

Th17和FOXP3⁺T在胃黏膜相关淋巴组织淋巴瘤发病中的意义

陈广侠^① 姜葵^① 周璐^① 徐东波^② 王邦茂^①

摘要 目的:探讨Th17和FOXP3⁺T(Treg)阳性细胞在慢性胃炎、淋巴细胞性胃炎和胃黏膜相关淋巴组织(MALT)淋巴瘤中的意义。**方法:**采用免疫组织化学方法检测18例慢性胃炎、17例淋巴细胞性胃炎和18例低度恶性胃MALT淋巴瘤组织中Th17及FOXP3⁺T细胞的表达情况。**结果:**Th17在慢性胃炎组、淋巴细胞性胃炎组和胃MALT淋巴瘤组阳性细胞数分别为(11.2±2.4)、(15.1±5.3)和(16.8±5.4)个/每高倍镜视野,胃MALT淋巴瘤与慢性胃炎相比,差别有统计学意义($P < 0.05$),但胃MALT淋巴瘤与淋巴细胞性胃炎间差别无统计学意义($P > 0.05$)。FOXP3⁺T在慢性胃炎组、淋巴细胞性胃炎组和胃MALT淋巴瘤组的细胞数分别为(5.1±2.7)、(22.4±4.0)和(30.8±7.2)个/每高倍镜视野,三组间两两比较差异均有统计学意义($P < 0.05$)。FOXP3⁺T和Th17细胞数量改变在胃MALT淋巴瘤组呈正相关($r = 0.308, P < 0.05$)。**结论:**FOXP3⁺T和Th17细胞数量在淋巴细胞性胃炎和胃MALT淋巴瘤组织中增多,可能在胃MALT淋巴瘤的发生、发展过程中发挥作用。

关键词 Th17细胞 FOXP3⁺调节T细胞 胃黏膜相关淋巴组织淋巴瘤 免疫组织化学

doi:10.3969/j.issn.1000-8179.2012.12.005

Significance of Th17 and FOXP3⁺ Regulatory T Cells in Pathogenesis of Gastric Mucosa-Associated Lymphoid Tissue Lymphoma

Guangxia CHEN¹, Kui JIANG¹, Lu ZHOU¹, Dongbo XU², Bangmao WANG¹

Correspondence to: Kui JIANG; E-mail: jiangkui66@sohu.com

¹Department of Gastroenterology, Tianjin Medical University General Hospital, Tianjin 300052, China

²Department of Pathology, Tianjin Medical University, Tianjin 300052, China

Abstract Objective: To investigate the role of Th17 and Treg in chronic gastritis, lymphocytic gastritis, and low-grade gastric mucosa-associated lymphoid tissue (MALT) lymphoma. **Methods:** The expression of FOXP3⁺Treg and Th17 in 18 chronic gastritis, 17 lymphocytic gastritis, and 18 gastric MALT lymphoma cases were detected by immunohistochemical staining. **Results:** IL-17 expression increased in the chronic gastritis, lymphocytic gastritis, and gastric MALT lymphoma cases. However, no statistical significance was found in IL-17 expression between lymphocytic gastritis and gastric MALT lymphoma. The expression of FOXP3⁺Treg cells increased in the chronic gastritis, lymphocytic gastritis, and gastric MALT lymphoma cases ($P < 0.05$) (corresponding to 30.8 ± 7.2 , 22.4 ± 4.0 , and 5.1 ± 2.7 per high magnification field, respectively). The density of FOXP3⁺Treg cells was positively correlated with the expression of IL-17 ($r = 0.308, P < 0.05$). **Conclusion:** Th17 and Treg may play certain roles in the development of gastric MALT lymphoma.

Keywords Th17 cells; FOXP3⁺T; Gastric mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma; Immunohistochemistry

胃MALT淋巴瘤是近年来逐渐成为研究热点的一种惰性恶性淋巴瘤,是淋巴结外较常见的淋巴肿瘤,约占结外淋巴瘤的30%~50%^[1],发病率呈上升趋势,但胃MALT淋巴瘤的发病机制尚欠清楚。目前,胃MALT淋巴瘤的发病是否与免疫调节有关,能否通过免疫调节治疗胃MALT淋巴瘤等问题探讨较少。FOXP3⁺调节性T细胞(regulatory T cells, Treg)是具有免疫抑制功能的CD4⁺T细胞亚群,属于肿瘤相关抑制性细胞,参与肿瘤免疫逃逸机制^[2]。现发现多数肿瘤患者体内Treg细胞数目增多,并抑制宿主的抗肿瘤免疫应答^[3]。Th17细胞是以分泌IL-17为特征

的CD4⁺辅助性T细胞亚群,有研究认为其在调控肿瘤免疫应答方面也发挥了作用^[4-5]。但目前尚缺乏IL-17、FOXP3⁺与胃MALT淋巴瘤方面的研究。本实验拟通过检测FOXP3⁺T和Th17细胞在胃MALT淋巴瘤、淋巴细胞性胃炎和慢性胃炎组织中的表达,观察FOXP3⁺T和Th17细胞在胃MALT淋巴瘤的表达,为相关研究和寻找新的MALT淋巴瘤治疗线索和途径提供数据支持。

1 材料与方法

1.1 病例资料

收集2008年1月~2011年1月经病理组织学检

作者单位:①天津医科大学总医院消化内科(天津市300052);②天津医科大学病理科

通信作者:姜葵 jiangkui66@sohu.com

查证实的低度恶性胃 MALT 淋巴瘤 18 例、淋巴细胞性胃炎 17 例和慢性胃炎 18 例(表 1)。胃 MALT 淋巴瘤患者标本取自病变的边缘至少 6 块组织,淋巴细胞性胃炎患者取糜烂明显部位 2 块组织,慢性胃炎患者取胃窦部位 2 块组织。每例标本均进行 IL-17 和 FOXP3 两种染色。所有标本均经 10% 甲醛固定,常规石蜡包埋备用。所有患者均被告知此研究内容,并签署了知情同意书。

表 1 53 例病例的临床资料

Table 1 Clinical data of 53 patients

组织类型	例数	男:女	年龄/岁
慢性胃炎	18	11:7	50.1 ± 12.2
淋巴细胞性胃炎	17	8:9	56.9 ± 15.3
胃 MALT 淋巴瘤	18	8:10	57.0 ± 18.6

1.2 主要试剂

FOXP3 多克隆兔抗人抗体(浓缩型),IL-DAB 显色剂,苏木素染液,通用型二抗均购自北京中杉公司。IL-17 多克隆兔抗人抗体(浓缩型),购自武汉博士德公司。工作浓度均为 1:200。

1.3 方法

免疫组织化学 SP 二步法:标本行石蜡包埋,连续切片,片厚 3 μm,用 0.3% H₂O₂ 孵育 10 min,柠檬酸缓冲液微波修复,IL-17 多克隆兔抗人抗体和 FOXP3 多克隆抗体 4℃ 过夜孵育,羊兔通用型二抗 37℃ 孵育 40 min, DAB(棕黄)显色,苏木素复染、水洗、吹干,树胶封片。显微镜下观察结果。

1.4 结果判断

FOXP3⁺细胞在细胞核着棕黄色,IL-17 阳性细胞于细胞浆着棕黄色。由两人双盲法计数,具体计数方法如下:在病变典型处用显微测微尺随机计数单位面积组织内的阳性细胞数,连续计数 5 个高倍视野(×400)。经两名研究者重复计数(每项结果相除以二),得以确认。

1.5 统计学方法

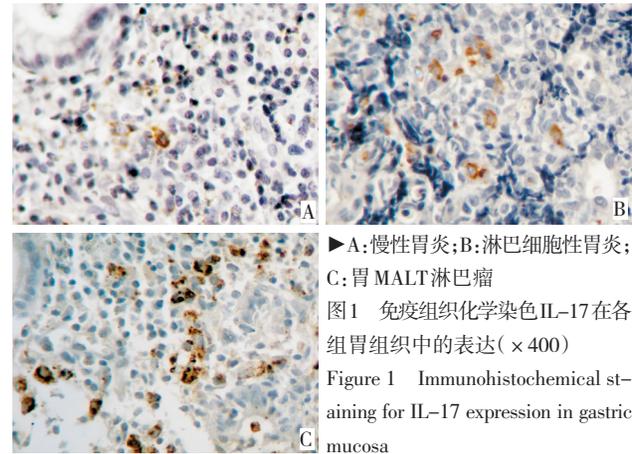
应用 SPSS 17.0 统计软件进行统计学处理。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示。组间比较采用 ANOVA 方差分析,且行方差齐性检验,采用多重比较 Dunnett *t* 检验法。相关分析采用 Spearman 相关分析法,以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 IL-17 阳性细胞

IL-17 阳性细胞形态完整,结构清晰, DAB 显色细胞浆呈棕黄色(图 1)。IL-17 在慢性胃炎组、淋巴

细胞性胃炎组和胃 MALT 淋巴瘤组平均阳性细胞数分别为(11.2±2.4)、(15.1±5.3)和(16.8±5.4)个/每高倍镜视野,各组间采用 ANOVA 方差分析比较得出胃 MALT 淋巴瘤组与慢性胃炎组($P=0.004$),淋巴细胞性胃炎组与慢性胃炎组($P=0.006$)差异有统计学意义,但胃 MALT 淋巴瘤组与淋巴细胞性胃炎组差异无统计学意义(表 2)。



►A:慢性胃炎;B:淋巴细胞性胃炎;C:胃 MALT 淋巴瘤
图 1 免疫组织化学染色 IL-17 在各组胃组织中的表达(×400)
Figure 1 Immunohistochemical staining for IL-17 expression in gastric mucosa

表 2 IL-17 和 FOXP3⁺ 在胃 MALT 淋巴瘤、淋巴细胞性胃炎和慢性胃炎组织中的表达

Table 2 IL-17 and FOXP3⁺ expression in gastric MALT lymphoma, lymphocytic gastritis, and chronic gastritis

疾病类别	例数	FoxP3 ⁺ 细胞数(个)	IL-17 细胞数(个)
慢性胃炎	18	5.1 ± 2.7 ^{ab}	11.2 ± 2.4
淋巴细胞性胃炎	17	22.4 ± 4.0 ^b	15.1 ± 5.3
胃 MALT 淋巴瘤	18	30.8 ± 7.2 ^a	16.8 ± 5.4

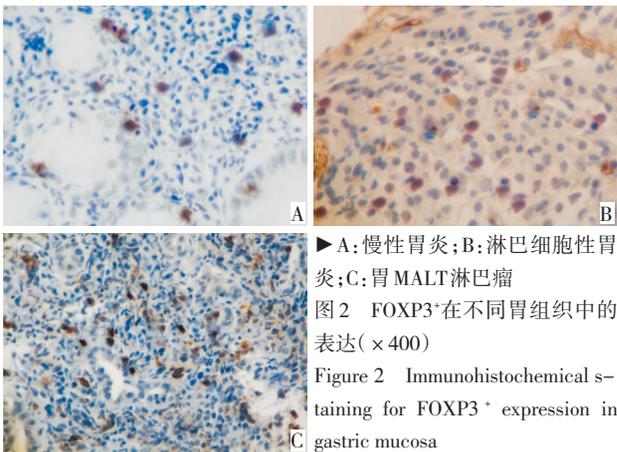
a:与淋巴细胞性胃炎相比较, $P < 0.05$;b:与胃 MALT 淋巴瘤相比较, $P < 0.05$

2.2 FOXP3⁺T 细胞

FOXP3⁺T 细胞形态完整,结构清楚, DAB 显色胞核呈棕黄色(图 2)。FOXP3⁺T 在慢性胃炎组、淋巴细胞性胃炎组和胃 MALT 淋巴瘤组的平均阳性细胞数分别为(5.1±2.7)、(22.4±4.0)和(30.8±7.2)个/每高倍镜视野。各组间采用 ANOVA 方差分析得出胃 MALT 淋巴瘤组与慢性胃炎组($P=0.0003$),淋巴细胞性胃炎组与慢性胃炎组($P=0.0008$)及胃 MALT 淋巴瘤组与淋巴细胞性胃炎组($P=0.001$)间差异均有统计学意义($P < 0.05$)(表 2)。

2.3 IL-17 与 FOXP3⁺T 阳性表达相关性

经 Spearman 相关分析,IL-17 阳性细胞和 FOXP3⁺Treg 阳性细胞数量改变在胃 MALT 淋巴瘤组和淋巴细胞性胃炎组组织中呈正相关性($r=0.308, P < 0.05$)。



▶ A:慢性胃炎;B:淋巴细胞性胃炎;C:胃MALT淋巴瘤
图2 FOXP3⁺在不同胃组织中的表达(×400)

Figure 2 Immunohistochemical staining for FOXP3⁺ expression in gastric mucosa

3 讨论

大量流行病学调查及研究^[6]显示,HP的感染与胃MALT淋巴瘤的发病密切相关。在胃MALT淋巴瘤形成的早期阶段,HP作为抗原刺激对HP敏感的T淋巴细胞产生细胞因子,诱导B淋巴细胞单克隆性增生。

IL-17是Th17细胞分泌和发挥作用的主要细胞因子,也是调控炎症反应和肿瘤免疫应答的关键分子之一^[7]。Kimang'a等^[8]发现HP相关性胃炎患者中IL-17A和IL-17F表达上调。Shiomi等^[9]利用HP感染IL-17敲除小鼠模型的研究发现,在IL-17基因缺失的小鼠中中性粒细胞浸润程度较野生型小鼠低。研究发现IL-17可通过刺激血管内皮细胞迁移和血管索形成,上调由成纤维细胞或肿瘤细胞生成的前血管生成因子的表达,从而促进肿瘤血管的生成。李晓红等^[10]发现,IL-17表达与上皮性卵巢癌的FIGO分期分级相关,提示IL-17的上调可能与肿瘤的进展和预后有关。本研究显示IL-17在胃MALT淋巴瘤组织中的表达较慢性胃炎组明显增加。

FOXP3为特异性表达于Treg细胞表面的标志蛋白,对Treg细胞的发生、发育及生物学功能的发挥起着重要作用^[11]。Kindlund等^[12]及Kandulski等^[13]检测到HP感染后胃肠道黏膜内FOXP3⁺调节性T细胞增加。有学者发现在胃癌患者局部组织中FOXP3⁺Treg表达增高,FOXP3⁺Treg细胞/CD8⁺比例可作为胃癌预后的独立预测因素,并认为FOXP3⁺T细胞能够抑制宿主的抗癌免疫应答。有研究发现FOXP3⁺Treg细胞的数量在肿瘤浸润淋巴细胞中显著升高。本研究结果发现,胃MALT淋巴瘤组和淋巴细胞性胃炎组所含FOXP3⁺T细胞数对比慢性胃炎组显著升高。相关研究证明FOXP3⁺T在非生发中心型弥漫性大B细胞淋巴瘤中表达增加,且与对照组相比有差异性,并通过分析认为其阳性细胞数目对于弥漫性大B细胞淋巴瘤的预后判断具有一定的意义。Treg细胞数量的增

加,机体免疫抑制增强,免疫监视功能降低,从而造成肿瘤免疫逃逸,导致肿瘤发生发展。

有研究者认为,Th17细胞和Treg细胞在功能上互相拮抗,Th17似乎是自身免疫性疾病的启动细胞,而Treg细胞仅能减轻Th17所诱发的疾病症状。本组中IL-17阳性细胞和FOXP3⁺T阳性细胞数量改变在胃MALT淋巴瘤组和淋巴细胞性胃炎组组织中呈正相关性。在胃MALT淋巴瘤患者中二者如何发挥作用,还需要进一步的深入研究。

参考文献

- Otter R, Bieger R, Kluin PM, et al. Primary gastrointestinal non-Hodgkin's lymphoma in a population-based registry[J]. *Br J Cancer*, 1989, 60(5): 745-755.
- 龚非力.医学免疫学[M].北京:科学出版社,2009:287-296.
- De Panfilis G, Campanini N, Santini M, et al. Phase-and-stage-related proportions of T cells bearing the transcription factor FOXP3 infiltrate primary melanoma[J]. *J Invest Dermatol*, 2008, 128(3): 676-684.
- Strzêpa A, Szczepanik M. IL-17-expressing cells as a potential therapeutic target for treatment of immunological disorders[J]. *Pharmacol Rep*, 2011, 63(1): 30-44.
- Muranski P, Restifo NP. Does IL-17 promote tumor growth[J]. *Blood*, 2009, 114(2): 231-232.
- Asenjo LM, Gisbert JP. Prevalence of Helicobacter pylori infection in gastric MALT lymphoma: a systematic review[J]. *Rev Esp Enferm Dig*, 2007, 99(7): 398-404.
- Kryczek I, Banerjee M, Cheng P, et al. Phenotype, distribution, generation, and functional and clinical relevance of Th17 cells in the human tumor environments[J]. *Blood*, 2009, 114(6): 1141-1149.
- Kimang'a A, Revathi G, Kariuki S, et al. IL-17A and IL-17F Gene Expression is Strongly Induced in the Mucosa of H.pylori-Infected Subjects From Kenya and Germany[J]. *Basic Immunol*, 2010, 72(6): 522-528.
- Shiomi S, Toriie A, Imamura S, et al. IL-17 is involved in Helicobacter pylori-Induced Gastric inflammatory Responses in a Mouse Model[J]. *Helicobacter*, 2008, 13(6): 518-424.
- 李晓红,陆秀芳.IL-17在卵巢上皮性癌中的表达及临床意义[J].*中国现代医药志*,2010,12(10):52-54.
- 董林,王艳萍,王金良,等.FOXP3的结构、表达调控及在免疫抑制中的功能研究[J].*现代免疫学*,2011,31(2):164-167.
- Kindlund B, Sjöling A, Hansson M, et al. FOXP3-expressing CD4(+) T-cell numbers increase in areas of duodenal gastric metaplasia and are associated to CD4(+) T-cell aggregates in the duodenum of Helicobacter pylori-infected duodenal ulcer patients[J]. *Helicobacter*, 2009, 14(3): 192-201.
- Kandulski A, Wex T, Kuester D, et al. Naturally occurring regulatory T cells (CD4⁺, CD25^{high}, FOXP3⁺) in the antrum and cardia are associated with higher H. pylori colonization and increased gene expression of TGF- β 1[J]. *Helicobacter*, 2008, 13(4): 295-303.

(2011-12-18收稿)

(2012-06-05修回)

(本文编辑:王展宏)