

• 临床检验研究论著 •

IL-17 在乳腺癌中的表达及意义^{*}

陈光辉¹, 陈建安¹, 陈 慧¹, 曾今诚²

(1. 南方医科大学附属小榄医院, 广东中山 528415; 2. 广东医学院检验医学研究所/广东省医学分子诊断重点实验室, 广东东莞 523808)

摘 要:目的 探讨白细胞介素 17(IL-17)在乳腺癌患者血清和 T 细胞中的表达及与乳腺癌功能指标的相关性。方法 采用流式细胞仪分析乳腺癌患者外周血 CD3⁺CD4⁺IL-17⁺T 细胞百分数;ELISA 法测定血清 IL-17 水平;化学发光免疫分析法检测 CA153 和 CA125 的水平,并分析 IL-17 水平与各指标的相关性。结果 乳腺癌患者外周血中 CD3⁺CD4⁺IL-17⁺T 细胞百分数与健康对照组差异有统计学意义($P<0.05$);血清 IL-17 水平与健康对照组差异有统计学意义($P<0.05$);血清 IL-17 水平与 CD3⁺CD4⁺IL-17⁺T 细胞百分数及 CA153 水平均呈正相关;血清 IL-17 水平与 CA125 水平无显著相关性。结论 IL-17 水平与乳腺癌有关。

关键词:白细胞介素 17; 乳腺癌; T 细胞

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2014.20.005

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2014)20-2732-02

Expression and significance of IL-17 in breast cancer^{*}

Chen Guanghui¹, Chen Jianan¹, Chen Hui¹, Zeng Jincheng²

(1. Affiliated Xiaolan Hospital, Southern Medical University, Zhongshan, Guangdong 528415, China;

2. Research Institute of Laboratory Medicine/ Guangdong Provincial Key Laboratory for

Medical Molecular Diagnosis, Guangdong Medical College, Dongguan, Guangdong 523808, China)

Abstract:Objective To investigate the expression of IL-17 in the serum and T cells of the patients with breast cancer and its correlation with breast cancer functional indicators. **Methods** The flow cytometry analysis was adopted to detect the percentage of peripheral blood CD3⁺CD4⁺IL-17⁺T cells in breast cancer patients; the ELISA method was used to detect serum IL-17 content; the chemiluminescence immunoassay was used to detect CA153 and CA125 levels. The correlation between IL-17 with various indicators was analyzed. **Results** The percentage of CD3⁺CD4⁺IL-17⁺T cell in peripheral blood of the breast cancer patients had statistically significant difference compared with the healthy control group($P<0.05$); serum IL-17 level had statistically significant difference compared with the healthy control group($P<0.05$); serum IL-17 level was positively correlated with the percentage of CD3⁺CD4⁺IL-17⁺T cells and the CA153 level; IL-17 level had no significant correlation with serum CA125 level. **Conclusion** The IL-17 expression level is associated with breast cancer.

Key words:interleukin 17; breast cancer; T cell

在过去的二十年,虽然乳腺癌的诊断和治疗取得重大进展,但仍是女性病死率最高的常见恶性肿瘤,严重威胁着女性的身心健康^[1]。相关研究已报道乳腺癌术后复发转移率为10%~40%^[2],因此,研究新的、更有效的诊断和治疗方法具有重要意义。最近有学者总结,人类肿瘤的特征主要有增殖信号异常活化、逃避生长抑制、逃避免疫监视、无限的复制、促使炎性发生、激活侵袭和转移、诱导血管生成、基因组不稳定和突变、抗细胞死亡和细胞能量控制失调等^[3]。白细胞介素 17(IL-17)在炎症和自身免疫性疾病中发挥了积极的作用。据报道,在肿瘤细胞中 IL-17 通过增强抗肿瘤免疫力抑制肿瘤进展,或通过促进炎症血管生成促进肿瘤进展^[4]。本研究以乳腺癌患者为研究对象,检测患者血清 IL-17 水平,并探讨 IL-17 在乳腺癌患者血清和 T 细胞中的表达及与乳腺癌功能相关指标的相关性。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集南方医科大学附属小榄医院 2010 年 5

月至 2011 年 12 月月经乳腺组织影像学诊断、活检证实需进行乳腺癌根治术治疗的乳腺导管癌患者 32 例,年龄 32~65 岁,平均 44.5 岁,术后行化疗或联合内分泌治疗(ER、PR 阳性者)。健康对照组 30 例为健康体检女性,年龄 24~67 岁,平均 45.3 岁。全部标本在术前和术后均进行 EDTA-K₂ 抗凝管和非抗凝管空腹肘中静脉采血,抗凝管用于淋巴细胞(PBMC)分离,非抗凝管用于血清分离,血清分离后-20℃保存备用,避免反复冻融。

1.2 仪器与试剂 Ficoll 分离液由北京索莱宝公司提供,PE-Cy7 标记鼠抗人 CD3 抗体、FITC 标记鼠抗人 CD4 抗体、PE 标记鼠抗人 IL-17A 抗体、PE 标记鼠抗人 IgG 同型抗体和胞浆/胞核蛋白染色试剂盒由 eBioscience 公司提供,IL-17 ELISA 检测试剂盒由 GBD 公司提供,CA153 和 CA125 定量检测试剂盒由雅培公司提供,流式细胞仪由 BD 公司提供,Cobas e601 型全自动电化学发光免疫分析系统由罗氏公司提供。

1.3 方法 将 2 mL EDTA-K₂ 抗凝血,室温 2 000 r/min 离

^{*} 基金项目:中山市科技计划项目(20113A026)。 作者简介:陈光辉,男,主任技师,主要从事肿瘤分子诊断技术研究。

心 10 min,弃血浆,小心将白膜层转移至含 Ficoll 分离液的 EP 管,进行 PBMC 分离。同样将 2 mL 非抗凝血,室温 2 000 r/min离心 10 min,收集上清液至-20 ℃保存备用。流式检测 CD3⁺CD4⁺IL-17⁺T 细胞表达 PBMC 分离后,取适量细胞进行 PMA(25 ng/mL)和离子霉素(1 μg/mL)刺激后,进行 CD3 和 CD4 染色,然后按胞浆/胞核蛋白染色试剂盒操作说明进行胞内 IL-17 染色,并作同型对照。血清 IL-17、CA153 和 CA125 检测均按试剂盒操作说明书进行,计算标准曲线并统计结果。

1.4 统计学处理 采用 SPSS17.0 对计量资料进行统计学分析,组间均数比较采用 *t* 检验,*P*<0.05 为差异有统计学意义。相关性分析采用 Pearson 相关。

2 结 果

2.1 外周血 CD3⁺CD4⁺IL-17⁺T 细胞百分数测定 流式细胞仪检测显示,乳腺癌患者组外周血 CD3⁺CD4⁺IL-17⁺T 细胞百分数明显高于健康对照组,差异有统计学意义(*P*<0.05)。结果见表 1。

表 1 CD3⁺CD4⁺IL-17⁺T 细胞百分数测定(% , $\bar{x}\pm s$)

分组	<i>n</i>	CD3 ⁺ CD4 ⁺ IL-17 ⁺ T 细胞
乳腺癌患者组	32	1.49±0.13*
健康对照组	30	1.09±0.08

*:*P*<0.05,与健康对照组比较。

2.2 血清 IL-17、CA153 和 CA125 水平测定 ELISA 检测结果显示,乳腺癌患者血清 IL-17 水平明显高于健康对照组,差异有统计学意义(*P*<0.05)。电化学发光免疫分析显示,乳腺癌患者组血清 CA153、CA125 水平均高于健康对照组,差异有统计学意义(*P*<0.05),结果见表 2。

表 2 血清 IL-17、CA153 和 CA125 水平测定($\bar{x}\pm s$)

分组	<i>n</i>	IL-17(pg/mL)	CA153(U/mL)	CA125(U/mL)
乳腺癌患者组	32	282.30±8.50*	23.56±1.23*	24.31±0.94*
健康对照组	30	214.70±9.92	10.59±1.03	8.98±0.74

*:*P*<0.05,与健康对照组比较。

2.3 相关性分析 Pearson 相关性分析显示,患者血清 IL-17 水平与 CA153 水平呈正相关。患者血清 IL-17 水平与 CA125 水平无显著相关性;乳腺癌患者外周血 CD3⁺CD4⁺IL-17⁺T 细胞百分数与血清 IL-17 水平呈正相关。

3 讨 论

近年来,研究者已证实慢性炎症与促进肿瘤转移存在相关性,但具体机制还不清楚。有研究者认为缺氧可能是炎症触发肿瘤转移的一大因素^[4]。由于肿瘤细胞无限制的快速繁殖,促进肿瘤核心部位缺氧,从而触发一系列事件,导致肿瘤内血管生成,这些血管的生成一方面有利于肿瘤对外界营养成分的摄取,另一方面也有利于机体抗肿瘤免疫细胞的输送和功能发挥,因此,炎症在促进肿瘤生长和抗肿瘤免疫中均具有重要的作用。炎症相关因子 IL-17 主要由 Th17 细胞分泌,此外 NKT 细胞、CD8⁺T 细胞和 γ T 细胞均有分泌 IL-17 的功能^[5-7]。IL-17 对不同肿瘤发生、发展具有刺激或抑制作用。近研究表明,肿瘤浸润性 T 淋巴细胞的免疫调节细胞因子在控制肿瘤的生

长和转移中发挥着重要作用,IL-17 有效促进非小细胞肺癌细胞的生长和增殖,对肺癌调节性 T 细胞的免疫反应具有抑制作用^[8]。肿瘤微环境 IL-17 高表达与大肠癌发生相关。Liu 等^[9]研究发现大肠癌患者的肿瘤区域 IL-17 水平与非肿瘤区域相比显著增加,IL-17 表达与微血管密度呈正相关,并提出 IL-17 可作为一种新型的大肠癌患者的预后指标。Du 等^[10]建立乳腺癌小鼠模型发现肿瘤组织中 IL-17 表达随着肿瘤体积的增加而增加,与肿瘤进展相关。本研究发现乳腺癌患者血清 IL-17 水平比健康者显著增高,且与患者 CA153 水平及 CD3⁺CD4⁺IL-17⁺T 细胞百分数呈正相关。CD3⁺CD4⁺IL-17⁺T 细胞可能是血清 IL-17 的主要来源。IL-17 可能在乳腺癌发生、发展中存在极为重要的作用。此外,也发现术后患者血清 IL-17 水平较术前明显降低,差异有统计学意义(*P*<0.05)。CA153 常作为乳腺癌的辅助诊断指标,其表达在多种肿瘤(乳腺癌、肺癌、肾癌、结肠癌和卵巢癌等)中均有不同程度的升高。CA125 是一种在胚胎发育过程中存在于体腔上皮组织细胞表面的抗原,常被作为多种妇科肿瘤(卵巢癌、子宫内膜癌和乳腺癌等)的辅助诊断标志。本研究中乳腺癌患者血清 CA153 和 CA125 水平均显著升高,血清 CA153 水平与血清 IL-17 水平呈正相关,而血清 CA125 水平与血清 IL-17 水平不存在相关性。最后,研究者认为 IL-17 水平与乳腺癌有关。

参考文献

[1] Jema A,Seige R,Xu J,et al. Cancer statistic[J]. Cancer J Clin, 2010,60(5):277-300.

[2] 卢崇亮. 乳腺癌术后局部复发原因及其治疗[J]. 肿瘤学杂志, 2005,11(5):385-387.

[3] Wicki A,Rochlitz C. Targeted therapies in breast cancer[J]. Swiss Med Wkly,2012,27(42):13550.

[4] Murugaiyan G,Saha B. Protumor vs antitumor functions of IL-17 [J]. J Immunol,2009,183(7):4169-4175.

[5] Michel ML. Critical role of ROR in a new thymicpathway leading to IL-17-producing invariant NKT cell differentiation[J]. PNAS, 2008,105(50):19845-19850.

[6] Ciric BE, Rostami A. IL-23 drives pathogenic IL-17-producing CD8 T cells[J]. J Immunol,2009,182(9):5296-5305.

[7] O'brien RL,Born WK. IL-17-producing T cells[J]. Eur J Immunol,2009,39(3):662-666.

[8] Kirshberg S,Izhar U, Amir G,et al. Involvement of CCR6/CCL20/IL-17 axis in NSCLC disease progression[J]. PLoS One,2011,6(9): 24856.

[9] Liu J,Duan Y,Cheng X,et al. IL-17 is associated with poor prognosis and promotes angiogenesis via stimulating VEGF production of cancer cells in colorectal carcinoma[J]. Biochem Biophys Res Commun,2011,407(2):348-354.

[10] Du JW,Xu KY,Fang LY,et al. Interleukin-17, produced by lymphocytes, promotes tumor growth and angiogenesis in a mouse model of breast cancer[J]. Mol Med Rep,2012,6(5):1099-1102.

(收稿日期:2014-04-28)