

• 短篇论著 •

食管癌患者外周血 CD3⁺T 细胞分泌细胞因子的水平变化及其临床意义袁晓红¹, 李 鹏², 李雨微³

(1. 西安交通大学第二附属医院检验科, 西安 710014; 2. 西安交通大学第一附属医院检验科, 西安 710061; 3. 西北妇女儿童医院医学遗传中心, 西安 710061)

摘要:目的 探讨食管癌患者外周血 CD3⁺T 细胞分泌细胞因子的水平变化及其临床意义。方法 选取 2016 年 1 月至 2018 年 1 月在西安交通大学第二附属医院接受治疗的 28 例食管癌患者为研究组, 28 例健康体检者为健康对照组。比较两组患者的外周血 T 细胞、外周血 CD3⁺T 细胞分泌因子白细胞介素(IL)-2、IL-4、IL-10、IL-12 表达水平、外周血 CD3⁺T 细胞分泌因子肿瘤坏死因子(TNF)- α 和干扰素(IFN)- γ 表达水平。结果 研究组 CD3⁺/CD4⁺、CD4⁺/CD8⁺ 表达水平低于对照组, 研究组 CD3⁺/CD8⁺、CD3⁺ 表达水平高于对照组, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。研究组 IL-2、IL-10、IL-12 表达水平低于对照组, 研究组 IL-4 表达水平高于对照组, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。研究组 TNF- α 表达水平高于对照组, 研究组 IFN- γ 表达水平低于对照组, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。结论 对于食管癌患者, 食管癌患者外周血 CD3⁺T 细胞分泌细胞因子 CD4⁺/CD8⁺、CD3⁺/CD4⁺ 表达水平显著增高, 说明患者的免疫耐受力与免疫逃逸存在较明显的关系。

关键词:食管癌患者; CD3⁺T 细胞分泌; 细胞因子; 水平变化; 临床意义

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2019.04.026

中图法分类号:R446.11+3

文章编号:1673-4130(2019)04-0481-03

文献标识码:B

食管癌是当前临床上常见的一种疾病, 随着经济发展和生活方式改变, 其发病率不断升高。报道表明, 食管癌的发病群体主要为中年群体, 并且男性发病率高于女性群体^[1]。我国是世界上食管癌发病率较高的国家之一, 大约每年有 15 万人死于食管癌。食管癌的临床症状主要为下咽困难, 给患者日常生活带来了极大不便。因此, 应探讨更有效的治疗方法, 改善患者病情。研究表明, 食管癌与患者外周血 CD3⁺T 细胞分泌细胞因子水平变化存在相关性, 肿瘤能够对可溶性免疫抑制因子进行表达, 并对患者的局部免疫起到抑制作用^[3]。T 细胞分泌细胞因子是较为常见的调节性因子, 对患者自身反应性 T 细胞存在抑制作用, 对免疫能力起到了提升作用^[4]。本文探讨食管癌患者外周血 CD3⁺T 细胞分泌细胞因子的水平变化, 现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2016 年 1 月至 2018 年 1 月在西安交通大学第二附属医院接受治疗的 28 例食管癌患者。纳入标准^[5]: (1) 通过对患者进行病理诊断, 确诊为食管癌; 并应用由美国癌症联合会(AJCC) 和国际抗癌联盟(UICC) 联合制定订的恶性肿瘤 TNM 分期标准对肿瘤进行分期, 0 期和 I A 期为早期, I B~III 期为进展期, IV 期为食管癌晚期; (2) 患者在用药后, 没有取得明显的效果。排除标准^[6]: (1) 不愿参与

这次研究或临床数据不完善的患者; (2) 排除伴有精神疾病的患者; (3) 排除多源性肿瘤患者; (4) 排除接受化疗治疗的患者; (5) 排除自身免疫障碍患者。食管癌患者为研究组($n=28$), 男 14 例, 女 14 例, 年龄 56~75 岁, 平均(61.3 \pm 4.2)岁, 住院时间 12~20 d, 平均住院时间(14.3 \pm 3.1)d, TNM 分期, I 期患者 2 例, II 期患者 15 例, III 期患者 11 例; 纳入同期本院健康体检者 28 例为对照组, 男 15 例, 女 13 例, 年龄 54~73 岁, 平均(63.4 \pm 4.1)岁。本研究已经得到患者同意, 一般资料差异无统计学意义($P > 0.05$), 具有可比性。经过医院伦理委员会批准。

1.2 方法 首先, 在手术前 1 d 和手术第 3 天, 采集患者的空腹静脉血 2 mL, 加 5 mL 洗涤剂洗涤, 离心(1 200 r/min \times 10 min), 倒去上清液, 以 500 μ L 洗涤剂悬浮细胞液。取 100 μ L 细胞悬液, 加 20 μ L 抗细胞表面抗原的抗 CD3-FITC, 涡旋混匀, 室温暗处孵育 20 min。然后对细胞进行打孔, 加 1.5 mL 打孔液, 离心(1 000 r/min \times 5 min)。倒去上清液, 以 100 μ L 打孔液悬浮细胞。对细胞因子进行染色: 在一管内加 8 μ L 抗细胞因子的单克隆抗体, 并另设一管加 10 μ L 该单克隆抗体的同型抗体。将其放置在 4 $^{\circ}$ C 暗处进行孵育大约 20 min。加其加入 1.5 mL 打孔液, 对其进行离心(1 000 r/min \times 5 min)。采用流式细胞仪(美国 Beckman Coulter 公司, 型号: IMMAGE 免疫

分析仪)和荧光直接标记对患者外周血 T 细胞分泌细胞因子进行标记^[7]。将使用荧光直接标记的 18 μL 单克隆抗体放置到 90 μL 的抗凝的外周血,并在室温下对其进行孵育大约 20 min,并将其加入红细胞裂解液,进行孵育大约 20 min,并对其进行洗涤^[8]。最后,使用流式细胞仪对其进行相关检测,对检测数据进行相关分析^[8]。

1.3 观察指标 (1)比较两组外周血 T 淋巴细胞与正常值。使用流式细胞仪对患者抗体进行标记,并对 CD3⁺ 进行检测,然后对 CD4⁺/CD8⁺、CD3⁺/CD8⁺、CD3⁺/CD4⁺ 进行相应的计算。(2)比较两组外周血 CD3⁺ T 细胞分泌因子 IL-2、IL-4、IL-10、IL-12 表达水平。(3)比较两组外周血 CD3⁺ T 细胞分泌因子肿瘤坏死因子(TNF)-α 和干扰素(IFN)-γ 表达水平^[9],采

集患者静脉血 3 mL,将其静置,分离取得上层血清,应用酶联检测试剂盒,使用 ELISA 方法对 TNF-α 和 IFN-γ 细胞因子进行检测。

1.4 统计学处理 用 SPSS17.0 统计软件对实验数据进行统计学分析,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,用单因素方差分析对样本均数之间的差异显著性进行检验,用非参数检验的二项检验对计数资料进行检验。当 $P < 0.05$ 时,说明差异具有统计学意义。

2 结 果

2.1 两组外周血 T 细胞值比较 研究组 CD3⁺/CD4⁺、CD4⁺/CD8⁺ 表达水平低于对照组,研究组 CD3⁺/CD8⁺、CD3⁺ 表达水平高于对照组,差异具有统计学意义($P < 0.05$),见表 1。

表 1 两组外周血 T 细胞与正常值比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	CD4 ⁺ /CD8 ⁺ (%)	CD3 ⁺ /CD8 ⁺ (%)	CD3 ⁺ /CD4 ⁺ (%)	CD3 ⁺ (%)
研究组	28	1.3±0.5	28.2±7.6	34.2±6.5	70.1±7.4
对照组	28	1.8±0.7	22.4±6.2	38.2±7.6	64.1±9.2
t		14.236	15.456	14.287	15.027
P		<0.05	<0.05	<0.05	<0.05

2.2 两组 IL-2、IL-10、IL-12 表达水平比较 研究组 IL-2、IL-10、IL-12 表达水平低于对照组,研究组 IL-4 表达水平高于对照组,差异具有统计学意义($P < 0.05$),具体见表 2。

表 2 两组外周血 CD3⁺ T 细胞分泌因子表达水平比较(pg/mL, $\bar{x} \pm s$)

组别	n	IL-12	IL-10	IL-4	IL-2
对照组	28	9.6±6.6	3.1±1.2	2.8±1.3	22.8±16.5
研究组	28	1.3±1.1	2.5±1.2	3.8±1.2	3.5±2.1
t		14.236	15.456	14.287	15.027
P		<0.05	<0.05	<0.05	<0.05

2.3 两组 TNF-α 和 IFN-γ 表达水平比较 研究组 TNF-α 表达水平高于对照组,研究组 IFN-γ 表达水平低于对照组,差异具有统计学意义($P < 0.05$),具体见表 3。

表 3 两组 TNF-α 和 IFN-γ 表达水平比较(pg/mL, $\bar{x} \pm s$)

组别	n	TNF-α	IFN-γ
对照组	28	45.1±21.6	22.2±109.7
研究组	28	62.3±22.2	2.62±2.1
t		11.294	10.391
P		<0.05	<0.05

3 讨 论

相关报道表明,我国是食管癌发病率较高的国家

之一。因此,患者出现相应的症状时,应及时进行诊断,避免延误患者的最佳治疗时机。同时,还应加强对疾病的防治,制定合理的生活计划。引起食管癌的原因较多,主要分为化学病因、生物性病因、缺乏某些微量元素和生活习惯等^[10]。当前,对于食管癌的治疗主要采取药物、手术、化疗和放疗的方法。尽管上述方法已经被广泛运用,但是目前对患者的治疗效果仍十分有限,因此,当前的首要任务是提高对患者的治疗效果,保证患者的生活质量^[11]。细胞免疫是患者机体抗肿瘤免疫功能的重要组成部分,由 T 淋巴细胞为细胞免疫进行介质的传递,T 淋巴细胞能够进行有效的分化,主要分化为细胞毒性和辅助性 T 淋巴细胞^[12]。

而调节性 T 细胞对免疫细胞功能的负调控细胞存在较好的抑制作用,对患者机体的抗肿瘤免疫反应起到明显的抑制作用^[13]。通过对食管癌患者外周血 CD3⁺ T 细胞分泌细胞因子的水平变化及其临床意义进行探讨,Th1 细胞分泌 INF-r、TNF-α 和 IL-2 细胞因子,主要介导迟发型超敏反应和细胞免疫反应,Th1 细胞分泌 IL-10 和 IL-4 细胞因子,对患者体液免疫反应进行介导^[14]。健康患者,Th1/Th2 是一种较为平衡的状态^[15]。在本次研究中,应用流式细胞术对患者 T 细胞因子 IL-2、IL-12、IFN-r、TNF-α、IL-4 和 IL-10 进行检测,发现研究组 CD3⁺/CD8⁺、CD3⁺ 表达水平低于对照组,说明患者此细胞因子反应模式较弱。同

时,研究组 TNF- α 表达水平高于对照组, TNF- α 表达水平升高没有达到有效的抗肿瘤作用, 主要原因为 TNF- α 仅是患者机体进行免疫反应的一个或某个环节。当患者的免疫功能受损, TNF- α 的抗肿瘤效应不能有效作用。

研究结果显示, 研究组 CD3⁺/CD8⁺、CD3⁺ 表达水平低于对照组, 研究组 CD4⁺/CD8⁺、CD3⁺/CD4⁺ 表达水平高于对照组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。这一结果充分表明了, 食管癌患者外周血 CD3⁺ T 细胞分泌细胞因子升高, 患者的免疫力出现较为明显的降低。同时研究结果说明, 对患者外周血 CD3⁺ T 细胞分泌细胞因子进行流式细胞技术检测, 不仅特异度和灵敏度高, 同时对患者细胞免疫功能进行有效体现, 是患者病情进展和免疫状态的标志物。如果患者机体 CD4⁺ 细胞能够合理地减少或消失, 则可改变其对患者肿瘤细胞的免疫无应答性, 使得患者非特异性和特异性效应细胞自然发育, 对患者抗肿瘤免疫进行有效激活。研究组 IL-2、IL-10、IL-12 表达水平低于对照组, 研究组 IL-4 表达水平高于对照组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。研究组 TNF- α 表达水平高于对照组, 研究组 IFN- γ 表达水平低于对照组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。这一结果充分表明了, 对食管癌患者外周分泌细胞因子水平进行合理的分析, 能够增进对患者发病机制和免疫调节机制的了解, 并为患者的治疗提供有效的治疗依据, 有利于患者疾病的治疗, 提高患者生活质量。对于食管癌患者, 食管癌患者外周血 CD3⁺ T 细胞分泌细胞因子 CD4⁺/CD8⁺、CD3⁺/CD4⁺ 表达水平显著增高, 说明患者的免疫耐受与免疫逃逸存在较明显的关系。

参考文献

- [1] 李璞璞, 陈新峰, 平玉, 等. 食管癌患者外周血 MAGE-C2 抗原特异性 CD8⁺ T 细胞的功能及临床意义[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2016, 23(4): 476-480.
- [2] JIAO Q Q, QIAN Q H, ZHAO Z T, et al. Expression of human T cell immunoglobulin domain and mucin-3 (TIM-3) and TIM-3 ligands in peripheral blood from patients with systemic lupus erythematosus[J]. Arch Dermatol Res, 2016, 308(8): 553-561.
- [3] 李凡, 李标, 王琼育, 等. 食管癌患者行胸腔镜切除术后对肺部感染和炎症细胞因子的影响[J]. 中华医院感染学杂志, 2017, 27(17): 3944-3947.
- [4] PTACKOVA P, PETRACKOVA M, HINDOS M A, et al. Intracellular cytokines produced by stimulated CD3⁺ cells from chronic myeloid leukemia patients[J]. Acta Haematol, 2017, 137(3): 148-157.
- [5] 周宁, 曲颜丽, 唐勇. 树突细胞因子诱导的杀伤细胞治疗老年中晚期食道癌的效果及对外周血淋巴细胞亚群的影响[J]. 中国老年学杂志, 2016, 36(11): 2692-2693.
- [6] 吴耀松, 任闪闪, 陈玉龙, 等. 启膈散对食管癌 EC9706 细胞株抑制树突状细胞成熟的影响[J]. 时珍国医国药, 2017, 15(4): 769-772.
- [7] NGUYEN-THI-DIEU T, LE-THI-THU H, DUONG-QUY S. The profile of leucocytes, CD3⁺, CD4⁺, and CD8⁺ T cells, and cytokine concentrations in peripheral blood of children with acute asthma exacerbation[J]. Journal of International Medical Research, 2017, 45(6): 1658-1669.
- [8] 肖鹏, 冯睿婷, 梅家转, 等. IL-21 增强 CIK 细胞对食管癌 EC9706 细胞的杀伤作用及其可能的机制[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2017, 24(11): 1266-1270.
- [9] SUAREZ-FUEYO A, BRADLEY S J, KATSUYAMA T A, et al. Downregulation of CD3 zeta in NK cells from systemic lupus erythematosus patients confers a proinflammatory phenotype[J]. J Immunol, 2018, 200(9): 3077-3086.
- [10] 胡梦竹, 王娟, 张巧, 等. 永生化食管上皮恶变细胞中核干细胞因子、细胞周期蛋白 B1 和 PTEN 的表达[J]. 第三军医大学学报, 2016, 38(13): 1512-1516.
- [11] 李永妹. 细胞因子诱导杀伤细胞免疫治疗食管癌的研究进展[J]. 临床和实验医学杂志, 2016, 15(19): 1967-1969.
- [12] WALTER G J, VEERLE F, FREDERIKSEN K S, et al. Phenotypic, functional, and gene expression profiling of peripheral CD45RA⁺ and CD45RO⁺ CD4⁺ CD25⁺ CD127^{low} Treg cells in patients with chronic rheumatoid arthritis:[J]. Arthritis & Rheumatology, 2016, 68(1): 103-116.
- [13] 陈宏明, 李日, 唐任光, 等. 食管癌患者血清白细胞介素和急性时相反应蛋白水平及其临床意义[J]. 广西医学, 2016, 38(7): 929-931.
- [14] 彭丽娟, 杜经纬, 徐俊, 等. IL-12、IL-16 和 IL-17 在食管癌患者血清中表达水平及意义[J]. 中华全科医学, 2017, 72(1): 27-29.
- [15] 那日苏, 鲁秀玲. 血清 IL-6 在食管癌患者中的表达及其检测意义[J/CD]. 临床医药文献电子杂志, 2017, 4(39): 7665.

(收稿日期: 2018-09-11 修回日期: 2018-11-24)