

# Th17 细胞在非小细胞肺癌患者中的变化及可能机制探讨

韦玉萍, 段敏超, 韩伟, 覃凤文, 宁正庆, 韦球

基金项目: 南宁市科学研究与技术开发计划项目(编号:20143161,20153088)

作者单位: 530001 广西,南宁市第八人民医院呼吸内科(韦玉萍,段敏超,韩伟,覃凤文,宁正庆); 530022 广西,南宁市第一人民医院呼吸内科(韦球)

作者简介: 韦玉萍(1976-),女,大学本科,医学学士,主治医师,研究方向:呼吸系统疾病的诊治。E-mail:15077122656@163.com

通讯作者: 段敏超(1971-),女,博士,主任医师,研究方向:呼吸系统疾病的诊治。E-mail:musiclady@sina.com

**[摘要]** **目的** 观察 Th17 细胞在非小细胞肺癌(NSCLC)患者外周血、癌灶组织及癌旁组织中的表达,探讨其临床意义及变化的可能机制。**方法** 选取 30 例 NSCLC 患者为肺癌组,20 名健康体检者为对照组,应用流式细胞术检测肺癌组外周血、癌灶组织、癌旁组织以及对照组外周血中 Th17(CD4<sup>+</sup>IL-17<sup>+</sup>)细胞的表达;免疫荧光定量 PCR 检测 RORc mRNA、IL-17 mRNA 水平;酶联免疫吸附法检测 NSCLC 患者血清、癌灶组织、癌旁组织以及对照组血清 IL-6、IL-17、IL-23 和转化生长因子  $\beta$ 1(TGF- $\beta$ 1)浓度。分析 NSCLC 患者 Th17 细胞与临床病理类型及相关细胞因子水平的关系。**结果** (1)NSCLC 组外周血 Th17 细胞比例为(3.81 ± 0.63)% ,显著高于对照组的(0.73 ± 0.22)% ( $P < 0.001$ )。NSCLC 组癌灶组织 Th17 细胞比例为(5.07 ± 0.28)% ,显著高于癌旁组织的(3.00 ± 0.25)% 及外周血(3.75 ± 0.70)% ( $P$  均  $< 0.001$ )。(2)NSCLC 组外周血 RORc mRNA 及 IL-17 mRNA 分别为(3.91 ± 0.48)和(68.91 ± 6.31),均显著高于对照组( $P$  均  $< 0.001$ )。NSCLC 组中癌灶组织 RORc mRNA 及 IL-17 mRNA 分别为(4.94 ± 0.31)和(101.61 ± 9.42),均显著高于癌旁组织[(2.35 ± 0.21)、(46.02 ± 4.11)]及外周血[(3.91 ± 0.48)、(68.34 ± 6.04)]( $P$  均  $< 0.001$ )。(3)Ⅲ + Ⅳ期 NSCLC 患者外周血中 Th17 细胞比例(4.26 ± 0.66)% 及 IL-17 浓度(430.71 ± 15.62) pg/ml 显著高于 I + II 期患者(3.47 ± 0.32)% 和(368.09 ± 20.74) pg/ml ( $P$  均  $< 0.05$ )。Ⅲ + Ⅳ期 NSCLC 患者癌旁组织中 Th17 细胞比例(3.22 ± 0.12)% 及 IL-17 水平(268.98 ± 19.67) pg/ml 分别高于 I + II 期患者(2.83 ± 0.18)% 和(227.39 ± 9.62) pg/ml ( $P < 0.05$ )。Ⅲ + Ⅳ期 NSCLC 患者癌灶组织中 Th17 细胞比例为(5.33 ± 0.48)% ,IL-17 浓度为(525.39 ± 17.14) pg/ml, I + II 期患者分别为(4.87 ± 0.16)% 和(462.50 ± 22.67) pg/ml,两者差异无统计学意义( $P$  均  $> 0.05$ )。(4)NSCLC 组患者血清 IL-6、IL-17、IL-23 和 TGF- $\beta$ 1 浓度显著高于对照组( $P$  均  $< 0.05$ )。NSCLC 组患者癌灶组织 IL-6、IL-17、IL-23 和 TGF- $\beta$ 1 水平显著高于癌旁组织及血清( $P < 0.001$ )。(5)NSCLC 患者外周血、癌灶组织 Th17 细胞比例与 IL-6、IL-23 和 TGF- $\beta$ 1 呈显著正相关关系(均  $P < 0.01$ )。**结论** NSCLC 患者外周血、癌旁组织及癌灶组织中存在 Th17 细胞高表达,随病情进展有可能伴随高侵袭性及明显的血行转移;Th17 细胞增高可能与 IL-6、IL-23 和 TGF- $\beta$ 1 的升高有关。

**[关键词]** 非小细胞肺癌; 辅助性 Th17 细胞; 白细胞介素类; 流式细胞术

**[中图分类号]** R 734.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1674-3806(2017)08-0730-05

doi:10.3969/j.issn.1674-3806.2017.08.05

**Dynamic changes of Th17 cells in patients with non-small-cell lung cancer and its mechanisms** WEI Yu-ping, DUAN Min-chao, HAN Wei, et al. Department of Respiratory Diseases, the Eighth People's Hospital of Nanning, Guangxi 530001, China

**[Abstract]** **Objective** To assess the variation of Th17 cells in peripheral blood, tumor and tumor-adjacent tissues in the patients with non-small-cell lung cancer(NSCLC) and to evaluate the correlation between their expressions and the clinicopathological features and to explore the probable mechanisms of its elevation. **Methods** Thirty NSCLC patients and twenty healthy controls were studied. All the samples of peripheral blood and tumor and tumor-adjacent tissues from 30 NSCLC patients were obtained. The proportions of Th17 cells in the peripheral blood, tumor

tissues and tumor-adjacent tissues were evaluated by flow cytometry. The serum concentrations of IL-6, IL-17, IL-23 and TGF-β1 were measured by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). The mRNA expressions of RORc and IL-17 in the peripheral blood, tumor tissues and tumor-adjacent tissues were examined by real-time quantitative polymerase chain reaction (QPCR). **Results** (1) The proportion of Th17 cells in the peripheral blood was significantly higher in the NSCLC patients (3.81 ± 0.63)% than that in the healthy controls (0.73 ± 0.22)% ( $P < 0.001$ ). The proportion of Th17 cells in the tumor tissues (5.07 ± 0.28)% was significantly higher than that in their matched peripheral blood (3.75 ± 0.70)% or tumor-adjacent tissues (3.00 ± 0.25)% ( $P < 0.001$ ). (2) The levels of RORc mRNA (3.91 ± 0.48) and IL-17 mRNA (68.91 ± 6.31) in the peripheral blood were significantly higher in the NSCLC patients than those in the healthy controls ( $P < 0.001$ ). The levels of RORc mRNA (4.94 ± 0.31) and IL-17 mRNA (101.61 ± 9.42) in the tumor tissues were significantly higher than those in their matched peripheral blood [(3.91 ± 0.48), (68.34 ± 6.04)] or tumor-adjacent tissues [(2.35 ± 0.21), (46.02 ± 4.11)] ( $P < 0.001$ ). (3) The proportion of Th17 cells and the levels of IL-17 in peripheral blood and in tumor-adjacent tissues in the NSCLC patients with stage III or IV were significantly higher than those in the patients with stage I or II ( $P < 0.05$ ). (4) The serum levels of IL-6, IL-17, IL-23 and TGF-β1 in the NSCLC patients were significantly higher than those in the healthy controls ( $P < 0.05$ ). The levels of IL-6, IL-17, IL-23 and TGF-β1 in the tumor tissues were significantly higher than those in their matched peripheral blood and tumor-adjacent tissues ( $P < 0.001$ ). (5) The number of Th17 cells was significantly correlated with the levels of IL-6, IL-23 and TGF-β1 in the peripheral blood and tumor tissues from the NSCLC patients ( $P < 0.01$ ). **Conclusion** There are up-regulated expressions of Th17 in the peripheral blood, tumor and tumor-adjacent tissues from the NSCLC patients. With the progression of the disease, high invasion and migration into the circulation may exist. The elevated levels of IL-6, IL-23 and TGF-β may be related to the above effects.

[**Key words**] Non-small-cell lung cancer(NSCLC); T helper 17 cells; Interleukins; Flow cytometry

肺癌是当今世界发病率及病死率较高的肿瘤,非小细胞肺癌(non-small-cell lung cancer, NSCLC) 占有肺癌中85%,其5年生存率不到15%<sup>[1]</sup>。证据显示 CD4<sup>+</sup>T 淋巴细胞在 NSCLC 的发病中起重要作用<sup>[2]</sup>,近来发现的 Th17 细胞即一种新型 CD4<sup>+</sup> 效应 T 细胞参与肿瘤的病理过程<sup>[3,4]</sup>,但 Th17 细胞在 NSCLC 患者癌灶组织、癌旁肺组织及外周血中的变化意义及机制如何仍不明确。在本研究中,我们比较分析了 Th17 细胞及相关细胞因子在 NSCLC 患者癌灶组织、癌旁组织及外周血中的表达情况,旨在探讨其与肺癌病理特征、临床分期的关系及变化的可能机制。

## 1 资料与方法

**1.1 研究对象及分组** (1) NSCLC 组:选取 2013-10~2015-04 南宁市第一人民医院呼吸内科和南宁市第八人民医院呼吸内科收治的 30 例 NSCLC 患者。其中男 17 例,女 13 例,平均年龄(54.4 ± 9.0)岁,吸烟者 14 例,不吸烟者 16 例。所有患者均经病理学确诊。组织学类型:鳞癌 10 例,腺癌 18 例,大细胞癌 2 例。临床分期(2009 年肺癌国际分期修订版)<sup>[5]</sup>: I 期 8 例, II 期 9 例, III 期 9 例, IV 期 4 例。所有患者均未接受过放疗、化疗及其他介入治疗。(2) 健康对照组:选取 20 名同期在南宁市第八人民

医院行健康体检者,其中男 12 名,女 8 名,平均年龄(53.0 ± 10.6)岁。吸烟者 9 例,不吸烟者 11 例。两组性别、年龄、吸烟史差异无统计学意义( $P$ 均 > 0.05)。见表 1。均未发现肺部或其他器官恶性肿瘤,并排除慢性阻塞性肺疾病、支气管哮喘、各种急慢性感染、自身免疫性疾病等。本研究分别经南宁市第一人民医院和南宁市第八人民医院临床伦理委员会审查批准,所有受试者均签署知情同意书。

表 1 两组一般资料比较 [ $n, (\bar{x} \pm s)$ ]

| 组别         | 例数 | 性别    |    | 年龄(岁)       | 吸烟    | 不吸烟 |
|------------|----|-------|----|-------------|-------|-----|
|            |    | 男     | 女  |             |       |     |
| NSCLC 组    | 30 | 17    | 13 | 53.4 ± 7.86 | 14    | 16  |
| 对照组        | 20 | 12    | 8  | 54.4 ± 6.98 | 11    | 9   |
| $\chi^2/t$ | -  | 0.055 |    | 0.028       | 0.333 |     |
| $P$        | -  | 1.000 |    | 0.868       | 0.773 |     |

**1.2 主要材料及试剂** 小鼠抗人单克隆抗体包括藻红蛋白-花青素(PE-Cy5.5)标记的 CD4、藻红蛋白荧光素(PE)标记的 IL-17,及同型对照、细胞固定和破膜缓冲液(Fixation/Permeabilization Kit)、离子霉素(ionomycin)、乙酸肉豆蔻佛波醇(phorbolmyristic acetate, PMA)及莫能霉素(Monensin)等,这些抗体均购自美国 BD Pharmingen 公司。IL-6、IL-17、IL-23

及 TGF- $\beta$ 1 的酶联免疫吸附(ELISA)检测试剂盒购自美国 RayBiotech 公司。I 型脱氧核糖核酸酶(DNase I)、IV 型胶原酶购自美国 Sigma-Aldrich 公司。人淋巴细胞分离液购自北京索莱宝生物科技公司。胎牛血清购自美国 Gibco 公司。FCSCalibur 四色荧光流式细胞仪购自美国 BD 公司。

**1.3 标本采集与处理** 采集所有研究对象清晨空腹肘静脉血至干燥空白管 5 ml 及肝素抗凝管 3 ml, 用纤支镜收集 NSCLC 患者的癌灶组织及癌旁组织(距离癌灶组织约 3 cm 处)标本。空白管静置待充分凝固 30 min, 2 000 rpm 离心 20 min, 收集上清液,  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  冰箱冻存备测, 待行 ELISA 及 RT-PCR 检测。肝素抗凝管中的静脉血与 PBS 溶液充分混匀后, 加入 6 ml 人淋巴细胞分离液, 室温  $20\text{ }^{\circ}\text{C}$  2 000 rpm 离心 20 min, 得到外周血单个核细胞(PBMC), 用于流式细胞术检测。无菌剪刀取癌灶组织或癌旁组织约各 800 mg, 其中 500 mg 采用机械分离加酶消化联合聚蔗糖泛影钠不连续密度梯度离心法制备肺实质单个核细胞悬液用于流式细胞术检测。另 200 mg  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  冰箱冻存备行 RT-PCR 检测。剩余的 100 mg 研磨后肺组织匀浆  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  冰箱保存备用, 待行 ELISA 检测。

**1.4 流式细胞检测** 显微镜下细胞计数, 将用于流式细胞检测的外周血单个核细胞或肺实质单个核细胞分别以含 10% 胎牛血清(FBS)的 RPMI-1640 培养基重悬为  $3 \times 10^9/\text{L}$ , 在 24 孔板上每孔加入 2 ml 细胞悬液, 并加入乙酸肉豆蔻佛波醇  $25\text{ }\mu\text{g}/\text{L}$ 、离子霉素  $1\text{ mg}/\text{L}$ 、莫能霉素  $4\text{ }\mu\text{l}$ 、链霉素  $1\text{ kU}/\text{L}$  和青霉素  $1\text{ kU}/\text{L}$ , 在无菌细胞培养条件下( $5\%\text{ CO}_2$ ,  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 湿度 100%) 孵育培养 5 h 获取细胞, 以冰 PBS 缓冲液(pH 7.2)洗涤 2 次, 最后以 PBS 重悬细胞备用。经孵育后的细胞加样至检测管内,  $10^6/100\text{ }\mu\text{l}$  反应体系, 加入 PE-Cy5.5 荧光标记的 CD4 抗体,  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$  避光孵育 30 min, 用含 1% BSA 的冷 PBS 洗涤 1 次。固定/破膜缓冲液进行膜透化处理 20 min 后, 加入藻红蛋白荧光素(PE)标记的 IL-17 抗体,  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$  避光孵育 25 min, 用含 1% BSA 的冷 PBS 洗涤 2 次, 以含 1% 多聚甲醛的 PBS 避光固定。以上操作均严格按照说明书进行, 各试管均设同型对照 IgG, 样本用 BD 公司的 FCSCalibur 四色荧光流式细胞仪检测, 原始数据采用 FCS Express V3 流式分析软件进行分析。

**1.5 荧光定量 PCR 检测** 取 100 mg 肺组织, 提取总 RNA 进行逆转录制备 cDNA。用胶回收法纯化 DNA 片段作为标准品, 进行荧光定量 PCR 检测,  $\beta$ -

肌动蛋白为内参照。 $\beta$ -肌动蛋白: 上游引物 5'-ACA-CTGTGCCCATCTACG-3, 下游引物 5'-TGTCACGCAC-GATTTCC-3, 扩增产物 200 bp, 退火温度  $57.5\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、30 s, 共 40 个循环; RORc: 上游引物 5'-GCCAGAATGAC-CAGATTGTGCTT-3', 下游引物 5-AAGGCACTTAGG-GAGTGGGAGA-3, 扩增产物 79 bp, 退火温度  $58\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、30 s, 共 40 个循环, L-17: 上游引物 5'-GGAATCTC-CACCCGAATGAG-3, 下游引物 5'-ACACCAGTATCT-TCTCCAGGC-3', 扩增产物 17bp, 退火温度  $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、34 s, 共 45 个循环。采用标准曲线法计算 mRNA 相对表达量, 其比值为校正后值, 经均一化处理后的相对量。各样本均设 3 个复孔。

**1.6 ELISA 法检测** 用 ELISA 法检测外周血上清液和肺组织匀浆上清液中 IL-6、IL-17、IL-23 和 TGF- $\beta$ 1 的浓度。按照说明书步骤加样, 根据标准品吸光度(A)值, 求出标准曲线回归方程, 将样品 A 值代入标准曲线并乘以相应的稀释倍数, 计算出 IL-6、IL-17、IL-23 及 TGF- $\beta$ 1 的浓度。

**1.7 统计学方法** 应用 SPSS19.0 统计软件进行数据处理, 计量资料首先进行正态性检验, 如符合正态分布以均数  $\pm$  标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示, 两组间比较采用  $t$  检验, 多组间比较采用单因素方差分析(One-way ANOVA), 定性资料采用  $\chi^2$  检验, 相关性检验采用 Pearson 相关分析,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 NSCLC 组外周血、癌灶组织及癌旁组织中 Th17 细胞比例的变化比较** NSCLC 组外周血 Th17 细胞比例为  $(3.81 \pm 0.63)\%$ , 显著高于对照组的  $(0.73 \pm 0.22)\%$  ( $t = 24.800, P < 0.001$ )。NSCLC 组癌灶组织 Th17 细胞比例为  $(5.07 \pm 0.28)\%$ , 显著高于癌旁组织的  $(3.00 \pm 0.25)\%$  及外周血的  $(3.75 \pm 0.70)\%$  ( $F = 184.043, P < 0.001$ )。

**2.2 NSCLC 组外周血、癌灶组织及癌旁肺组织中 RORc mRNA 的表达情况比较** NSCLC 组外周血 RORc mRNA  $(3.91 \pm 0.48)$  显著高于对照组  $(2.39 \pm 0.18)$  ( $t = 15.833, P < 0.001$ )。NSCLC 组中癌灶组织 RORc mRNA  $(4.94 \pm 0.31)$  亦显著高于癌旁组织  $(2.35 \pm 0.21)$  和外周血  $(3.91 \pm 0.48)$  ( $F = 415.162, P < 0.001$ )。

**2.3 NSCLC 组外周血、癌灶组织及癌旁肺组织中 IL-17 mRNA 的表达情况比较** NSCLC 组外周血 IL-17 mRNA  $(68.91 \pm 6.31)$  显著高于对照组  $(6.44 \pm 0.74)$  ( $t = 194.20, P < 0.001$ )。NSCLC 组中癌灶组织 IL-17 mRNA  $(101.61 \pm 9.42)$  亦显著高于癌旁组织  $(46.02 \pm 4.11)$  和外周血  $(68.34 \pm 6.04)$  ( $F = 484.020, P <$

0.001)。

### 2.4 NSCLC不同病理类型患者Th17细胞比例及IL-17水平的比较

表2 NSCLC不同病理类型患者Th17细胞比例及IL-17水平的比较( $\bar{x} \pm s$ )

| 组别       | 例数 | Th17细胞比例(%) |             |             | IL-17(pg/ml)   |                |                |
|----------|----|-------------|-------------|-------------|----------------|----------------|----------------|
|          |    | 外周血         | 癌灶组织        | 癌旁组织        | 外周血            | 癌灶组织           | 癌旁组织           |
| 鳞癌组      | 10 | 3.93 ± 0.45 | 5.05 ± 0.36 | 3.03 ± 0.25 | 402.53 ± 31.53 | 501.17 ± 55.35 | 257.28 ± 30.47 |
| 腺癌组      | 18 | 3.80 ± 0.66 | 5.08 ± 0.25 | 3.01 ± 0.24 | 395.87 ± 38.66 | 485.19 ± 25.40 | 238.48 ± 22.16 |
| 大细胞癌组    | 2  | 3.70 ± 0.86 | 5.03 ± 0.55 | 3.04 ± 0.54 | 396.12 ± 39.96 | 480.19 ± 27.40 | 242.68 ± 25.16 |
| <i>F</i> | -  | 0.011       | 0.015       | 0.021       | 0.176          | 0.153          | 0.145          |
| <i>P</i> | -  | 0.335       | 0.416       | 0.367       | 0.378          | 0.498          | 0.611          |

### 2.5 NSCLC不同临床分期患者Th17细胞比例及IL-17水平的比较

表3 NSCLC不同临床分期患者Th17细胞比例及IL-17水平的比较( $\bar{x} \pm s$ )

| 组别        | 例数 | Th17细胞比例(%) |             |             | IL-17(pg/ml)   |                |                |
|-----------|----|-------------|-------------|-------------|----------------|----------------|----------------|
|           |    | 外周血         | 癌灶组织        | 癌旁组织        | 外周血            | 癌灶组织           | 癌旁组织           |
| I + II期   | 17 | 3.47 ± 0.32 | 4.87 ± 0.16 | 2.83 ± 0.18 | 368.09 ± 20.74 | 462.50 ± 22.67 | 227.39 ± 9.62  |
| III + IV期 | 13 | 4.26 ± 0.66 | 5.33 ± 0.48 | 3.22 ± 0.12 | 430.71 ± 15.62 | 525.39 ± 17.14 | 268.98 ± 19.67 |
| <i>t</i>  | -  | 10.367      | 2.564       | 11.245      | 14.764         | 15.765         | 13.561         |
| <i>P</i>  | -  | 0.024       | 0.342       | 0.021       | 0.011          | 0.090          | 0.015          |

### 2.6 NSCLC组血清、癌灶组织及癌旁组织IL-6、IL-17、IL-23和TGF-β1的浓度比较

表4 NSCLC组及对照组外周血IL-6、IL-17、IL-23和TGF-β1的浓度比较( $\bar{x} \pm s$ )

| 组别       | 例数 | IL-6(pg/ml)    | IL-17(pg/ml)   | IL-23(pg/ml)   | TGF-β1(pg/ml)  |
|----------|----|----------------|----------------|----------------|----------------|
| NSCLC组   | 30 | 122.58 ± 16.34 | 395.23 ± 36.53 | 383.11 ± 44.15 | 385.34 ± 41.35 |
| 对照组      | 20 | 42.29 ± 6.27   | 144.70 ± 19.35 | 79.61 ± 18.83  | 125.23 ± 23.54 |
| <i>t</i> | -  | 20.913         | 31.513         | 19.404         | 28.636         |
| <i>P</i> | -  | 0.000          | 0.000          | 0.000          | 0.000          |

### 2.7 NSCLC组中Th17细胞比例与相关细胞因子

| 组别       | IL-6(pg/ml)    | IL-17(pg/ml)   | IL-23(pg/ml)   | TGF-β1(pg/ml)  |
|----------|----------------|----------------|----------------|----------------|
| 癌灶组织     | 241.00 ± 36.73 | 489.75 ± 37.54 | 407.11 ± 15.22 | 125.59 ± 23.51 |
| 癌旁组织     | 77.08 ± 14.42  | 245.41 ± 25.60 | 515.54 ± 40.91 | 246.46 ± 33.66 |
| <i>F</i> | 353.402        | 401.875        | 104.500        | 373.069        |
| <i>P</i> | 0.000          | 0.000          | 0.000          | 0.000          |

和癌旁组织中Th17细胞比例及IL-17水平与组织学类型差异均无统计学意义( $P$ 均 $>0.05$ )。见表2。

I + II期患者Th17细胞比例及IL-17浓度,而III + IV期NSCLC患者癌灶组织中Th17细胞比例及IL-17浓度较I + II期患者无显著提高。见表3。

水平的相关性 NSCLC患者外周血Th17细胞比例与IL-6、IL-23和TGF-β1呈正相关关系( $r$ 值分别为0.729、0.907、0.934,  $P$ 均 $<0.001$ ), NSCLC组癌灶组织中Th17细胞比例亦与IL-6、IL-23和TGF-β1呈正相关关系( $r$ 值分别为0.824、0.900、0.553,  $P$ 均 $<0.01$ ),然而,NSCLC患者癌旁组织中Th17细胞比例与IL-6、IL-23和TGF-β1相关不明显( $r$ 值分别为0.219、0.167、0.218,  $P$ 均 $>0.05$ )。

## 3 讨论

**3.1 肺癌是T细胞介导的炎症性疾病**<sup>[6]</sup>,在多种炎症性疾病及肿瘤疾病中,以分泌IL-17A/F、IL-21及IL-22等为特征的Th17细胞参与其发病过程<sup>[7-9]</sup>。迄今为止,Th17在NSCLC中的作用仍具有争议性。一方面,肿瘤细胞株中的IL-17过度表达能促进血管形成及肿瘤生长<sup>[10]</sup>,给予肺癌小鼠模型中注射IL-17A中和抗体阻断IL-17A可以抑制肿瘤转移<sup>[11]</sup>。另一方面,在敲除IL-17基因的肺癌小鼠模型中却发现转移更明显,其发生机制可能与肿瘤中浸润的NK和T细胞分泌IFN-g减少有关<sup>[12,13]</sup>。本研究显示,Th17细胞在NSCLC患者外周血中的表达明显高于健康对照组,NSCLC患者癌灶组织及

癌旁组织也存在明显增高 Th17 细胞数量及活性,以癌灶组织增高尤为显著,进一步提示 Th17 细胞的高表达与 NSCLC 的发生发展有关,并有可能伴随高侵袭性及明显的血行转移。

**3.2** NSCLC 在肺癌中占有很高比例,包括鳞癌、腺癌、大细胞癌等类型,其中腺癌所占的比例在近年有增高的趋势<sup>[5]</sup>。Zhao 等<sup>[3]</sup>研究发现 NSCLC 患者外周血 Th17 细胞较正常对照组减低,其中鳞癌患者外周血中 Th17 细胞表达高于腺癌但无统计学意义,且随着临床分期的进展而逐渐降低。然而,本研究结果显示,NSCLC 患者外周静脉血、癌灶组织及癌旁组织中 Th17 细胞比例及 IL-17 水平均增高且与组织学类型均无相关性;Ⅲ + Ⅳ期 NSCLC 患者外周血和癌旁组织中 Th17 细胞比例及 IL-17 水平显著高于 I + Ⅱ期,然而,Ⅲ + Ⅳ期 NSCLC 患者癌灶组织中 Th17 细胞比例及 IL-17 水平较 I + Ⅱ期无显著提高。提示慢性炎症刺激下 Th17 细胞的不断活化与细胞癌变的早期事件有关,且随着病情进展,临床分期越晚, Th17 细胞向周围浸润及血行转移越明显。然而,这一变化尚不能反映病理组织学类型,其与病理类型的关系值得进一步研究。

**3.3** 迄今为止,肺癌炎症局部 Th17 细胞产生及调节的分子机制仍不清楚。我们推测局部转化有可能是导致肺癌患者体内 Th17 细胞比例增高的原因之一。研究表明活化的 CD4<sup>+</sup> T 细胞在 IL-6 和 TGF-β 存在的条件下,通过信号转导和转录激活因子 3 信号通道转导,产生 IL-17 和 IL-21,上调维甲酸相关孤独受体分化成 Th17,继而分泌大量 IL-17,同时在 IL-23、IL-1β 等的刺激下维持增殖状态<sup>[8,14]</sup>。本研究显示 NSCLC 患者血清、癌灶组织及癌旁组织中 IL-6、IL-17、IL-23 和 TGF-β1 浓度较正常对照组显著增高,以癌灶组织增高尤为显著。且 NSCLC 患者外周血及癌灶组织中 Th17 细胞比例与上述细胞因子呈显著正相关。提示外周血及癌灶组织中这些增高的细胞因子有利于 Th17 细胞的分化扩增,随着病情进展,癌灶组织中分化扩增的 Th17 细胞向外周浸润是导致癌旁组织增高的原因之一。

综上所述,本研究的结果发现慢性炎症刺激下 Th17 细胞的不断活化与细胞癌变的早期事件有关,且随着病情进展,临床分期越晚, Th17 细胞向周围浸润及血行转移越明显。外周血及癌灶组织中这些

增高的细胞因子有利于 Th17 细胞的分化扩增,此外,癌灶组织中分化扩增的 Th17 细胞有可能向外周浸润导致癌旁组织增高,这一研究结果还需要更多的大样本的前瞻性研究加以证实。

#### 参考文献

- 1 彭国庆,洗 磊. 广西居民非小细胞肺癌患者 C 型行为特征分析[J]. 中国临床新医学,2015,8(2):103-105.
- 2 Imahayashi S, So T, Sugaya M, et al. Establishment of an immortalized T-cell line from lung cancer tissue: phenotypic and functional analyses[J]. Int J Clin Oncol,2002,7(1):38-44.
- 3 Zhao L, Yang J, Wang HP, et al. Imbalance in the Th17/Treg and cytokine environment in peripheral blood of patients with adenocarcinoma and squamous cell carcinoma[J]. Med Oncol,2013,30(1):461.
- 4 Ye ZJ, Zhou Q, Gu YY, et al. Generation and differentiation of IL-17-producing CD4<sup>+</sup> T cells in malignant pleural effusion[J]. J Immunol,2010,185(10):6348-6354.
- 5 Alberg AJ, Brock MV, Ford JG, et al. Epidemiology of lung cancer: Diagnosis and management of lung cancer, 3rd ed: American College of Chest Physicians evidence-based clinical practice guidelines[J]. Chest,2013,143(5 Suppl):e1S-29S.
- 6 段敏超,钟小宁. 慢性阻塞性肺疾病与肺癌的同源性表现及关联发病机制[J]. 中华结核和呼吸杂志,2010,33(12):921-924.
- 7 Singh RP, Hasan S, Sharma S, et al. Th17 cells in inflammation and autoimmunity[J]. Autoimmun Rev,2014,13(12):1174-1181.
- 8 Korn T, Bettelli E, Oukka M, et al. IL-17 and Th17 Cells[J]. Annu Rev Immunol,2009,27:485-517.
- 9 Wang X, Wang L, Mo Q, et al. Changes of Th17/Treg cell and related cytokines in pancreatic cancer patients[J]. Int J Clin Exp Pathol,2015,8(5):5702-5708.
- 10 Numasaki M, Watanabe M, Suzuki T, et al. IL-17 enhances the net angiogenic activity and in vivo growth of human non-small cell lung cancer in SCID mice through promoting CXCR-2-dependent angiogenesis[J]. J Immunol,2005,175(9):6177-6189.
- 11 Carmi Y, Rinott G, Dotan S, et al. Microenvironment-derived IL-1 and IL-17 interact in the control of lung metastasis[J]. J Immunol,2011,186(6):3462-3471.
- 12 Kryczek I, Wei S, Szeliga W, et al. Endogenous IL-17 contributes to reduced tumor growth and metastasis[J]. Blood,2009,114(2):357-359.
- 13 Martin-Orozco N, Muranski P, Chung Y, et al. T helper 17 cells promote cytotoxic T cell activation in tumor immunity[J]. Immunity,2009,31(5):787-798.
- 14 Zúñiga LA, Jain R, Haines C, et al. Th17 cell development: from the cradle to the grave[J]. Immunol Rev,2013,252(1):78-88.

[收稿日期 2016-11-11][本文编辑 韦 颖]