

Th1/Th2及Tc1/Tc2在胃癌患者外周血中的漂移及意义

乔治, 李荣, 徐迎新, 陈凇, 彭正, 杜晓辉, 田文, 周国良

■背景资料

胃癌是我国最常见的消化系恶性肿瘤,但目前治疗疗效仍不满意,进展期胃癌手术切除后5年生存率仅为20%-40%。根据肿瘤免疫逃逸学说,胃癌患者免疫预存状态与其发病及预后可能密切相关。

乔治, 李荣, 徐迎新, 陈凇, 彭正, 杜晓辉, 田文, 周国良, 中国人民解放军总医院普通外科北京市 100853

国家高技术研究发展计划基金资助项目, No. 2006AA02Z4B9

作者贡献分布: 此课题由徐迎新及李荣设计; 研究过程由乔治、李荣和徐迎新完成; 采集数据由乔治、陈凇、彭正、杜晓辉、田文和周国良完成; 数据分析由乔治完成; 本论文写作由乔治、李荣和徐迎新完成。

通讯作者: 李荣, 100853, 北京市海淀区复兴路28号, 中国人民解放军总医院普通外科. xuyingx@126.com

电话: 010-66938025

收稿日期: 2009-03-03 修回日期: 2009-03-20

接受日期: 2009-03-23 在线出版日期: 2009-04-28

Preliminary analysis of Th1/Th2 and Tc1/Tc2 shift in peripheral blood of gastric cancer patients

Zhi Qiao, Rong Li, Ying-Xin Xu, Lin Chen, Zheng Peng, Xiao-Hui Du, Wen Tian, Guo-Gen Zhou

Zhi Qiao, Rong Li, Ying-Xin Xu, Lin Chen, Zheng Peng, Xiao-Hui Du, Wen Tian, Guo-Gen Zhou, Department of General Surgery, General Hospital of Chinese PLA, Beijing 100853, China

Supported by: National High Technology Research and Development Program of China, No. 2006AA02Z4B9

Correspondence to: Rong Li, Department of General Surgery, General Hospital of Chinese PLA, 28 Fuxing Road, Haidian District, Beijing 100853, China. xuyingx@126.com

Received: 2009-03-03 Revised: 2009-03-20

Accepted: 2009-03-23 Published online: 2009-04-28

Abstract

AIM: To investigate shift of Th1/Th2 and Tc1/Tc2 balance in peripheral blood of gastric cancer patients.

METHODS: Peripheral blood samples were collected from 25 preoperative gastric cancer patients and 25 healthy controls. Intracellular cytokine expression (IFN- γ , IL-4) of activated T lymphocytes were assessed by four-color flow cytometric analysis.

RESULTS: The ratios of Th1/PBL, Tc1/PBL, Th1/Th2 and Tc1/Tc2 in gastric cancer patients were significantly lower than the normal control group ($6.242\% \pm 4.078\%$ vs $3.047\% \pm 1.710\%$, $14.171\% \pm 8.984\%$ vs $6.393\% \pm 5.235\%$, $3.127\% \pm 3.633\%$ vs $1.172\% \pm 0.300\%$, $17.200\% \pm 25.930\%$ vs

$3.252\% \pm 8.732\%$, all $P < 0.01$).

CONCLUSION: There is a shift in the Th1/Th2, Tc1/Tc2 balance toward Th2 and Tc2 dominance in peripheral blood of gastric cancer patients, suggesting that cellular immunity of gastric cancer patients is inhibited and that the abnormal differentiation of T cell subsets might play an important role in the pathologic process of gastric cancer.

Key Words: Gastric cancer; Cytokine; Th1/Th2; Tc1/Tc2; Flow cytometry

Qiao Z, Li R, Xu YX, Chen L, Peng Z, Du XH, Tian W, Zhou GG. Preliminary analysis of Th1/Th2 and Tc1/Tc2 shift in peripheral blood of gastric cancer patients. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2009; 17(12): 1238-1240

摘要

目的: 研究胃癌患者外周血Th1/Th2及Tc1/Tc2漂移状况,并分析其免疫预存状态。

方法: 2008-10-21/2008-12-05中国人民解放军总医院普通外科新入院的术前胃癌患者外周血样本25例,同期健康献血员正常对照组外周血样本25例。四色流式细胞仪检测胃癌患者及正常对照人群外周血激活的淋巴细胞内细胞因子(IFN- γ 、IL-4),并分析Th1/Th2及Tc1/Tc2漂移状态。

结果: 胃癌患者外周血Th1/PBL、Tc1/PBL、Th1/Th2、Tc1/Tc2比值均较正常对照组明显减少($6.242\% \pm 4.078\%$ vs $3.047\% \pm 1.710\%$, $14.171\% \pm 8.984\%$ vs $6.393\% \pm 5.235\%$, $3.127\% \pm 3.633\%$ vs $1.172\% \pm 0.300\%$, $17.200\% \pm 25.930\%$ vs $3.252\% \pm 8.732\%$, 均 $P < 0.01$)。

结论: 胃癌患者Th1及Tc1细胞比例减少,并出现Th1/Th2及Tc1/Tc2漂移现象,提示胃癌患者预存免疫状态低下,机体抗肿瘤免疫功能抑制。

关键词: 胃癌; 细胞因子; Th1/Th2; Tc1/Tc2; 流式细胞术

乔治, 李荣, 徐迎新, 陈凇, 彭正, 杜晓辉, 田文, 周国良. Th1/Th2

■同行评议者

田晓峰, 教授, 大连医科大学附属第二医院普通外科

及Tc1/Tc2在胃癌患者外周血中的漂移及意义. 世界华人消化杂志 2009; 17(12): 1238-1240
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/17/1238.asp>

0 引言

T淋巴细胞按功能不同可分为辅助性T细胞(helper T cell, Th)及细胞毒性T细胞(cytotoxic T cell, Tc). 其中根据其产生细胞因子的不同各自分为Th1、Th2和Tc1、Tc2两大亚群. Th1及Tc1细胞可通过分泌IFN- γ 等细胞因子使机体处于良好抗肿瘤状态, 而Th2及Tc2细胞可产生大量IL-4并启动IL-10分泌, IL-10具有多种抑制肿瘤免疫应答的作用. 正常状态下Th1/Th2及Tc1/Tc2处于动态平衡, 而根据肿瘤免疫逃逸学说, 肿瘤患者可能出现Th1/Th2及Tc1/Tc2漂移并导致机体抗肿瘤免疫功能抑制. 本研究通过检测外周血激活的淋巴细胞内细胞因子(IFN- γ 、IL-4)来分析胃癌患者外周血T淋巴细胞亚群改变, 并探讨胃癌患者免疫功能与Th1/Th2及Tc1/Tc2平衡变化的关系.

1 材料和方法

1.1 材料 2008-10-21/2008-12-05中国人民解放军总医院普通外科新入院的术前胃癌患者外周血样本25例, 年龄41-84岁, 男19例, 女6例, 所有病例均经病理证实, 且未经任何化疗、放疗、生物制剂等治疗. 25例正常对照组外周血样本来源于同期健康献血员, 年龄24-56岁, 男20例, 女5例, 所有献血员均证实近期无感染病史及疫苗接种病史, 献血前血常规、肝肾功能检测正常, 乙型肝炎、丙型肝炎、梅毒、AIDS检测阴性. 所有血标本均为清晨空腹状态下留取肘静脉血于无菌肝素抗凝管内, 1 h内开始检测. 试验所需抗体CD3-PerCP、CD8-APC、CD4-PerCP-Cy5.5、IFN- γ -FITC/IL-4-PE、IgG2a-FITC/IgG1-PE及FACS溶血素、FACS通透液、高尔基体阻断剂BFA均购自BD公司. 离子霉素Ionomycin及激活剂PMA为Sigma公司产品. 仪器: 四色流式细胞仪(FACSCalibur flow cytometer, BD company, American).

1.2 方法

1.2.1 淋巴细胞的激活: 阻断对照组, 500 μ L混匀全血+500 μ L 1640液+BFA 10 mg/L, 37 $^{\circ}$ C孵育4 h. 实验检测组, 500 μ L混匀全血+500 μ L 1640液+BFA 10 mg/L+PMA 20 μ g/L+离子霉素1 mg/L, 37 $^{\circ}$ C孵育4 h.

1.2.2 淋巴细胞内细胞因子分泌检测: (1)胞外

染色: 在同型对照管及试验检测管中加入抗体CD3-PerCP(20 μ L)、CD8-APC(5 μ L)/CD4-PerCP-Cy5.5(20 μ L), 分组加入200 μ L/管不同的刺激好的标本, 避光20 min. (2)裂解红细胞: 每管加入10倍稀释FACS溶血素2 mL, 室温避光10 min. 1200 r/min离心5 min后弃上清. (3)破膜: 各管加入0.5 mL 10倍稀释FACS通透剂, 室温避光10 min. 加入2 mL PBS, 1500 r/min离心5 min后弃上清. (4)胞内染色: 同型对照管中加入抗体IgG2a-FITC(20 μ L)/IgG 1-PE(20 μ L), 试验检测管中加入IFN-r-FITC(20 μ L)/IL-4-PE(20 μ L), 混匀后室温避光30 min. 加入2 mL PBS, 1500 r/min离心5 min后弃上清. 每管加入500 μ L PBS液上机检测并圈定Th1(CD3+CD4+IFN- γ +), Th2(CD3+CD4+IL-4+), Tc1(CD3+CD8+IFN- γ +), Tc2(CD3+CD8+IL-4+).

统计学处理 采用CHISS统计软件进行非参数Wilcoxon秩和检验. $P < 0.05$ 为差异有统计学意义.

2 结果

胃癌患者外周血Th1/外周血淋巴细胞(peripheral blood lymphocyte, PBL)、Tc1/PBL、Th1/Th2、Tc1/Tc2均较正常对照组明显减少, 二组之间差异有统计学意义($P < 0.01$, 表1).

3 讨论

目前认为, Th1类细胞主要分泌IFN- γ 和IL-2, 可以增强杀伤细胞的细胞毒作用, 激发迟发性超敏反应, 主要介导细胞免疫应答; Th2类细胞主要分泌IL-4、IL-6、IL-10和IL-13, 可促进抗体产生, 主要介导体液免疫反应^[1-2]. 在机体正常状态下, Th1和Th2类细胞功能处于一种动态平衡状态^[3]. 机体对肿瘤的免疫反应以Th1型状态为主, 若机体Th1和Th2状态失衡, 发生漂移, 形成Th2型状态, 就会造成免疫抑制, 机体的抗肿瘤免疫将受到严重削弱, 易导致肿瘤的发生和发展^[4-5]. 而CD8+Tc细胞除直接杀伤靶细胞外, 根据分泌的细胞因子不同亦可分为Tc1、Tc2两大亚群, 其中Tc1细胞主要分泌IFN- γ , Tc2细胞则主要分泌IL-4、IL-5和IL-10. Tc1向Tc2的漂移亦同样反映机体抗肿瘤免疫的抑制状态. 国外研究发现肿瘤患者体内以Th2型细胞占优势状态^[6-7], 并已有脑胶质瘤和非小细胞肺癌的相关研究报道^[8-13].

本研究结果表明, 胃癌患者可出现Th1/Th2及Tc1/Tc2漂移并导致Th2及Tc2优势现象, 其中

■研究前沿

在胃癌的综合治疗过程中, 如何纠正Th1/Th2及Tc1/Tc2漂移现象, 诱导Th0/Tc0细胞向Th1/Tc1的增殖分化, 激活抗肿瘤免疫应答, 改善胃癌患者免疫预存状态, 是目前研究热点.

■应用要点

本研究发现胃癌患者外周血Th1/PBL、Tc1/PBL、Th1/Th2、Tc1/Tc2均较正常健康者明显减少, 出现Th1/Th2及Tc1/Tc2漂移并导致Th2及Tc2优势现象, 其中以Th1及Tc1类细胞减少为主, 证实胃癌患者免疫预存状态欠佳, 其可作为评估预后、评价术后综合治疗效果的重要指标之一.

同行评价

本研究设计科学, 研究方法先进, 层次清晰, 逻辑性好, 结果对本领域研究有一定的参考意义。

表 1 胃癌患者外周血Th1/PBL、Tc1/PBL、Th1/Th2、Tc1/Tc2的变化(%)

分组	Th1/PBL	Th2/PBL	Th1/Th2	Tc1/PBL	Tc2/PBL	Tc1/Tc2
正常组	6.242 ± 4.078	3.698 ± 3.657	3.127 ± 3.633	14.171 ± 8.984	7.591 ± 9.241	17.200 ± 25.930
胃癌组	3.047 ± 1.710 ^b	2.593 ± 1.396	1.172 ± 0.300 ^b	6.393 ± 5.235 ^b	4.970 ± 4.259	3.252 ± 8.732 ^b

^bP<0.01 vs 正常组.

以Th1及Tc1类细胞减少为主, 证实胃癌患者抗肿瘤免疫功能受损并可能与其发病及不良预后相关. 在胃癌的综合治疗过程中, 如能纠正Th1/Th2及Tc1/Tc2漂移现象, 诱导Th0/Tc0细胞向Th1/Tc1的增殖分化, 促进机体细胞免疫功能的恢复, 激活抗肿瘤免疫应答, 将可能进一步提高胃癌的综合治疗效果.

4 参考文献

- Farrar JD, Asnagli H, Murphy KM. T helper subset development: roles of instruction, selection, and transcription. *J Clin Invest* 2002; 109: 431-435
- Glimcher LH, Murphy KM. Lineage commitment in the immune system: the T helper lymphocyte grows up. *Genes Dev* 2000; 14: 1693-1711
- Kidd P. Th1/Th2 balance: the hypothesis, its limitations, and implications for health and disease. *Altern Med Rev* 2003; 8: 223-246
- Aniszewski JP, Valyasevi RW, Bahn RS. Relationship between disease duration and predominant orbital T cell subset in Graves' ophthalmopathy. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; 85: 776-780
- Murakami H, Ogawara H, Hiroshi H. Th1/Th2 cells in patients with multiple myeloma. *Hematology* 2004; 9: 41-45
- Yamamura M, Modlin RL, Ohmen JD, Moy RL. Local expression of antiinflammatory cytokines in cancer. *J Clin Invest* 1993; 91: 1005-1010
- Naldini A, Pucci A, Bernini C, Carraro F. Regulation of angiogenesis by Th1- and Th2-type cytokines. *Curr Pharm Des* 2003; 9: 511-519
- Ito N, Suzuki Y, Taniguchi Y, Ishiguro K, Nakamura H, Ohgi S. Prognostic significance of T helper 1 and 2 and T cytotoxic 1 and 2 cells in patients with non-small cell lung cancer. *Anticancer Res* 2005; 25: 2027-2031
- Yamazaki K, Yano T, Kameyama T, Suemitsu R, Yoshino I, Sugio K. Clinical significance of serum TH1/TH2 cytokines in patients with pulmonary adenocarcinoma. *Surgery* 2002; 131: S236-S241
- Li R, Rüttinger D, Li R, Si LS, Wang YL. Analysis of the immunological microenvironment at the tumor site in patients with non-small cell lung cancer. *Langenbecks Arch Surg* 2003; 388: 406-412
- Chechlińska M, Duma A, Swierkowska K, Kamińska J, Steffen J. Sera of lung cancer patients affect the release of Th1, Th2 and monocyte-derived cytokines, and the expression of IL-2Ralpha by normal, stimulated mononuclear cells. *Cell Mol Biol Lett* 2004; 9: 69-81
- Ito N, Nakamura H, Tanaka Y, Ohgi S. Lung carcinoma: analysis of T helper type 1 and 2 cells and T cytotoxic type 1 and 2 cells by intracellular cytokine detection with flow cytometry. *Cancer* 1999; 85: 2359-2367
- Ehi K, Ishigami S, Masamoto I, Uenosono Y, Natsugoe S, Arigami T, Arima H, Kijima Y, Yoshinaka H, Yanagita S, Kozono T, Funasako Y, Maruyama I, Aikou T. Analysis of T-helper type 1 and 2 cells and T-cytotoxic type 1 and 2 cells of sentinel lymph nodes in breast cancer. *Oncol Rep* 2008; 19: 601-607

编辑 李军亮 电编 何基才

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2009年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

世界华人消化杂志标点符号用法

本刊讯 遵照国家标准GB/T 15834-1995标点符号用法的要求, 本刊论文中的句号都采用黑圆点; 数字间的起止号采用“-”字线, 并列的汉语词间用顿号分开, 而并列的外文词、阿拉伯数字、外文缩略词及汉语拼音字母拼写词间改用逗号分开, 参考文献中作者间一律用逗号分开; 表示终了的标点符号, 如句号、逗号、顿号、分号、括号及书名号的后一半, 通常不用于一行之首; 而表示开头的标点符号, 如括号及书名号的前一半, 不宜用于一行之末. 标点符号通常占一格, 如顿号、逗号、分号、句号等; 破折号应占两格; 英文连字符只占一个英文字符的宽度, 不宜过长, 如5-FU. 外文字符下划一横线表示用斜体, 两横线表示用小写, 三横线表示用大写, 波纹线表示用黑体. (常务副总编辑: 张海宁 2009-04-28)