

· 研究原著 ·

文章编号 1000-2790(2007)20-1899-03

## Th1/Th2 在乳腺癌组织中的表达与意义

沈洪彦, 孙治君, 于冰 (重庆医科大学附属第一医院外五科, 重庆 400016)

### Expressions and significance of Th1/Th2 in breast carcinoma tissues

SHEN Hong-Yan, SUN Zhi-Jun, YU Bing

Department of General Surgery, First Affiliated Hospital, Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China

**【Abstract】** AIM: To explore the expressions of Th1 type cytokines IL-2, IFN- $\gamma$  and Th2 type cytokines IL-4, IL-10 in breast carcinoma tissues of young and old human subjects. **METHODS:** The expressions of IL-2, IFN- $\gamma$ , IL-4 and IL-10 were detected by immunohistochemistry in 105 benign and malignant breast tissues, and the difference in the rate and intensity of positive expressions of IL-2, IFN- $\gamma$ , IL-4 and IL-10 were checked. **RESULTS:** The positive rates of Th1 type cytokines IL-2, IFN- $\gamma$  in breast carcinoma tissues were lower than those in breast fibroadenoma tissues, while the positive rates of IL-4 and IL-10 were higher than those in breast fibroadenoma tissues, and the differences were statistically significant ( $P < 0.01$ ). The positive rate of IL-2 was decreased with the increasing of clinical staging in breast carcinoma tissues ( $P < 0.05$ ), and it was lower in young human than in old human subjects, with significant difference between them ( $P < 0.01$ ). There was higher expression of IL-4 in the metastasis of lymph node than in the non-metastasis of lymph node of breast carcinoma ( $P < 0.01$ ). **CONCLUSION:** The expression of Th1 cytokines are inhibited with a concomitant predominant state of Th2 cytokines in tumor tissues from breast cancer patients. The balance between Th1 and Th2 shifts to the direction of Th2, and that shift is more obvious in young breast carcinoma tissues. It may be one reason for immune escape of tumor cells that induces the development and metastasis of tumor. It is of important significance to detect IL-2 and IL-4 levels together, which facilitates evaluating the immune levels and judging the prognosis of the patients with breast cancer.

**【Keywords】** breast neoplasms; interleukin-2; interferon type II; interleukin-4; interleukin-10

**【摘要】**目的:探讨 Th1 类细胞因子 IL-2, IFN- $\gamma$  及 Th2 类细胞因子 IL-4 和 IL-10 在青年和老年乳腺癌组织中的表达模

收稿日期 2007-03-20; 接受日期 2007-06-15

作者简介:沈洪彦, 硕士生(导师孙治君), 住院医师。Tel: (023) 89011191 Email: Ch. sunzf@yahoo.com.cn

式。方法:采用免疫组化方法检测 105 例良恶性乳腺组织中 IL-2, IFN- $\gamma$ , IL-4, IL-10 的表达, 并比较其阳性表达率和程度的差异。结果:青年组与老年组乳腺癌组织中 Th1 类细胞因子 IL-2, IFN- $\gamma$  阳性表达率较乳腺纤维瘤组显著降低, Th2 类细胞因子 IL-4 和 IL-10 阳性表达率较乳腺纤维瘤组升高, 差异有统计学意义( $P < 0.01$ )。IL-2 的表达水平在青年组与老年组随乳腺癌临床分期的增加而降低( $P < 0.05$ ), 青年组 IL-2 的表达水平低于老年组, 差异有统计学意义( $P < 0.01$ )。在青年组和老年组中腋窝淋巴结阳性组 IL-4 的表达水平均明显高于淋巴结阴性组( $P < 0.01$ )。结论:乳腺癌组织中呈现 Th2 型免疫反应优势状态, Th1/Th2 平衡向 Th2 方向漂移。在青年乳腺癌组织中 Th1/Th2 的比值更低。这可能是肿瘤细胞发生免疫逃逸, 从而导致肿瘤的发生或者转移的原因之一。IL-2 和 IL-4 联合检测对评价患者机体免疫水平、判断预后具有重要意义。

**【关键词】** 乳腺肿瘤; 白细胞介素-2; 干扰素 II 型; 白细胞介素-4; 白细胞介素-10

**【中图分类号】** R737.9 **【文献标识码】** A

## 0 引言

乳腺癌患者外周血中 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 比例的变化, 对乳腺癌组织中 Th1/Th2 类细胞因子的漂移以及不同年龄、不同分期、不同病理乳腺癌组织中 Th1/Th2 类细胞因子的漂移的变化尚无系统报道。我们以 IL-2, IFN- $\gamma$  代表 Th1 类细胞因子, 以 IL-4 和 IL-10 代表 Th2 类细胞因子, 应用免疫组化检测 43 例青年乳腺癌、52 例老年乳腺癌和 10 例乳腺纤维腺瘤组织中 Th1/Th2 类细胞因子的表达模式。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 收集 1998-01/2002-12 在重庆医科大学附属第一医院普外科手术的存档蜡块 105 例, 其中乳腺癌 95 例。青年乳腺癌组 43 例, 临床分期 I 期 4 例, II 期 23 例, III 期 12 例, IV 期 4 例。年龄 26~34.9 岁, 平均 31.9 岁。老年乳腺癌组 52 例, 临床分期 I 期 5 例, II 期 23 例, III 期 20 例, IV 期 4 例。年龄 60~82 岁, 平均 68.2 岁。10 例乳腺纤维腺瘤石蜡包埋组织标本, 患者年龄 28~45, 平均 36 岁, 所有患者均为女性。乳腺癌和乳腺纤维腺瘤的病理诊断参照肿瘤病理学<sup>[1]</sup>的标准。乳腺癌临床分期根据美国癌症研

究联合会(AJCC)癌症分期手册(6版)<sup>[21]</sup>为标准。IL-2, IL-4, IL-10, IFN- $\gamma$  兔抗人多克隆抗体购自武汉博士得生物工程有限公司。免疫组化 SP 试剂盒购于北京中山生物技术有限公司。

## 1.2 方法

1.2.1 IL-2, IL-4, IL-10 及 IFN- $\gamma$  表达检测 采用免疫组化二步法,以 TBS 代替一抗做空白对照。免疫组化染色方法参照 S-P 试剂盒说明,基本步骤:石蜡切片脱蜡至水,加过氧化酶阻断溶液(试剂 A),加非免疫性动物血清(试剂 B),加入一抗,加生物素标记第二抗体(试剂 C),加链霉素抗生物素蛋白-过氧化物酶溶液(试剂 D),加 DAB 溶液,苏木素复染,中性树胶封固。每步骤间 PBS 冲洗 3 次。

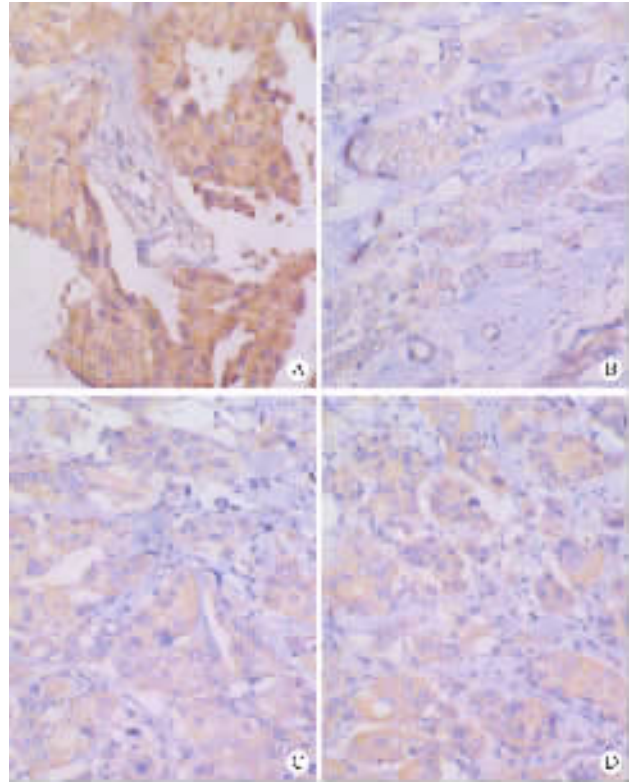
1.2.2 结果判定 IL-2, IL-4, IL-10 及 IFN- $\gamma$  在 DAB 显色后以细胞内出现棕黄色或棕黄色颗粒为阳性。参照 shimizu 方法,依据染色阳性细胞所占细胞总数的百分数评分(A):阳性细胞数为零者为 0 分, <30% 为 1 分, 30% ~ 60% 为 2 分, >60% 为 3 分,按染色强度评分(B):无色为 0 分,弱染色为 1 分,中染色为 2 分,强染色为 3 分;总分(A+B)  $\geq$  3 分为阳性表达, <3 分为阴性表达。

统计学处理:使用 SPSS11.0 软件系统,计数资料进行  $\chi^2$  检验或 Fisher's 确切概率法检验,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 乳腺癌组织中 Th1/Th2 类细胞因子 95 例乳

腺癌组织中 Th1 类细胞因子 IL-2 阳性表达 33 例(34.74%), IFN- $\gamma$  阳性 46 例(48.42%) 均较乳腺纤维瘤对照组明显降低( $P < 0.01$ ); Th2 类细胞因子 IL-4 阳性 84 例(88.42%), IL-10 阳性表达 86 例(90.53%), 两者均较对照组明显升高, 差异有统计学意义( $P < 0.01$  图 1 表 1)。



A: IL-2 阳性; B: IFN- $\gamma$  阳性; C: IL-4 阳性; D: IL-10 阳性。

图 1 乳腺癌细胞免疫组化染 SP  $\times 200$

表 1 IL-2, IFN- $\gamma$ , IL-4, IL-10 在乳腺癌与纤维瘤组织中表达水平

(n)

组别	n	IL-2			IFN- $\gamma$			IL-4			IL-10		
		+	-	阳性率(%)	+	-	阳性率(%)	+	-	阳性率(%)	+	-	阳性率(%)
青年	43	6	37	14.0 <sup>b</sup>	18	25	41.9	38	5	88.4	39	4	90.7
老年	52	27	25	51.9	28	24	53.8	46	6	88.5	47	5	90.4
纤维瘤	10	9	1	90.0 <sup>d</sup>	10	0	100.0 <sup>d</sup>	3	7	30.0 <sup>d</sup>	0	10	0.0 <sup>d</sup>

<sup>b</sup> $P < 0.01$  vs 老年, <sup>d</sup> $P < 0.01$  vs 青年和老年。

2.2 乳腺癌组织中 Th1/Th2 类细胞因子水平与临床 TNM 分期 IL-2 在青年组及老年组乳腺癌组织中的阳性表达水平在临床 TNM 分期之间有着随着病情的进展呈下降的趋势, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ ), 但在青年组 II 期和 III 期之间差异无统计学意义( $P > 0.05$ ), 尤以 I 期与其他各期的差别显著( $P < 0.01$ )。IFN- $\gamma$  表达水平在青年组各临床 TNM 分期之间无明显差异, 在老年组主要是 IV 期较其它各期降低

显著( $P < 0.05$ )。IFN- $\gamma$  在两组患者腋窝淋巴结阴性阳性的表达之间无显著差异。IL-4, IL-10 在两组临床 TNM 分期之间虽然随着病程的进展有升高的趋势, 但是差异无统计学意义。青年组中 IL-2, IL-4, IL-10 在腋窝淋巴结阳性组的表达水平明显高于腋窝淋巴结阴性组( $P < 0.01$ ), 老年组中仅有 IL-4 在腋窝淋巴结阳性组的表达水平明显高于腋窝淋巴结阴性组( $P < 0.01$  表 2 3)。

表2 IL-2, IFN- $\gamma$ , IL-4, IL-10 在青年乳腺癌中的表达水平与临床 TNM 分期 (n)

TNM 分期	n	IL-2		IFN- $\gamma$		IL-4		IL-10	
		+	-	+	-	+	-	+	-
I	4	3	1 <sup>a</sup>	2	2	3	1	3	1
II	23	2	21	8	15	21	2	20	3
III	12	1	11	6	6	10	2	12	0
IV	4	0	4	2	2	4	0	4	0
腋窝淋巴结									
阴性	8	5	3 <sup>b</sup>	6	2	6	2 <sup>b</sup>	5	3 <sup>b</sup>
阳性	35	1	34	12	23	32	3	34	1

\* $P < 0.05$ , <sup>b</sup> $P < 0.01$ .表3 IL-2, IFN- $\gamma$ , IL-4, IL-10 在老年乳腺癌中的表达水平与临床 TNM 分期 (n)

TNM 分期	n	IL-2		IFN- $\gamma$		IL-4		IL-10	
		+	-	+	-	+	-	+	-
I	5	5	0 <sup>b</sup>	4	1 <sup>a</sup>	3	2 <sup>a</sup>	4	1
II	23	13	10	12	11	20	3	19	4
III	20	9	11	12	8	20	0	20	0
IV	4	0	4	0	4	3	1	4	0
腋窝淋巴结									
阴性	17	9	8	8	9	12	5 <sup>b</sup>	15	2
阳性	35	18	17	20	15	34	1	32	3

\* $P < 0.05$ , <sup>b</sup> $P < 0.01$ .

青年组 IL-2 的表达水平较老年组明显降低 ( $P < 0.01$ ), IFN- $\gamma$  虽然在老年组表达水平高于青年组, 但差异无显著性 ( $P > 0.05$ ); IL-4, IL-10 表达在两组表达水平无明显差异 (表 1)。

### 3 讨论

Th1 细胞分泌 IL-2, IFN- $\gamma$  和 TNF- $\alpha$  等细胞因子, 主要介导细胞免疫反应和迟发型超敏反应; Th2 细胞分泌 IL-4 和 IL-10 等细胞因子, 主要介导体液免疫反应<sup>[3-5]</sup>。当某些因素导致其失衡时, Th0 即可向 Th1 或 Th2 转化, 并导致机体免疫紊乱, 诱发一系列的病理变化, 其中包括肿瘤的发生与发展<sup>[6]</sup>。

本研究结果发现乳腺癌组织中表达 Th1 型细胞因子的 CD4<sup>+</sup> T 细胞比例较对照组明显降低, 表达 Th2 型细胞因子的 CD4<sup>+</sup> T 细胞比例比对照组升高。提示乳腺癌患者 Th1 型反应模式占弱势状态, 相对地 Th2 型反应模式处于优势状态, Th1/Th2 平衡失调, Th1/Th2 平衡向 Th2 方向漂移。与此同时, 癌组织中 Th1 类细胞因子表达水平随着肿瘤临床 TNM 分期的

增高而降低, 并且在青年乳腺癌患者中, 这种趋势更明显。提示乳腺癌患者由于 Th1 细胞受到抑制, 细胞免疫功能不能有效地激活, 抗肿瘤免疫能力下降, 从而不利于机体组织以细胞免疫为主的抗肿瘤免疫反应, 使肿瘤细胞得以生存发展。实验发现乳腺癌患者发病年龄越晚, 淋巴结转移少, 临床 TNM 分期早, 组织中 IL-2 表达水平高, IL-4 呈现低表达状态。IL-2, IFN- $\gamma$  是最重要的 Th1 类细胞因子, 很多研究表明, 在恶性肿瘤患者体内及肿瘤组织内呈现低水平表达状态<sup>[7-8]</sup>。在对不同分期肿瘤患者研究时发现, 在 I 期乳腺癌组织内, Th1 类细胞因子 IL-2 的表达水平要高于其它各期, 提示在乳腺癌的早期阶段 Th1 类细胞因子发挥了肿瘤免疫功能; 但随肿瘤发展, 机体的 Th1/Th2 平衡紊乱呈现典型的 Th2 漂移。青年乳腺癌在临床较为少见, 一般认为其有较强的侵袭性, 病情发展快, 腋窝淋巴结转移率高, 预后不良<sup>[9]</sup>。本组研究中, 青年乳腺癌组织中 IL-2 的表达较老年组明显降低, 这说明 Th1/Th2 的漂移在青年乳腺癌患者中更显著, IL-2 阴性表达的乳腺癌具有更强的侵袭性和转移能力, 预后差。

### 【参考文献】

- [1] Emery CL, Weymouth LA. Detection and clinical significance of extended-spectrum beta-lactamases in a tertiary care medical center [J]. J Clin Microbiol, 1997, 35: 2061-2067.
- [2] 格林尼 FL, 佩基 DL, 弗莱明 ID, 等. AJCC 癌症分期手册 [M]. 6 版. 沈阳: 辽宁科学技术出版社, 2005: 225-228.
- [3] Mosmann TR, Cherwinski H, Bond MW, et al. Two types of murine helper T cell clone I. Definition according to profiles of lymphokine activities and secreted proteins [J]. J Immunol, 1986, 136(7): 2348-2357.
- [4] Yamamura M, Modlin R L, Ohmen J D, et al. Local expression of anti-inflammatory cytokines in cancer [J]. Clin Invest, 1993, 91(3): 1005-1010.
- [5] Kharkevitch DD, Seito D, Balch GC, et al. Characterization of autologous tumor-specific T-helper 2 cells in tumor infiltrating lymphocytes from a patient with metastatic melanoma [J]. Int J Cancer, 1994, 58(3): 317-323.
- [6] Romagnani S. Human Th1 and Th2 subsets no more [J]. Immunol Today, 1991, 12(8): 256-257.
- [7] Ren Z, Pang G, Clancy R, et al. Shift of the gastric T-cell response in gastric carcinoma [J]. J Gastroenterol Hepatol, 2001, 16(2): 142-148.
- [8] 张筱茵, 陈咏仪. 胃癌局部细胞因子表达谱分析 [J]. 中华肿瘤杂志, 2002, 24(1): 14-16.
- [9] Agrup A, Stal O, Olsen K, et al. C-erbB-2 overexpression and survival in early onset breast cancer [J]. Breast Cancer Res Treat, 2000, 63(1): 23-29.