

DOI: 10.3779/j.issn.1009-3419.2004.03.08

• 临床研究 •

检测肺癌中辅助性T 细胞 (Th₁/Th₂) 的临床意义

陈名声 郝晓柯 张永生 卢宝弼 吴原茹 徐焰 陈佳 于文彬

【摘要】 目的 探讨辅助性T 细胞Th₁和Th₂细胞因子对肺癌患者的临床意义,为肿瘤的免疫治疗提供依据。方法 采用放射免疫(RIA)和酶联免疫吸附法(ELISA)检测86例肺癌患者、59例肺良性病患者及45例正常对照辅助性T 细胞分泌的细胞因子。以IL-2和TNF- α 的水平代表Th₁型细胞因子,IL-4、IL-6和IL-8的水平代表Th₂型细胞因子。结果 肺癌患者IL-2[(24.6 \pm 12.0) μ g/L]的水平显著低于肺良性病患者[(71.1 \pm 25.4) μ g/L]($t=3.82, P<0.01$)和正常对照[(69.3 \pm 19.5) μ g/L]($t=2.76, P<0.01$),IL-6[(0.13 \pm 0.04) μ g/L]的水平显著低于正常对照[(0.23 \pm 0.05) μ g/L]($t=3.39, P<0.01$),IL-4[(254.2 \pm 78.0) μ g/L]、IL-8[(0.49 \pm 0.16) μ g/L]、TNF α [(2.76 \pm 1.12) μ g/L]的水平明显高于肺良性病患者[(63.6 \pm 18.6) μ g/L,(0.36 \pm 0.18) μ g/L,(0.96 \pm 0.20) μ g/L]及正常对照[(60.9 \pm 19.6) μ g/L,(0.35 \pm 0.07) μ g/L,(0.93 \pm 0.19) μ g/L](t 值分别为4.10、4.89和3.76, P 均 <0.01),肺良性病患者和正常对照之间的IL-2、TNF- α 、IL-4、IL-8均未见明显差异($P>0.05$),肺癌组IL-6的水平与肺良性病组[(0.15 \pm 0.04) μ g/L]无明显差异($P>0.05$),肺良性病组IL-6的水平与正常对照组[(0.23 \pm 0.05) μ g/L]有明显差异($P<0.05$)。肺癌患者不同组织类型间及不同TNM 分期期间细胞因子比较无显著性差异($P>0.05$)。结论 肺癌患者机体T 辅助细胞Th₁/Th₂细胞因子失衡,可能在肺癌的发病机理中起着某种作用。通过纠正这些免疫失常可能成为肺癌治疗的重要手段。

【关键词】 肺肿瘤 诊断 细胞因子 辅助性T 细胞亚群

【中图分类号】 R734.2

The clinical significance of detection of Th₁/Th₂ cell cytokines in lung cancer CHEN Mingsheng, HA O Xiaoke, ZHANG Yongsheng, LU Baobi, WU Yuanru, XU Yang, CHEN Jia, YU Wenbing. Division of Immunology, Xijing Hospital, Fourth Military University, Xi'an, Shanxi 710032, P. R. China

Corresponding author: CHEN Mingsheng, E-mail: hxbyqh@163.com

【Abstract】 Objective To explore the clinical significance of detection of T helper cell (Th₁ and Th₂) in patients with lung cancer and to provide a foundation for immunological treatment. **Methods** RIA and ELISA were used to detect the level of serum IL-2, IL-4, IL-6, IL-8 and TNF α in 86 patients with lung cancer, 59 patients with benign pulmonary diseases and 45 healthy people. IL-2 and TNF α were used to represent cytokines of Th₁ type, and IL-4, IL-6 and IL-8 to represent cytokines of Th₂ type. **Results** The level of IL-2 [(24.6 \pm 12.0) μ g/L] in cancer group was significantly lower than that in benign group [(71.1 \pm 25.4) μ g/L] ($t=3.82, P<0.01$) and normal group [(69.3 \pm 19.5) μ g/L] ($t=2.76, P<0.01$), the level of IL-6 in cancer group [(0.13 \pm 0.04) μ g/L] was significantly lower than that in normal group [(0.23 \pm 0.05) μ g/L] ($t=3.39, P<0.01$), but the levels of IL-4 [(254.2 \pm 78.0) μ g/L], IL-8 [(0.49 \pm 0.16) μ g/L], and TNF α [(2.76 \pm 1.12) μ g/L] in cancer group were significantly higher than those in benign group [(63.6 \pm 18.6) μ g/L, (0.36 \pm 0.18) μ g/L, (0.96 \pm 0.20) μ g/L respectively] and those in normal group [(60.9 \pm 19.6) μ g/L, (0.35 \pm 0.07) μ g/L, (0.93 \pm 0.19) μ g/L respectively] ($t=4.10, 4.89, 3.76$ respectively, all $P<0.01$). No significant difference of IL-2, IL-4, IL-8 and TNF α level was observed between benign group and normal group (all $P>0.05$). The level of IL-6 in cancer group was similar to that in benign group [(0.15 \pm 0.04) μ g/L] ($P>0.05$). The level of IL-6 in benign group was significantly lower than that in normal group [(0.23 \pm 0.05) μ g/L] ($P>0.05$). There was no

significant difference in these cytokines among lung cancer patients with different histological types and in different TNM stages. **Conclusion** T helper cell cytokines are out of balance in patients with lung cancer, and this may play a certain role in the pathogenesis of lung cancer. Correcting this immune malfunction may become an important method in lung cancer therapy.

【Key words】 Lung neoplasms Diagnosis Cytokine T helper Th₁/Th₂

白细胞介素2(interleukin 2, IL-2)、肿瘤坏死因子α(tumor necrotic factor α, TNF-α)是由T辅助细胞亚群(Th₁)细胞分泌的细胞因子,介导机体的细胞免疫,IL-4、IL-6、IL-8是由T辅助细胞亚群(Th₂)细胞分泌的细胞因子,介导机体的体液免疫,虽然两类均被分别报道在机体内发挥一定的抗肿瘤作用,但仍存在异义。为此,本观察以血清IL-2、TNF-α代表Th₁型细胞因子,以IL-4、IL-6、IL-8代表Th₂型细胞因子,采用免疫放射和酶联吸附法测定86例肺癌患者血清Th₁和Th₂细胞因子水平的变化,旨在探讨五种细胞因子对肺癌的临床价值,并了解患者免疫功能状态,为肺癌患者的免疫治疗提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 研究对象 我院2001年3月至2002年6月经病理学确诊的86例初治肺癌患者,其中男性59例,女性27例,年龄28~67岁,平均年龄54岁±14岁,按照WHO 1981年组织学分类标准,鳞癌48例,腺癌22例,肺泡癌3例,小细胞肺癌13例。

肺良性病组69例,其中肺结核33例,肺囊肿5例,结核瘤8例,肺结节病4例,肺炎19例,年龄31~73岁,平均年龄54岁±10岁。

正常对照组45例,均为健康查体者,男性25例,女性20例,年龄28~63岁,平均年龄52岁±9岁。

1.2 标本收集 所有受检对象均采集清晨7~8时空腹肘静脉血3ml,离心分离血清,放置-40℃冰箱保存待查。

1.3 检测方法 IL-6、IL-8、TNF-α采用免疫放射法检测,试剂盒由中国同位素总公司北京北方生物所提供;IL-2、IL-4采用ELISA法,试剂盒由美国Genzyme

公司提供,并由专人严格按说明书操作进行。各细胞因子检测的正常值均由ROC(receiver operating characteristic curve)曲线确定。

1.4 统计 采用均数 $\bar{x} \pm s$ 的t检验及方差分析。

2 结果

2.1 血清细胞因子正常值 均由ROC曲线求得,取敏感性最高而假阳性相对最低的一点为正常值:IL-2、IL-4、IL-6、IL-8、TNF-α分别为69.3 μg/L、60.9 μg/L、0.23 μg/L、0.35 μg/L、0.93 μg/L。

2.2 肺癌组、肺良性病组及正常对照组血清细胞因子检测结果 各组患者IL-2、IL-4、IL-6、IL-8、TNF-α检测结果见表1。肺癌组血清IL-2和IL-6的水平显著低于正常对照组(t值分别为2.76和3.39, P<0.01),肺癌组血清IL-2还低于肺良性病组(P<0.01),肺癌组血清IL-8、IL-4和TNF-α的水平明显高于肺良性病组和正常对照组(t值分别为4.89、4.10、3.76, P均<0.01),肺良性病组和正常对照组之间的血清IL-2、IL-4、IL-8和TNF-α未见明显差异(P>0.05),肺良性病组血清IL-6与正常对照组有明显差异(P<0.05),肺癌组血清IL-6与肺良性病组无明显差异(P>0.05),五种细胞因子水平在不同性别和不同年龄之间无明显差异(P>0.05)。

2.3 不同组织类型肺癌患者血清细胞因子水平的比较 表2结果显示,肺癌患者不同组织类型间细胞因子比较无显著性差异(P>0.05)。

2.4 血清细胞因子水平与肺癌TNM分期的关系 由表3可见,肺癌患者不同分期间血清五种细胞因子比较无显著性差异(P>0.05),与正常对照组相比则有显著性差异(P<0.01)。

表1 肺癌患者、肺良性病患者和正常人血清细胞因子水平的比较($\bar{x} \pm s$)

Tab 1 Comparison of serum cytokine levels among lung cancer group, benign pulmonary disease group and normal group ($\bar{x} \pm s$)

Group	n	IL-2(μg/L)	IL-4(μg/L)	IL-6(μg/L)	IL-8(μg/L)	TNF-α(μg/L)
Lung cancer	86	24.6±12.0	254.2±78.0	0.13±0.04	0.49±0.16	2.76±1.12
Benign disease	69	71.1±25.4	63.6±18.6	0.15±0.04	0.36±0.18	0.96±0.20
Normal	45	69.3±19.5	60.9±19.6	0.23±0.05	0.35±0.07	0.93±0.19

Lung cancer group vs normal group: all P<0.01; lung cancer group vs benign disease group: P<0.01 for IL-2, IL-4, IL-8 and TNF-α, P>0.05 for IL-6; benign disease group vs normal group: P>0.05 for IL-2, IL-4, IL-8 and TNF-α, P<0.05 for IL-

表 2 不同组织类型肺癌患者血清细胞因子水平的比较($\bar{x} \pm s$)

Tab 2 Comparison of serum cytokines among different histological types of lung cancer ($\bar{x} \pm s$)

Histology	n	IL-2($\mu\text{g/L}$)	IL-4($\mu\text{g/L}$)	IL-6($\mu\text{g/L}$)	IL-8($\mu\text{g/L}$)	TNF α ($\mu\text{g/L}$)
Squamous cell carcinoma	48	23.4 \pm 19.3	293.3 \pm 67.2	0.15 \pm 0.07	0.53 \pm 0.18	2.85 \pm 1.14
Adenocarcinoma	22	20.6 \pm 16.8	261.0 \pm 69.4	0.16 \pm 0.05	0.49 \pm 0.15	2.57 \pm 1.12
Small cell lung cancer	13	18.2 \pm 9.3	280.7 \pm 93.4	0.14 \pm 0.06	0.48 \pm 0.09	2.60 \pm 1.14
Alveolar carcinoma	3	19.4 \pm 7.8	278.2 \pm 71.6	0.14 \pm 0.03	0.49 \pm 0.11	2.72 \pm 1.11
t value		0.35	0.38	0.07	0.27	1.19
P value		> 0.05	> 0.05	> 0.05	> 0.05	> 0.05

2.5 血清细胞因子诊断肺癌的真实价值 由表 4 得知,从特异性、灵敏度综合看以 IL-8 和 IL-4 较好,联合应用 IL-8、IL-2 和 IL-4 灵敏度可提高到 79.7%,而

特异性为 87.4%,以上五种细胞因子同时检测时,灵敏度为 88.9%,特异性为 70.8%。

表 3 不同分期肺癌患者血清细胞因子的水平($\bar{x} \pm s$)

Tab 3 Comparison of serum cytokines levels among different stages of lung cancer ($\bar{x} \pm s$)

Group	n	IL-2($\mu\text{g/L}$)	IL-4($\mu\text{g/L}$)	IL-6($\mu\text{g/L}$)	IL-8($\mu\text{g/L}$)	TNF α ($\mu\text{g/L}$)
Normal	45	69.3 \pm 19.5	60.9 \pm 19.6	0.23 \pm 0.05	0.35 \pm 0.07	0.93 \pm 0.19
I	9	21.1 \pm 18.7*	283.2 \pm 78.4*	0.20 \pm 0.04*	0.51 \pm 0.12*	2.37 \pm 1.15*
II	17	20.0 \pm 18.6*	280.4 \pm 81.3*	0.18 \pm 0.07*	0.49 \pm 0.12*	2.83 \pm 1.17*
III	29	19.2 \pm 17.4*	278.1 \pm 83.4*	0.19 \pm 0.03*	0.47 \pm 0.09	2.84 \pm 1.14*
IV	31	18.7 \pm 19.3*	279.2 \pm 84.5*	0.18 \pm 0.05*	0.49 \pm 0.12	2.81 \pm 1.10*

P < 0.01 vs normal

表 4 5 种细胞因子对诊断肺癌的真实价值

Tab 4 value on diagnosing lung cancer by five cytokines

Cytokines	Clinical value	Sensitivity	Specificity	+ PV	- PV
IL-2	69.3	66.4%	79.4%	82.7%	61.0%
IL-4	60.9	70.5%	81.3%	84.3%	65.1%
IL-6	0.23	72.7%	74.4%	78.2%	67.0%
IL-8	0.35	73.6%	83.6%	86.8%	69.0%
TNF α	0.93	63.5%	71.3%	75.4%	59.0%

3 讨论

T 辅助细胞分为 Th₁ 和 Th₂ 两个功能性亚群, Th₁ 介导机体的细胞免疫, Th₂ 介导机体的体液免疫, 两者对机体细胞免疫和体液免疫各起着重要的协调作用。在正常的情况下, Th₁ 和 Th₂ 处于相对稳定状态, 当 Th₁ 向 Th₂ 漂移, 机体的抗肿瘤免疫将受到严重干扰^[1]。因此, 测定 Th₁ 和 Th₂ 的功能, 将有助于了解肺癌患者的免疫状态、预测预后, 同时也为肿瘤生物治疗提供较客观的理论依据。目前通常以 IL-2 作为 Th₁ 特异细胞因子来评判 Th₁ 细胞功能, 以 IL-4 作为 Th₂ 特异性细胞因子评判 Th₂ 细胞功能^[2]。笔者采用 IL-2、TNF α 和 IL-4、IL-6、IL-8 细胞因子分别来评判 Th₁ 和 Th₂ 细胞功能。这五种细胞因子诊断肺癌的真实价值, 其灵敏度依次为 IL-8 > IL-6 > IL-4 > IL-2 > TNF α 特异性为 IL-8 > IL-4 > IL-2 > IL-6 > TNF α

同时检测五种细胞因子, 灵敏度为 88.9%, 特异性为 70.8%, 而联合应用 IL-8、IL-4 及 IL-2 时灵敏度为 78.7%, 特异性为 87.4%, 笔者认为此三项组合较理想。肺癌患者 IL-6 的水平与肺良性病有重叠现象, 因此其诊断价值较小。本文结果显示, 肺癌患者 IL-2 水平低于肺良性病及正常对照组, IL-4、IL-6、IL-8 高于正常对照组, 表明在肺癌病程的发生发展过程中 Th₁ 细胞数量减少, 同时功能低下, Th₂ 细胞数量增多, 而功能增高, 即由 Th₁ 向 Th₂ 漂移, 显示细胞免疫功能下降, 这可能与肿瘤细胞直接分泌 Th₂ 因子促使 Th₁ 向 Th₂ 漂移有关。

近年来有文献报道, 若 Th₂ 型因子占优势状态, 机体抗肿瘤免疫将受到影响, 如肿瘤细胞发生免疫逃避, Th₁ 型因子的产生受抑, 机体的细胞免疫功能削弱^[3], 其中 IL-4 和 IL-8 被证明是抑制 Th₁ 型细胞因子及介导 Th₂ 型细胞发育的主要细胞因子 而 IL-6 的

存在则有利于 IL-4 和 IL-8 的表达。肿瘤微环境中各种因子可影响 Th₁/Th₂ 状态。Anderson 等^[5] 认为 IL-8 是一种促血管生成因子, 通过自分泌或旁分泌促进肿瘤血管形成, 它的产生是癌细胞与基质中纤维细胞相互作用的结果。作者提出纤维细胞可能是癌血管生成因子的一个非常重要的微环境。但据 Iguchi 等^[6] 报道, 在肺癌骨转移细胞中, IL-8 过表达可抑制破骨细胞再吸收, 从而抑制其骨转移, Veltri 等^[7] 的研究发现 IL-8 能引起肿瘤浸润淋巴细胞 (tumor-infiltrating lymphocyte, TIL) 聚集到肿瘤部位而发生抑瘤效果。Ito 等^[4] 报道变异 Th₁ 型细胞促进 Th₂ 型细胞分化时产生细胞因子使肿瘤浸润淋巴细胞, 使 Th₂ 占主导状态。本研究结果提示, 肺癌患者 IL-8 的水平显著升高, 最高为 1.54 μg/L, 是肺良性病及正常对照人群的 3 倍, 表明 IL-8 是促进 Th₂ 分化的主要细胞因子, 我们认为, 肿瘤细胞通过分泌某些可溶性因子首先在局部发生 Th₂ 细胞因子, 增加反应, 产生大量的 IL-4 和 IL-8, 进一步促进 Th₂ 细胞分化或 Th₂ 优势的细胞免疫反应, 造成瘤负荷机体 Th₂ 因子的强势表达状态。其真正机制不清, 可能是肺癌生物学行为及 IL-8 表达出的高亲和依赖性有关。

机体的细胞免疫是抗肿瘤免疫的主要方面, 其中 IL-2 和 IL-12 刺激自然杀伤细胞 (natural killer, NK) 或提高细胞毒性 T 淋巴细胞 (cytotoxic lymphocyte, CTL) 的杀瘤活性, 激活肿瘤浸润淋巴细胞, 促进肿瘤浸润淋巴细胞增殖和提高其杀伤活性, 肿瘤浸润淋巴细胞对肿瘤细胞具有特异性杀伤能力, 杀伤活性比杀伤细胞 (LAK) 高 50~100 倍, IL-2 是由 Th₁ 细胞直接分泌, 具有特异性抗肿瘤作用。新近报道 IL-18/Caspase 1 可诱导 Th₀ 向 Th₂ 分化介导免疫应答^[8,9], 粘附分子 1 (ICAM-1) 可作为第二共刺激分子, 主要引起 Th₁ (而非 Th₂) 活化分泌细胞因子^[10]。Th₁ 与 Th₂ 优先应答的机制不明, 可能和佐剂相关, 不完全弗氏佐剂 (IFA) 与完全弗氏佐剂 (CFA) 加卵白蛋白 (OVA) 免疫 BALB/C 小鼠, 发现 Th₁/Th₂ 应答不同, 偏向于持久的细胞免疫^[11] Th₁ 反应占强势。而 IL-12 是诱导 Th₁ 细胞发育的主要因子, 由此可见, 机体保持良好的抗肿瘤状态, Th₁ 细胞反应需占据优势。本文结果提示肺癌患者早期即出现 Th₁ 向 Th₂ 漂移, IL-2、IL-4、IL-8

等 Th 细胞因子的检测对肺癌的早期诊断有较好的敏感性和特异性, 联合检测意义更大, 同时要想获得有效的抗肿瘤效应, 必须首先活化 Th₁ 细胞, 逆转肿瘤 Th₂ 细胞, 通过纠正这些免疫失常将成为肺癌治疗的一个新的途径。

参 考 文 献

- 1 Liu J, Wei MH, Tian ZG. Th₁/Th₂ excursion and anti-tumor immunity. *For Med Sci Cancer Sect*, 1997, 24(3): 168-170. [刘杰, 魏明海, 田志刚. Th₁/Th₂ 漂移与抗肿瘤免疫. *国外医学肿瘤学分册*, 1997, 24(3): 168-170.]
- 2 McHugh S, Deighton J, Rifkin I, et al. Kinetics and functional implications of Th₁ and Th₂ cytokine production following activation of peripheral blood mononuclear cells in primary culture. *Eur J Immunol*, 1996, 26(6): 1260-1265.
- 3 Chen YM, Yang WK, Whang Peng J, et al. Restoration of the immunocompetence by IL-2 activation and TCR-CD3 engagement of the in vivo anergized tumor specific CTL from lung cancer patients. *J Immunother*, 1997, 20(5): 354-364.
- 4 Ito N, Nakamura H, Metsugi H, et al. Dissociation between T helper type 1 and type 2 differentiation and cytokine production in tumor infiltrating lymphocytes in patients with lung cancer. *Surg Today*, 2001, 31(5): 390-394.
- 5 Anderson IC, Mari SE, Broderick RJ, et al. The angiogenic factor interleukin 8 is induced in non-small cell lung cancer/pulmonary fibroblast cocultures. *Cancer Res*, 2000, 60(2): 269-272.
- 6 Iguchi H, Ono M, Matsushima K, et al. Overproduction of IL-8 results in suppression of bone metastasis by lung cancer cells *in vivo*. *Int J Oncol*. 2000, 17(23): 2319-2323.
- 7 Veltri RW, Miller MC, Zhao G, et al. Interleukin 8 serum levels in patients with benign prostatic hyperplasia and prostate cancer. *Urology*, 1999, 53(1): 139-147.
- 8 Nakanishi K. Regulation of Th₁ and Th₂ immune responses by IL-18. *Kekkaku*, 2002, 77(2): 87-93.
- 9 Nakanishi K, Yoshimoto T, Tsutsui H, et al. Interleukin 18 is a unique cytokine that stimulates both Th₁ and Th₂ responses depending on its cytokine milieu. *Cytokine Growth Factor Rev*, 2001, 12(1): 53-72.
- 10 Chirathaworn C, Kohlmeier JE, Tibbetts SA, et al. Stimulation through intercellular adhesion molecule 1 provides a second signal for T cell activation. *J Immunol*, 2002, 168(11): 5530-5537.
- 11 Shihaki A, Katz SI. Induction of skewed Th₁/Th₂ T-cell differentiation via subcutaneous immunization with Freund's adjuvant. *Exp Dermatol*, 2002, 11(2): 126-134.

(收稿: 2003-08-15 修回: 2003-11-19)

(本文编辑 张世雯)