



食管鳞癌患者手术前后外周血Th1、Th2类细胞因子的变化及其临床意义

自发现T辅助淋巴细胞(Th)的不同分化亚群Th1、Th2以来, Th1、Th2状态成为反应机体免疫状况的新指标[1][2]。近年来恶性肿瘤病人体内Th1、Th2类细胞因子的表达状况已成为肿瘤学的研究热点之一, 然而国内外有关食管癌此方面的报道尚少。本研究旨在观察食管鳞癌病人Th1、Th2状态以及手术对该状态的影响, 以为临床治疗提供参考。

1 资料和方法

1.1 一般资料

2002年8月~2004年1月在我院住院治疗的食管癌病人46例, 其中男29例, 女17例; 年龄44~76岁, 平均57岁。全组无合并病毒性肝炎、糖尿病、免疫系统疾病等的病例。TNM分期(UICC, 1997年): I 期3例、II 期21例(II A期13例, II B期8例)、III 期19例、IV 期3例。分化: I 级16例、II 级13例、III 级17例。全组43例行根治性手术, 1例行姑息性手术, 2例行探查术, 术后均无肺炎、脓胸和吻合口瘘等并发症。41例获随访, 5例失访, 随访期限26~38月。随访期间根治术的43例有12例复发或转移, 其中10例已死亡。对照组为同期在我院门诊查体的健康人30例。

1.2 方法

所有外周血标本均为清晨空腹肝素抗凝静脉血5 ml, 经淋巴细胞分层液(上海试剂二厂, 比重1.007)梯度离心后, 取中间层单个核细胞(PBMC), 加入RPMI-1640培养液(GIBCO产品, 美国)和10%胎牛血清, 根据细胞计数调整培养液及胎牛血清用量至细胞浓度为 $1.0 \times 10^6/\text{ml}$ 。然后置入二氧化碳孵箱培养(5%CO₂, 37 °C)48 h, 离心后取上清-80 °C冰箱冻存。ELISA细胞因子试剂盒(美国Golden Bridge 公司)和全自动酶标分析仪(Bio-Rad, Ultramark型, 美国)检测上述PBMC培养液中细胞因子IL-2、INF- γ 、IL-4、IL-6和IL-10的含量。

1.3 统计学处理

数据用均数±标准差表示, 组间差异用t检验, 食管癌组手术前后细胞因子浓度的比较采用配对设计资料的t检验。

2 结果

2.1 食管癌组术前与对照组的Th1、Th2类细胞因子的浓度比较

食管癌组Th1类细胞因子IL-2和INF- γ 的浓度低于对照组, 差异具有显著性($P < 0.05$); Th2类细胞因子 IL-6的浓度高于对照组, 差异具有显著性($P < 0.05$), 而IL-4和IL-10的浓度虽高于对照组, 差异无显著性(表1)。

表 1 食管癌组术前与对照组的 Th1、Th2 类细胞因子的浓度比较 (pg/ml)

Tab.1 Comparison of Th1 and Th2 type cytokines between esophageal squamous cell carcinoma patients before operation and the control subjects

Group	n	IL-2	INF- γ	IL-4	IL-6	IL-10
Patient	46	51.80 \pm 11.04*	23.41 \pm 33.44*	153.36 \pm 59.08	787.85 \pm 192.82*	162.89 \pm 64.21
Control	30	64.88 \pm 11.39	162.21 \pm 85.69	150.08 \pm 87.38	459.85 \pm 151.11	158.80 \pm 74.52

* $P < 0.05$ vs control group

2.2 不同TNM分期的食管鳞癌病人Th1、Th2类细胞因子的浓度比较

由于 I 期和 IV 期例数较少, 我们仅将 II 期和 III 期作比较分析。结果显示 II 期 INF- γ 浓度高于 III 期, IL-6 浓度低于 III 期, 差异具有显著性 ($P < 0.05$); 其它细胞因子浓度无显著差异 (表 2)。

表 2 II 期和 III 期食管癌病人 Th1、Th2 类细胞因子的浓度比较 (pg/ml)

Tab.2 Comparison of Th1 and Th2 type cytokines in patients with stage II and stage III esophageal squamous cell carcinoma

Group	n	IL-2	INF- γ	IL-4	IL-6	IL-10
Stage II	21	52.38 \pm 12.67	29.69 \pm 26.83*	148.82 \pm 76.06	683.09 \pm 206.77*	160.47 \pm 82.55
Stage III	19	49.56 \pm 15.89	18.22 \pm 25.38	153.99 \pm 92.30	833.36 \pm 236.67	154.29 \pm 86.28

* $P < 0.05$ vs stage III group

2.3 食管癌组术前、术后 8 d 和术后 30 d Th1 及 Th2 类细胞因子的浓度比较

结果显示 Th1 类细胞因子术后 8 d 即有回升, 30 d 更为明显; Th2 类细胞因子术后 8 d 即有回落, 以 IL-6 为明显。术后 30 d 时, 各种细胞因子与对照组均无显著差异 (表 3)。

表 3 食管癌组术前与术后 8、30 d Th1、Th2 类细胞因子的浓度比较 (pg/ml)

Tab.3 Comparison of Th1 and Th2 type cytokines in esophageal squamous cell carcinoma patients before and 8, 30 d after operation

Group	IL-2	INF- γ	IL-4	IL-6	IL-10
Before operation	51.80 \pm 11.04	23.41 \pm 33.44	153.36 \pm 59.08	787.85 \pm 192.82	162.89 \pm 64.21
8 d after operation	55.31 \pm 11.42	39.83 \pm 50.65*	130.01 \pm 54.96	557.50 \pm 135.91*	156.25 \pm 59.21
30 d after operation	60.98 \pm 15.18**	39.83 \pm 50.65*	125.57 \pm 57.79	487.01 \pm 108.33**	155.67 \pm 58.99

* $P < 0.05$ vs before operation; ** $P < 0.05$ vs after operation 8 days

3 讨论

1986年Mosmann等[1]发现根据细胞因子产生的模式和生物功能, Th细胞有Th1和Th2两种极不相同的亚群。Th1亚群主要分泌IL-2、INF- γ 、TNF- β 和IL-12等细胞因子, 负责细胞免疫, 辅助Ig亚类转换为IgG2; Th2亚群主

要分泌IL-4、IL-6、IL-10等细胞因子，负责体液免疫，辅助Ig亚类转换为IgG、IgE和IgA。在正常状态时，Th1、Th2细胞功能处于动态平衡，维持机体正常的细胞免疫和体液免疫功能。Th1、Th2细胞功能的失衡与诸多疾病相关，现已证明Th1/Th2的平衡状态失调与肿瘤、感染性疾病、过敏性疾病、自身免疫病及移植物排斥反应密切相关[2]。

细胞免疫是机体抗肿瘤免疫的主要方式，可见机体要处于良好的抗肿瘤状态，Th1细胞应占优势。一旦由Th1向Th2漂移，造成细胞免疫抑制状态，机体的抗肿瘤免疫将受到严重干扰。国内外的研究报道均证实恶性肿瘤病人体内Th2细胞因子呈优势状态，而Th1类细胞因子表达减弱[3][4][5]。

我们的研究结果提示，食管鳞癌病人可能出现Th2细胞功能优势、Th1细胞功能抑制，且可能与肿瘤的TNM分期相关，分期越晚，抑制越明显。手术去除瘤负荷后，多数病人Th1、Th2细胞功能的失衡状态可得到暂时或持续的恢复。随访中复发或转移的12例患者中，10例(83.33%)术后Th1、Th2细胞失衡状态恢复不良，明显高于未复发或转移者(5/29, 17.24%)。

我们的研究结果还提示，术后Th1、Th2细胞状态可能为判断食管癌预后的指标之一，术后Th1、Th2细胞功能的再次失衡可能为肿瘤复发或转移的指标之一。程钢等[6]在鼻咽癌的研究中，也得到同样结果。在肿瘤治疗提倡个体化方案的今天，对病人进行手术前后Th1、Th2类细胞因子的动态检测，对相关个体采取促进和维持Th1、Th2细胞功能动态平衡的术前或术后辅助治疗可能为食管癌的有效治疗手段之一。这些方法包括：(1)注射Th1类细胞因子IL-2、IFN- γ 、或IL-12；(2)利用上述细胞因子进行基因治疗；(3)用抗Th2型细胞因子抗体进行逆转；(4)通过主动免疫激活等方式激活Th1细胞。

综上所述，有必要进行多中心联合大样本前瞻性研究，动态检测食管癌病人手术前后Th1、Th2细胞状态，以进一步明确Th1、Th2细胞状态在食管鳞癌发生和发展过程中的作用，并用于指导临床食管癌的诊断与治疗。国内已有Th1、Th2细胞状态的动态检测应用于临床的报道[7]。

胞外细胞因子的检测中PBMC细胞因子的检测效果优于血浆和血清，可排除体内其他因素的影响，PBMC体外分泌细胞因子的能力与体内细胞因子治疗的预期效果相吻合[8][9]。由于创伤也可造成机体Th1细胞功能暂时抑制，我们在创伤造成的这种抑制已恢复时的术后8 d、30 d进行检测。

(责任编辑：杨金星)

参考文献：

- [1] Mosmann TR, Cherwinski H, Bond MW, et al. Two types of murine helper T cell clone [J]. J Immunol, 1986, 136(7): 2348-57.
- [2] Romagnani S. Human TH1 and TH2 subset: doubt no more[J]. Immunol Today, 1991, 12(8): 256-7.
- [3] Yamamura M, Modlin RL, Ohmen JD, et al. Local expression of antiinflammatory cytokines in cancer[J]. J Clin Invest, 1993, 91(3):1005-10.
- [4] Tsukui T, Hildesheim A, Schiffman MH, et al. Interleukin 2 production in vitro by peripheral lymphocytes in response to human papilloma virus derived peptides correlation with cervical pathology[J]. Cancer Res, 1996, 56(17): 3967-74.
- [5] 刘杰, 田志刚, 孙芮, 等. 人肿瘤细胞中Th2类细胞因子的强势表达[J]. 中华肿瘤杂志(Chin J Oncol), 1998, 20(2): 105-7.
- [6] 程钢, 邵建永, 陈志, 等. 鼻咽癌外周血免疫指标研究[J]. 第一军医大学学报, 2002, 22(12): 1104-8.
Cheng G, Shao JY, Chen Z, et al. Study of immunological indicators in peripheral blood for nasopharyngeal carcinoma[J]. J First Mil Med Univ/Di Yi Jun Yi Da Xue Xue Bao, 2002, 22(12): 1104-8.
- [7] 李莉, 周再高, 曾抗, 等. 尖锐湿疣患者外周血Th1/Th2淋巴细胞比的改变[J]. 第一军医大学学报, 2003, 23(7): 737-9.
Li L, Zhou ZG, Zeng K, et al. Changes in peripheral blood Th1/Th2 cell balance in patients with condyloma acuminatum[J]. J First Mil Med Univ/Di Yi Jun Yi Da Xue Xue Bao, 2003, 23(7): 737-9.
- [8] 田志刚, 孙芮. 细胞因子的检测及临床评价[J]. 国外医学·肿瘤学分册(Foreign Med · Oncol

Sec), 1997, 24(3): 163-5.

[9] Friberg D, Bryant J, Shannon W, et al. In vitro cytokine production by normal human peripheral blood mononuclear cells as a measure of immunocompetence or the state of activation[J]. Clin Diag Lab Immunol, 1994, 1(3): 261-8.

参考文献:

[1] Mosmann TR, Cherwinski H, Bond MW, et al. Two types of murine helper T cell clone [J]. J Immunol, 1986, 136(7): 2348-57.

[2] Romagnani S. Human TH1 and TH2 subset: doubt no more[J]. Immunol Today, 1991, 12(8): 256-7.

[3] Yamamura M, Modlin RL, Ohmen JD, et al. Local expression of antiinflammatory cytokines in cancer[J]. J Clin Invest, 1993, 91(3):1005-10.

[4] Tsukui T, Hildesheim A, Schiffman MH, et al. Interleukin 2 production in vitro by peripheral lymphocytes in response to human papillo-ma virus derived peptides correlation with cervical pathology[J]. Cancer Res, 1996, 56(17): 3967-74.

[5] 刘杰, 田志刚, 孙芮, 等. 人肿瘤细胞中Th2类细胞因子的强势表达[J]. 中华肿瘤杂志 (Chin J Oncol), 1998, 20(2): 105-7.

[6] 程钢, 邵建永, 陈志, 等. 鼻咽癌外周血免疫指标研究[J]. 第一军医大学学报, 2002, 22(12): 1104-8.

Cheng G, Shao JY, Chen Z, et al. Study of immunological indicators in peripheral blood for nasopharyngeal carcinoma[J]. J First Mil Med Univ/Di Yi Jun Yi Da Xue Xue Bao, 2002, 22(12): 1104-8.

[7] 李莉, 周再高, 曾抗, 等. 尖锐湿疣患者外周血Th1/Th2淋巴细胞比的改变[J]. 第一军医大学学报, 2003, 23(7): 737-9.

Li L, Zhou ZG, Zeng K, et al. Changes in peripheral blood Th1/Th2 cell balance in patients with condyloma acuminatum[J]. J First Mil Med Univ/Di Yi Jun Yi Da Xue Xue Bao, 2003, 23(7): 737-9.

[8] 田志刚, 孙芮. 细胞因子的检测及临床评价[J]. 国外医学·肿瘤学分册 (Foreig Med · Oncol Sec), 1997, 24(3): 163-5.

[9] Friberg D, Bryant J, Shannon W, et al. In vitro cytokine production by normal human peripheral blood mononuclear cells as a measure of immunocompetence or the state of activation[J]. Clin Diag Lab Immunol, 1994, 1(3): 261-8.