

胃癌患者外周血 Th17 细胞、血清 IL-17、IL-6 水平检测及临床意义

牟晓映^{1,2},高美华¹,韩春华³

1.青岛大学医学部基础医学院免疫学系,山东 青岛 266071;

2.青岛阜外心血管病医院检验科,山东 青岛 266034;

3.青岛大学附属医院检验科,山东 青岛 266003

【摘要】目的 探讨胃癌患者外周血中 Th17 细胞与血清中白介素 17 (IL-17)、白介素 6 (IL-6) 水平的变化及其临床意义。**方法** 选取 2017 年 1~12 月青岛大学附属医院收治的 40 例胃癌患者为观察组,同时选取同期来我院体检的健康者 40 例作为对照组。采用流式细胞仪检测 Th17 细胞频率,采用酶联免疫吸附试验(ELISA 试验)检测细胞因子 IL-17、IL-6 的血清浓度。分析 Th17 细胞频率表达和血清 IL-17、IL-6 水平与胃癌患者临床特征的关系。**结果** 观察组患者的 Th17 细胞频率为 $(1.32 \pm 0.23)\%$, 明显高于对照组的 $(0.79 \pm 0.15)\%$, 血清中 IL-17 和 IL-6 浓度分别为 (11.55 ± 2.45) pg/mL、 (199.45 ± 24.42) pg/mL, 明显高于对照组的 (8.68 ± 1.69) pg/mL、 (80.36 ± 14.86) pg/mL, 差异均具有统计学意义($P < 0.05$)。胃癌 TNM 分期不同的患者中, III+IV 期患者外周血中 Th17 细胞频率、IL-17、IL-6 的血清浓度分别为 $(1.42 \pm 0.26)\%$ 、 (13.43 ± 2.17) pg/mL、 (217.32 ± 20.66) pg/mL, 明显高于 I + II 期患者的 $(1.26 \pm 0.20)\%$ 、 (10.78 ± 2.04) pg/mL、 (189.12 ± 19.96) pg/mL, 分化程度中低分化患者外周血中 Th17 细胞频率、IL-17、IL-6 的血清浓度分别为 $(1.43 \pm 0.24)\%$ 、 (13.08 ± 1.99) pg/mL、 (210.91 ± 23.72) pg/mL, 明显高于中高分化患者的 $(1.24 \pm 0.19)\%$ 、 (10.17 ± 1.96) pg/mL、 (186.06 ± 17.12) pg/mL, 有无淋巴结转移患者中有淋巴结转移患者的外周血中 Th17 细胞频率、IL-17、IL-6 的血清浓度分别为 $(1.45 \pm 0.25)\%$ 、 (14.38 ± 1.32) pg/mL、 (223.68 ± 16.06) pg/mL, 明显高于无淋巴结转移患者的 $(1.25 \pm 0.19)\%$ 、 (10.52 ± 1.80) pg/mL、 (187.56 ± 17.23) pg/mL, 差异均有统计学意义($P < 0.05$)。**结论** 外周血中 Th17 细胞频率、IL-17、IL-6 水平在胃癌患者中的表达明显增高, Th17 细胞及其细胞因子可能与胃癌密切相关。

【关键词】 胃癌;Th17 细胞;白介素-17;白介素-6;细胞因子;炎症;肿瘤

【中图分类号】 R735.2 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1003—6350(2020)24—3155—04

Level and clinical significance of Th17 cells and cytokines IL-17 and IL-6 in peripheral blood of patients with gastric cancer. MOU Xiao-ying^{1,2}, GAO Mei-hua¹, HAN Chun-hua³. 1. Department of Immunology, School of Basic Medicine, Qingdao University, Qingdao 266071, Shandong, CHINA; 2. Department of Clinical Laboratory, Qingdao Fuwai Cardiovascular Hospital, Qingdao 266034, Shandong, CHINA; 3. Department of Clinical Lboratory, the Affiliated Hospital of Qingdao University, Qingdao 266003, Shandong, CHINA

【Abstract】 Objective To investigate the changes and clinical significance of Th17 cells in peripheral blood and IL-17, IL-6 in serum of patients with gastric cancer. **Methods** A total of 40 patients with gastric cancer, who ad-

通讯作者:高美华,E-mail:meihuagao66@163.com

- [6] 苏庆杰,陈琳,李鹏翔,等.海南省急性脑梗死患者溶栓治疗现状调查及其原因分析[J].中华老年心脑血管病杂志,2015,17(10): 1058-1060.
- [7] CHANG MC, DO KH, CHUN MH. Prediction of lower limb motor outcomes based on transcranial magnetic stimulation findings in patients with an infarct of the anterior cerebral artery [J]. Somatosens Mot Res, 2015, 32(4): 249-253.
- [8] 梅文丽,刘慧勤,张杰文,等.磁敏感加权成像对急性脑梗死缺血半暗带的预测价值[J].中华实用诊断与治疗杂志,2017,31(1): 57-61.
- [9] 涂燕玲,郭岑,宋斐斐,等.亚低温对糖尿病合并脑梗死大鼠缺血半暗带凋亡的作用及机制[J].中国临床神经科学,2019,27(2): 144-154.
- [10] ZIVANOVIC Z, GUBI M, VLAHOVIC D, et al. Patients with acute lacunar infarction have benefit from intravenous thrombolysis [J]. J Stroke Cerebrovasc Dis, 2019, 28(2): 435-440.
- [11] KARGIOTIS O, PSYCHOGIOS K, SAFOURIS A, et al. Intravenous thrombolysis for acute ischemic stroke in fabry disease [J]. Neurologist, 2019, 24(5): 146-149.
- [12] DU XL, KONG LS, MENG QY, et al. Safety and efficacy of low dose of urokinase for catheter-directed thrombolysis of deep venous thrombosis [J]. Chin Med J (Engl), 2015, 128(13): 1787-1792.
- [13] 鲍宇,李国忠.阿替普酶与尿激酶治疗急性脑梗死疗效的比较研究[J].中风与神经疾病杂志,2016,33(7): 633-635.
- [14] 赵晶,赵辉,孔文基,等.阿替普酶联合丁苯酞治疗急性缺血性脑卒中的临床观察[J].中国药房,2016,27(35): 4962-4965.
- [15] 崔颖,佟旭,王伊龙,等.急性缺血性卒中患者阿替普酶静脉溶栓后发生早期神经功能恶化的危险因素分析[J].中华神经科杂志,2016,49(12): 925-931.
- [16] 李晓慧,皇甫卫忠,郭海东,等.TCD 联合 CTA 及 CT 灌注成像在评估颈动脉狭窄或闭塞患者脑血流动力学变化中的价值分析[J].中国 CT 和 MRI 杂志,2016,14(12): 16-18, 22.
- [17] 刘利宁,李毓新,吉智,等.急性脑梗死患者 CISS 分型与血同型半胱氨酸、超敏 C 反应蛋白的相关性研究[J].海南医学,2016,27(11): 1747-1749.
- [18] 张作念,王志晔,顾伟,等.急性脑梗死患者血清炎症因子与颈动脉粥样硬化斑块性质关系的临床研究[J].重庆医学,2016,45(10): 1375-1377.

(收稿日期:2020-06-04)

mitted to the Affiliated Hospital of Qingdao University from January 2017 to December 2017, were selected as the observation group. At the same time, 40 healthy people for physical examination were chosen as the control. Th17 cell frequency was detected by flow cytometry, and serum concentrations of cytokines IL-17 and IL-6 were detected by enzyme linked immunosorbent assay (ELISA). The relationship between Th17 cell frequency expression, serum IL-17, IL-6 levels and clinical features of gastric cancer patients was analyzed. **Results** The frequency of Th17 cells in the observation group patients was $(1.32\pm0.23)\%$, which was significantly higher than $(0.79\pm0.15)\%$ in the control group. The serum concentrations of IL-17 and IL-6 in the observation group were (11.55 ± 2.45) pg/mL, (199.45 ± 24.42) pg/mL, respectively, which were significantly higher than corresponding (8.68 ± 1.69) pg/mL and (80.36 ± 14.86) pg/mL in the control group ($P<0.05$). The frequency of Th17 cells, serum concentrations of IL-17 and IL-6 in the peripheral blood of patients with stage III + IV were $(1.42\pm0.26)\%$, (13.43 ± 2.17) pg/mL, (217.32 ± 20.66) pg/mL, respectively, which were higher than corresponding $(1.26\pm0.20)\%$, (10.78 ± 2.04) pg/mL, (189.12 ± 19.96) pg/mL in patients with stage I + II (all $P<0.05$). The frequency of Th17 cells, serum concentrations of IL-17, and IL-6 in patients with moderate to moderately differentiated patients were $(1.43\pm0.24)\%$, (13.08 ± 1.99) pg/mL, and (210.91 ± 23.72) pg/mL, respectively, which were significantly higher than corresponding $(1.24\pm0.19)\%$, (10.17 ± 1.96) pg/mL, and (186.06 ± 17.12) pg/mL in moderately and highly differentiated patients (all $P<0.05$). The frequency of Th17 cells, serum concentrations of IL-17, and IL-6 in patients with lymph node metastasis were $(1.45\pm0.25)\%$, (14.38 ± 1.32) pg/mL, (223.68 ± 16.06) pg/mL, respectively, which were significantly higher than corresponding $(1.25\pm0.19)\%$, (10.52 ± 1.80) pg/mL, and (187.56 ± 17.23) pg/mL in patients without lymph node metastasis (all $P<0.05$). **Conclusion** The expression of Th17 cell frequency, IL-17, and IL-6 in peripheral blood of patients with gastric cancer is significantly increased, Th17 cells and their cytokines may be closely related to gastric cancer.

[Key words] Gastric cancer; Th17 cells; Interleukin-17 (IL-17); Interleukin-6 (IL-6); Cytokine; Inflammation; Tumor

胃癌在我国是最常见的消化道恶性肿瘤之一，死亡率较高。据统计，2015年我国胃癌新发生病例超过67万例，死亡病例接近50万例^[1]。中国每年新发胃癌病例占全球新发病例的40%以上^[2]，给人们生命健康带来极大危害。近几年研究发现胃癌与炎症密切相关^[3]。炎症细胞因子通过炎症介质的释放诱发连续的炎症反应，激活一系列免疫反应促进癌症细胞的生长、侵袭和转移，促进肿瘤血管生成，抑制免疫系统^[4]。Th17细胞作为新型的效应T细胞，被视为炎症反应重要调节因子，Th17细胞及其特征性细胞因子白介素17(IL-17)是免疫系统的重要组成部分，参与多种炎性疾病、自身免疫疾病、肿瘤的发展^[5-7]。白介素6(IL-6)作为免疫调节性细胞因子，既参与炎症反应，又参与Th17细胞的增殖和分化。本文以胃癌患者为研究对象，检测其外周血Th17细胞与血清IL-17、IL-6水平，并分析其在胃癌中的作用。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取青岛大学附属医院2017年1月至2017年12月收治的40例胃癌患者为观察组，同时选取同期来院体检的健康者40例作为对照组。所有患者手术前均未接受过放疗、化疗，且无传染病及自身免疫性疾病史，未使用过免疫抑制剂，所有患者术后均经病理诊断证实为胃癌。观察组患者中男性21例，女性19例；年龄46~76岁，中位年龄63岁；所有患者均按照国际抗癌协会临床TNM分期标准进行分期，其中I+II期25例，III+IV期15例；低分化22例，

中高分化18例；有淋巴结转移13例，无淋巴结转移27例。对照组中男性23例，女性17例；年龄32~77岁，中位年龄51岁。

1.2 标本采集 观察组于手术前一天清晨、对照组于体检当日清晨空腹抽取静脉血3 mL置于肝素抗凝管中，立即轻轻颠倒混匀5~10次，用于Th17细胞频率检测；3 mL血液置于无添加剂生化管中，待凝固后离心分离血清，分装，-80℃冰箱保存，检测IL-17、IL-6浓度。

1.3 检测仪器及试剂 流式细胞仪购自美国BD公司，人辅助性Th17细胞检测试剂盒、抗人CD4-FITC抗体、抗人PE-抗IL-17、同型对照PE-IgG1购自美国eBio-science公司，MK3酶标仪购自美国Thermo公司，血清IL-17、IL-6 ELISA试剂盒购自武汉基因美公司。

1.4 方法

1.4.1 外周血液中Th17细胞频率检测 取已经编号的各组研究对象空腹留取的肝素抗凝静脉血3 mL，加入红细胞裂解液1 mL，室温条件下避光孵育10 min。1 000 r/min离心5 min，弃上清，滴加1 mL磷酸盐缓冲液(PBS)重悬细胞。向各试管中加入佛波酯(PMA)50 μg/L、离子霉素(Ion)1 μg/L、莫能霉素1 μL/mL，并充分混匀置于37℃,5% CO₂培养箱中培养4 h。吸取试管中样本至EP管内，2 500 r/min离心6 min，弃上清，PBS冲洗。各测定管分别加入抗人CD4-FITC抗体，同型对照管加入等量的同型对照抗体PE-IgG1，室温避光30 min，再用PBS洗2次，每管加入300 μL固定液，4℃避光孵育15 min。离心，弃上清。加入破膜

液,3 000 r/min 离心,弃上清,PBS洗2次,各实验组分别加入20 μL PE-抗IL-17,对照组加入10 μL同型对照PE-IgG1,室温避光30 min。PBS洗2次,1 000 r/min离心5 min,弃上清,PBS重悬。2 h内上机检测。

1.4.2 血清IL-17、IL-6检测 取待测标本血清,按照试剂盒说明书进行操作,本试剂盒采用双抗体夹心法进行检测,使用MK3酶标仪在450 nm下测定吸光度(OD值),通过设定标准曲线来计算样品中IL-17、IL-6浓度。

1.5 统计学方法 应用SPSS17.0软件进行数据统计分析,计量资料符合正态分布,以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,两两比较采用t检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组受检者的Th17细胞频率表达和血清

IL-17、IL-6水平比较 观察组患者的Th17细胞频率、血清IL-17和IL-6水平明显高于对照组,差异均有统计学意义($P < 0.05$),见表1。

表1 两组受检者的Th17细胞频率表达和血清IL-17、IL-6水平比较($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	Th17 (%)	IL-17 (pg/mL)	IL-6 (pg/mL)
观察组	40	1.32±0.23	11.55±2.45	199.45±24.42
对照组	40	0.79±0.15	8.68±1.69	80.36±14.86
<i>t</i> 值		11.51	6.45	26.08
<i>P</i> 值		<0.05	<0.05	<0.05

2.2 观察组患者Th17细胞频率表达、血清IL-17、IL-6水平与临床特征的关系 观察组患者Th17细胞频率表达、血清IL-17、IL-6水平与临床分期、肿瘤分化程度、淋巴结转移有关($P < 0.05$),与性别、年龄无关($P > 0.05$),见表2。

表2 Th17细胞的频率表达和血清中IL-17、IL-6的水平与胃癌患者临床特征的关系

参数	例数	Th17 (%)	<i>t</i> 值	<i>P</i> 值	IL-17 (pg/mL)	<i>t</i> 值	<i>P</i> 值	IL-6 (pg/mL)	<i>t</i> 值	<i>P</i> 值
性别			1.221	0.673		1.369	0.179		0.812	0.623
男	21	1.30±0.26			12.28±2.25			199.6±23.03		
女	19	1.34±0.21			10.66±2.55			201.76±18.08		
年龄(岁)			1.301	0.201		1.184	0.244		0.542	0.591
≤60	16	1.38±0.18			11.39±2.44			202.34±24.76		
>60	24	1.28±0.26			12.34±2.35			198.98±24.02		
临床分期			2.212	0.033		3.788	0.015		4.164	0.003
I~II期	25	1.26±0.20			10.78±2.04			189.12±19.96		
III~IV期	15	1.42±0.26			13.43±2.17			217.32±20.66		
分化程度			2.686	0.011		4.511	0.021		3.961	0.003
低分化	22	1.24±0.19			13.08±1.99			210.91±23.72		
中高分化	18	1.43±0.24			10.17±1.96			186.06±17.12		
淋巴结转移			2.632	0.012		6.701	0.006		6.685	0.002
有	13	1.45±0.25			14.38±1.32			223.68±16.06		
无	27	1.25~0.19			10.52±1.80			187.56±17.23		

3 讨论

胃癌是起源于胃黏膜上皮的恶性肿瘤,遗传和环境因素是影响胃癌发生发展的主要因素,有胃癌发生的患者其后代发生胃癌的比例比无家族遗传史的人明显要高,同时吸烟、喝酒以及食盐摄入量、腌制食品食用量、深加工肉制品摄取量、新鲜蔬菜水果食用量、幽门螺杆菌感染情况均与胃癌的发生有相关性^[8~11]。胃癌作为多因素所致的肿瘤疾病,其诊断金标准为胃镜检查,但胃镜检查患者耐受性低,费时费力,成本又高,很多患者不易接受,血清标志物检测易于取材,成本较低,快速又准确,更利于癌症患者的早发现早诊断早治疗,提高患者生存率。相关研究发现,Th17细胞及其产生的IL-17在肿瘤诊断中的作用越来越被重视,其在肿瘤组织、免疫微环境、血液中的改变可引起肿瘤发生变化。Th17细胞是新兴的辅助性CD4⁺T细胞亚群,由IL-6和TGF-β共同启动其分化发育,

由IL-23诱导其分化成熟并产生特异性因子IL-17。李巧霞等^[12]报道胃癌患者外周血中TH17细胞比例显著增多,且与非癌对照组织相比,观察组织内CD4⁺/IL-17⁺细胞浸润明显增多。本研究运用流式细胞技术检测外周血中Th17细胞频率,用ELISA试验检测IL-17血清浓度。结果显示,与健康体检者(0.79±0.15)%相比,胃癌患者外周血中Th17细胞频率(1.32±0.23)%显著增高;胃癌患者血清IL-17浓度为(11.55±2.45) pg/mL,明显高于健康体检者的(8.68±1.69) pg/mL,与其研究结果相一致。李清靖等^[13]研究发现,Th17细胞比例的增多与胃癌患者临床分期、淋巴结转移有关,本实验也证实Th17细胞频率、IL-17浓度水平与患者胃癌分期、淋巴结是否转移、肿瘤分化程度相关,III+IV期患者高于I+II期患者,低分化患者高于中高分化患者,有淋巴结转移患者高于无淋巴结转移患者,差异有统计学意义($P < 0.05$)。

IL-6 是一种具有多向性、多种生物学功能的细胞因子,是参与 TH17 细胞活化启动所必需的细胞因子之一^[14], IL-17 升高诱导 IL-6 表达增加,同时 IL-6 增加诱导 TH17 细胞生成更多的 IL-17^[15]。本研究中胃癌患者血清 IL-6 浓度明显高于健康体检者,IL-6 浓度与患者年龄、性别无关,与患者临床分期、肿瘤分化程度、淋巴结转移相关,晚期患者高于早期患者,低分化患者高于中高分化患者,有淋巴结转移患者高于无淋巴结转移患者,差异均有统计学意义($P<0.05$)。这一结果与王丹^[16]研究结果一致。IL-6 可能通过促进瘤内血管的生成、调控细胞生成基因、加快肿瘤干细胞增殖以及产生适应肿瘤生长的炎症环境等作用机制参与肿瘤的发生发展过程^[17]。本研究表明胃癌患者 Th17 细胞频率、IL-17、IL-6 增高,导致患者体内免疫功能发生紊乱,Th17 细胞、IL-17、IL-6 可能共同参与了胃癌的发生发展过程。

蒋伟等^[18]报道微环境中 Th17 细胞的表达与胃癌患者的预后呈正相关,而 ZENG 等^[19]报道观察组织中 IL-17 高表达患者总生存率较差,彭春伟等^[20]报道 IL-6 表达水平对预测胃癌患者的生存期无临床价值。本文在 Th17/IL-17、IL-6 对胃癌动态发展的影响以及对胃癌的预后价值这两方面仍有待于进一步研究。

综上所述,胃癌患者血液中 TH17、IL-17 和 IL-6 高表达,Th17 细胞及其细胞因子与胃癌密切相关,炎性细胞因子可能在胃癌的诊断治疗方面发挥更重要的作用。

参考文献

- [1] CHEN WQ, ZHENG RS, BAADE PD, et al. Cancer statistics in China, 2015 [J]. CA Cancer J Clin, 2016, 66(2): 115-132.
- [2] 国家卫生健康委员会. 胃癌诊疗规范(2018年版) [J/CD]. 中华消化病与影像杂志(电子版), 2019, 9(3): 118-144.
- [3] GROSCURTH P, DIENER S, STAHEL R, et al. Morphologic analysis of human lymphokine activated killer (LAK) cells [J]. Int J cancer, 1990, 45(4): 694-704.
- [4] SHANG Y, ZHAO LY, LU JK. Relationship between inflammatory cytokines and gastric cancer [J]. Journal of China Pharmaceutical University, 2015, 46(1): 123-128.
- [5] 贾瑞环, 牛红青, 李小峰. 类风湿关节炎患者外周血及关节液中 Treg 细胞和 Th17 细胞水平的研究进展 [J]. 中华临床医师杂志(电子版), 2016, 10(24): 3823-3826.
- [6] 周正菊, 张友山, 梁彩霞, 等. ITP 患者外周血 Th9、Th17 和 Treg 细胞水平及 IL-9、IL-17 和 TGF-β 表达在 ITP 发病中的作用 [J]. 中国实验血液学杂志, 2019, 27(1): 180-184.
- [7] XIANG T, LONG H, HE L, et al. Interleukin-17 produced by tumor microenvironment promotes self-renewal of CD133⁺ cancer stem-like cells in ovarian cancer [J]. Oncogene, 2015, 34(2): 165-176.
- [8] WATANABE M, ITO H, HOSONO S, et al. Declining trends in prevalence of *Helicobacter pylori* infection by birth-year in a Japanese population [J]. Cancer Sci, 2015, 106(12): 1738-1743.
- [9] TANAKA M, MA E, TANAKA H, et al. Trends of stomach cancer mortality in Eastern Asia in 1950–2004: comparative study of Japan, Hong Kong and Singapore using age, period and cohort analysis [J]. Int J Cancer, 2012, 130(4): 930-936.
- [10] BERTUCCIO P, CHATENOUD L, LEVI F, et al. Recent patterns in gastric cancer: a global overview [J]. Int J Cancer, 2009, 125(3): 666-673.
- [11] SHI YY, DING SG. Progress in the etiology and pathogenesis of gastric cancer [J]. Chin J Clinicians (Electron Ed), 2013, 7(19): 7941-7944.
- [12] 李巧霞, 李清靖, 刘艳军, 等. Th17 细胞及其相关细胞因子在胃癌中的表达及临床意义 [J]. 肿瘤学杂志, 2015, 21(9): 708-713.
- [13] 李清靖, 单保恩, 李宏, 等. 胃癌患者 Th17/Treg 细胞失衡的研究 [J]. 中国全科医学, 2015, 18(29): 3596-3600.
- [14] IVANOV II, MCKENZIE BS, ZHOU L, et al. The orphan nuclear receptor RORgammat directs the differentiation program of proinflammatory IL-17⁺ T helper cells [J]. Cell, 2006, 126(6): 1121-1133.
- [15] Wang L, Yi T, Kortylewski M, et al. IL-17 can promote tumorgrowth through an IL-6-Star3 signaling pathway [J]. J Exp Med, 2009, 206(7): 1457-1464.
- [16] 王丹. 胃癌患者血清中 IL-6 和 VEGF 的水平检测 [J]. 肿瘤基础与临床, 2016, 29(3): 196-198.
- [17] 沈丽达, 李蓉, 董坚, 等. 胃癌患者营养状况与 TNF-α、IL-6、IFN-γ 的相关性研究 [J]. 西部医学, 2016, 28(9): 1238-1242.
- [18] 蒋伟, 王夫景, 康锐. 胃癌肿瘤微环境中 Th17 细胞的分布及临床意义 [J]. 癌症进展, 2015, 13(4): 396-399.
- [19] ZENG Y, ZHANG Q, WANG H, et al. Prognostic significance of interleukin-17 in solid tumors: a meta-analysis [J]. Int J Clin Exp Med, 2015, 8(7): 10515-10536.
- [20] 彭春伟, 刘广杰, 余昌俊. 胃癌患者血清 IL-6、IL-8、TNF-α 表达水平及其临床意义分析 [J]. 中国医学前沿杂志(电子版), 2019, 11(7): 125-129.

(收稿日期:2020-05-08)