颈癌和宫颈上皮内瘤变患者的阳性表达水平明显低于健康对照组,且随着宫颈癌分化程度的降低,Th1 细胞因子的降低更加明显。

3.2 IL-4 可促进肿瘤组织产生 IL-10,进而降低抗原提呈细胞的表达,维持 II 型淋巴细胞在肿瘤组织中的浸润^[12]。IL-6 是多种免疫细胞如 T 细胞、NK 细胞及巨噬细胞等产生的细胞因子,促进机体炎性免疫反应,在肿瘤微环境中,IL-6 可能通过上调一些血管源性因子,促进肿瘤组织新生微血管的形成,加剧肿瘤的病理进展^[13]。IL-10 是目前公认的炎症与免疫抑制因子^[14,15],通过抑制 IL-12 的合成和 Th1 细胞的产生 IFN- γ ,参与炎症反应和免疫反应。本研究发现 IL-4、IL-6 和 IL-10 在宫颈癌和宫颈上皮内瘤变患者的阳性表达水平明显高于健康对照组,

2.3 临床不同病理分级宫颈癌患者血清中 IL-2、IFN- γ 、IL-4、IL-6、IL-10 水平比较 与中分化、高分化宫颈癌患者比较,低分化宫颈癌患者 IL-4、IL-6、IL-10 浓度最高,IL-2、IFN- γ 浓度最低,差异具有统计学意义($P < 0.05$),说明 Th1/Th2 型细胞因子与肿瘤分化程度有一定的关联性。见表 3。

且随着宫颈癌分化程度的降低,Th2 细胞因子的升高更加明显。

3.3 正常生理状态下,介导细胞免疫的 Th1 和介导体液免疫的 Th2 处于动态平衡,一旦打破这种平衡,Th1 细胞因子向 Th2 细胞因子偏移时,将会抑制机体的细胞免疫功能,导致炎症、肿瘤、移植排斥等疾病的发生^[16]。本研究通过利用流式细胞术比较 Th1 细胞因子 IFN- γ 细胞百分比与 Th2 细胞因子 IL-4 细胞百分比反映 Th1/Th2 的偏移状态,评价宫颈癌患者机体免疫平衡状态的变化,结果发现与健康对照组相比,宫颈癌和宫颈上皮内瘤变患者 Th1/Th2 平衡均向 Th2 方向偏移,表明由于 Th1 细胞不能被有效激活,使患者的机体免疫功能处于抑制状态,从而加速了肿瘤的发生发展。

研究表明,Th1/Th2 平衡的偏移以及主要的相关炎性因子 IL-2、IFN- γ 、IL-4、IL-6、IL-10 表达水平的变化,可以考虑作为宫颈癌患者诊断、恶性进展及预后判断的有效指标。

参考文献

1 杨 梅. 南宁市城市人群宫颈癌筛查方法的探讨[J]. 中国临床新医学,2011,4(9):843-845.

2 Kitchener HC, Denton K, Soldan K, et al. Developing role of HPV in cervical cancer prevention[J]. BMJ,2013,347:f4781.

3 Piura B, Medina L, Rabinovich A, et al. Thalidomide distinctly affected TNF- α , IL-6 and MMP secretion by an ovarian cancer cell line (SKOV-3) and primary ovarian cancer cells[J]. Eur Cytokine Netw,2013,24(3):122-129.

4 Garbers C, Scheller J. Interleukin-6 and interleukin-11: same same but different[J]. Biol Chem, 2013, 394(9): 1145-1161.

5 史卫红,高胜利,宋祥和,等. 白介素-18 对肝癌裸鼠皮下移植瘤浸润的 CD4+T 细胞子集的影响[J]. 中国生化药物杂志,2012,

33(5):578-582.

6 李兆国,范金鑫,帅训军,等.阿芬太尼对单肺通气患者肿瘤坏死因子-α与白细胞介素-6的影响[J].中国临床药理学杂志,2012,28(10):746-748.

7 Lippitz BE. Cytokine patterns in patients with cancer: a systematic review[J]. Lancet Oncol,2013,14(6):e218-e228.

8 孟杰,张静静.白细胞介素-6、白细胞介素-10、肿瘤坏死因子-α在不同时期胰腺炎的表达和临床意义[J].中国医药导报,2013,10(19):71-72.

9 Braconi C, Huang N, Patel T. MicroRNA-dependent regulation of DNA methyltransferase-1 and tumor suppressor gene expression by interleukin-6 in human malignant cholangiocytes[J]. Hepatology,2010,51(3):881-890.

10 Al-Bahrani R, Abuetabh Y, Zeitouni N, et al. Cholangiocarcinoma: risk factors, environmental influences and oncogenesis[J]. Ann Clin Lab Sci,2013,43(2):195-210.

11 Zheng T, Hong X, Wang J, et al. Gankyrin promotes tumor growth and metastasis through activation of IL-6/STAT3 signaling in human cholangiocarcinoma[J]. Hepatology,2014,59(3):935-946.

12 Tang S, Yuan Y, He Y, et al. Genetic polymorphism of interleukin-6 influences susceptibility to HBV-related hepatocellular carcinoma in a male Chinese Han population[J]. Hum Immunol, 2014,75(4):297-301.

13 武燕.宫颈癌患者Th1/Th2细胞因子表达水平的研究[J].肿瘤研究与临床,2006,18(5):310-312,316.

14 曾晓冬.宫颈癌危险因素病例对照研究[J].中国当代医药,2012,19(6):169-170.

15 马雅茹,徐冰,戴淑真,等.IL-4和IL-12在宫颈癌中的表达及对紫杉醇过敏的影响[J].现代生物医学进展,2011,11(8):1514-1517.

16 付改玲.吉西他滨联合放疗治疗老年中晚期宫颈癌的临床研究[J].中国生化药物杂志,2014,35(2):128-129,132.

[收稿日期 2015-07-22][本文编辑 黄晓红]

临床研究·论著

无创机械通气对慢性肺心病并发呼吸衰竭患者血浆BNP和ET-1水平的影响

陈雄, 陈翠霞, 张静, 叶建华, 林士军, 刘玉春

作者单位: 518000 广东,深圳市龙岗区人民法院呼吸内科(陈雄,张静,叶建华,林士军,刘玉春),体检科(陈翠霞)
作者简介: 陈雄(1979-),男,医学硕士,主治医师,研究方向:呼吸疾病的诊治。E-mail:20358155@qq.com
通讯作者: 林士军(1964-),男,大学本科,学士学位,副主任医师,研究方向:支气管哮喘及慢阻肺的防治。E-mail:linsj100@126.com

【摘要】 目的 探讨无创机械通气对慢性肺心病并发呼吸衰竭患者血浆脑钠肽(BNP)和内皮素(ET-1)水平的影响。**方法** 选取慢性肺心病并发呼吸衰竭患者80例,随机分为实验组和对照组各40例。对照组给予常规呼吸内科治疗,实验组在内科治疗基础上给予无创机械通气。对比观察72h后两组患者的临床疗效、血气分析及BNP和ET-1水平变化。**结果** 治疗72h后,实验组患者的临床症状、体征以及血气分析结果改善明显,其中SaO₂、PaO₂显著升高,PaCO₂、HR、RR显著下降($P<0.05$),且明显优于对照组($P<0.05$)。实验组患者血清BNP和ET-1水平随着患者缺氧症状以及二氧化碳潴留的改善而明显下降($P<0.01$ 或 $P<0.05$),且明显优于对照组($P<0.05$);BNP与ET-1水平呈正相关;BNP和ET-1与血氧分压呈负相关,与PaCO₂呈正相关。**结论** 无创机械通气改善慢性肺心病并发呼吸衰竭患者的通气功能的同时,还可降低血清BNP和ET-1的水平,提高临床疗效。

【关键词】 无创机械通气; 慢性肺心病; 呼吸衰竭; 脑利钠肽; 内皮素-1

【中图分类号】 R 563.8 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1674-3806(2015)10-0946-04
doi:10.3969/j.issn.1674-3806.2015.10.16

The effect of noninvasive mechanical ventilation on the levels of serum in patients with BNP and ET-1 chronic pulmonary heart disease complicated with respiratory failure CHEN Xiong, CHEN Cui-xia, ZHANG Jing, et al. Department of Respiratory Medicine, Longgang People's Hospital of Shenzhen, Guangdong 518000, China

【Abstract】 Objective To analyze the effect of noninvasive mechanical ventilation on the levels of serum