

吉西他滨对宫颈癌患者辅助性 T 细胞 17/CD4 + CD25 + 调节性 T 细胞及肿瘤相关巨噬细胞的影响及意义

李晓娟¹, 史颖¹, 杨筱凤²

(1. 陕西中医药大学第二附属医院妇科二区, 陕西 西安 712000;

2. 西安交通大学第一附属医院妇产科, 陕西 西安 710061)

摘要:目的 分析吉西他滨对宫颈癌患者外周血辅助性 T 细胞 17(Th17)/CD4 + CD25 + 调节性 T 细胞(CD4 + CD25 + Treg)及肿瘤相关巨噬细胞的影响,为完善其药理机制提供数据支撑。方法 将陕西中医药大学第二附属医院 2014 年 12 月至 2016 年 12 月收治的 59 例拟行手术治疗的宫颈癌患者采用随机数字表法分为观察组 30 例和对照 1 组 29 例,两组均给予三维适形放疗和手术切除,观察组在此基础上给予吉西他滨新辅助化疗。另取 11 例同期入院体检的健康志愿者为对照 2 组,观察组和对照 1 组分别于治疗前后取患者空腹肘静脉血,对照 2 组于体检时取空腹肘静脉血,采用流式细胞法测定 Th17 与 CD4 + CD25 + Treg 的外周血细胞计数,采用酶联免疫吸附测定试剂盒测定白细胞介素-17A(IL-17A)、白细胞介素-17F(IL-17F)、白细胞介素-10(IL-10)及转化生长因子(TGF- β 1)的血清水平。并于手术时留取病灶组织与癌旁健康组织,采用免疫组织化学实验测定肿瘤相关巨噬细胞表达水平。结果 (1)治疗前,观察组、对照 1 组和对照 2 组的 Th17 细胞计数分别为(4.75 $\pm$ 0.63)%、(5.14 $\pm$ 0.66)%和(12.02 $\pm$ 1.85)%;CD4 + CD25 + Treg 细胞计数分别为(13.41 $\pm$ 1.52)%、(12.05 $\pm$ 1.45)%和(7.52 $\pm$ 0.88)%;治疗后,观察组、对照 1 组的 Th17 细胞计数分别为(16.52 $\pm$ 3.02)%和(11.02 $\pm$ 2.06)% ,CD4 + CD25 + Treg 细胞计数分别为(3.08 $\pm$ 0.44)%和(6.11 $\pm$ 0.74)% ,与治疗前相比,差异有统计学意义($P < 0.05$)。(2)治疗后,观察组、对照 1 组血清 IL-17A、IL-17F、IL-10 及 TGF- β 1 水平与治疗前相比,IL-17A 与 IL-17F 水平有所升高,IL-10 与 TGF- β 1 水平有所下降,且观察组变化幅度高于对照 1 组,两组间差异有统计学意义($P < 0.05$)。(3)观察组和对照 1 组病灶组织的肿瘤相关巨噬细胞表达量为(1.82 $\pm$ 0.14)和(2.25 $\pm$ 0.46),健康组织分别为(0.38 $\pm$ 0.17)和(0.35 $\pm$ 0.16),病灶组织高于健康组织,观察组高于对照 1 组,组间差异有统计学意义($P < 0.05$)。结论 吉西他滨能够抑制宫颈癌患者 Th17/CD4 + CD25 + Treg 漂移和肿瘤相关巨噬细胞活性,可能是其发挥抗癌作用的重要机制之一。

关键词:吉西他滨;宫颈癌;辅助性 T 细胞 17/CD4 + CD25 + 调节性 T 细胞;肿瘤相关巨噬细胞

doi:10.3969/j.issn.1009-6469.2018.11.053

基金项目:国家自然科学基金项目(81472428)

通信作者:史颖,女,副主任医师,研究方向为妇科肿瘤,E-mail:womanflower@163.com

- [5] PASTORA-BERNAL JM, MARTÍN-VALERO R, BARÓN-LÓPEZ FJ, et al. Telerehabilitation after arthroscopic subacromial decompression is effective and not inferior to standard practice; Preliminary results[J]. J Telemed Telecare, 2018, 24(6): 428-433.
- [6] KATTHAGEN JC, VAP AR, TAHAL DS, et al. Arthroscopic repair of isolated partial-and full-thickness upper third subscapularis tendon tears; Minimum 2-year outcomes after single-anchor repair and biceps tenodesis[J]. Arthroscopy, 2017, 33(7): 1286-1293.
- [7] BOZKURT M, APAYDIN N, IŞIK C, et al. Robotic arthroscopic surgery; a new challenge in arthroscopic surgery Part-I; Robotic shoulder arthroscopy; a cadaveric feasibility study[J]. Int J Med Robot, 2011, 7(4): 496-500.
- [8] KOLNY M, STASIOWSKI MJ, ZUBER M, et al. Randomized, comparative study of the effectiveness of three different techniques of interscalene brachial plexus block using 0.5% ropivacaine for shoulder arthroscopy[J]. Anaesthesiol Intensive Ther, 2017, 49(1): 47-52.
- [9] CAPITO NM, COOK JL, YAHUACA B, et al. Safety and efficacy of hyperosmolar irrigation solution in shoulder arthroscopy [J]. J Shoulder Elbow Surg, 2017, 26(5): 745-751.
- [10] LIU J, FAN L, ZHU Y, et al. Comparison of clinical outcomes in all-arthroscopic versus mini-open repair of rotator cuff tears; A randomized clinical trial [J]. Medicine (Baltimore), 2017, 96(11): e6322. DOI:10.1097/MD.0000000000006322.
- [11] KANDEL L, BARZILAY Y, FRIEDMAN A, et al. Informal (Hallway) medical consultation in orthopedics-is it as common as it seems[J]. Arch Orthop Trauma Surg, 2017, 137(5): 607-610.
- [12] 熊为, 张劲松, 赵猛, 等. 臂丛神经阻滞复合全身麻醉与单纯全身麻醉在肩关节镜手术中应用效果比较的 Meta 分析[J]. 实用心脑血管病杂志, 2016, 24(5): 5-10.
- [13] 卢静, 兰志勋, 蔡兵, 等. 超声引导下连续肌间沟臂丛神经阻滞对肩关节镜术后镇痛效应评价[J]. 成都医学院学报, 2015, 10(4): 459-461.
- [14] 林素凤, 庞如英, 沈耀华, 等. 丙泊酚复合羟考酮或喷他佐辛用于无痛人流流产术的比较[J]. 中国医师杂志, 2016, 18(1): 111-112.
- [15] 李潇潇, 翟所迪. 喷他佐辛用于麻醉和镇痛的临床研究进展[J]. 中国临床药理学杂志, 2015, 31(2): 158-160.
- [16] PÖPPING D M, ELIA N, MARRET E, et al. Opioids added to local anesthetics for single-shot intrathecal anesthesia in patients undergoing minor surgery: A meta-analysis of randomized trials[J]. Pain, 2012, 153(4): 784-793.

(收稿日期:2017-06-20, 修回日期:2017-07-13)

Influence and significance of gemcitabine to Th17/CD4 + CD25 + Treg and tumor-associated macrophage of cervical cancer

LI Xiaojuan¹, SHI Ying¹, YANG Xiaofeng²

(1. Second Ward of Gynecology, The Second Affiliated Hospital of Shaanxi University of Traditional Chinese Medicine, Xi'an, Shaanxi 712000, China; 2. Department of Obstetrics and Gynecology, The First Affiliated Hospital of Xi'an Jiaotong University, Xi'an, Shaanxi 710061, China)

Abstract: Objective To analyze the influence and significance of gemcitabine (GEM) to Th17/CD4 + CD25 + Treg and tumor-associated macrophage of cervical cancer, so as to provide data evidence for improving its pharmacological mechanism. **Methods** Totally 59 patients with cervical cancer and prepared for surgery admitted to The Second Affiliated Hospital of Shaanxi University of Traditional Chinese Medicine from December 2014 to December 2016 were assigned into 2 groups randomly: 30 in the observation group and 29 in the first control group. All the patients were given 3D conformal radiation therapy (CRT) and exauresis, at the same time, patients of the observation group were given GEM before surgery. Another 11 healthy volunteers who were admitted for physical examination at the same time were taken as the second control group. The fast cubital venous blood of patients in the observation group and the first control group was extracted both before and after treatment, and the fast cubital venous blood of the second control group was extracted during physical examination. Th17 cell count and CD4 + CD25 + Treg cell count were both detected by flow cytometry method, and the levels of interleukin 17A (IL-17A), interleukin 17F (IL-17F), interleukin 10 (IL-10) and transforming growth factor beta 1 (TGF- β 1) were detected by ELISA kits. Furthermore, both the lesion and healthy tissues were extracted to detect tumor-associated macrophage expression by immunohistochemistry assay. **Results** (1) Before treatment, the Th17 cell counts of the observation group, the first control group and the second control group were $(4.75 \pm 0.63)\%$, $(5.14 \pm 0.66)\%$ and $(12.02 \pm 1.85)\%$, and the CD4 + CD25 + Treg cell counts were $(13.41 \pm 1.52)\%$, $(12.05 \pm 1.45)\%$ and $(7.52 \pm 0.88)\%$. After treatment, the Th17 cell counts of the observation group and the first control group were $(16.52 \pm 3.02)\%$ and $(11.02 \pm 2.06)\%$, and the CD4 + CD25 + Treg cell counts were $(3.08 \pm 0.44)\%$ and $(6.11 \pm 0.74)\%$, which compared to before treatment, had statistically significant differences ($P < 0.05$). (2) In the observation group and the first control group, after treatment, the IL-17A and IL-17F levels were increased, while IL-10 and TGF- β 1 levels were decreased when compared to those before treatment, and the variation amplitude of the observation group was higher than that of the first control group; the difference had statistical significance ($P < 0.05$). (3) The expressions of tumor associated macrophage in lesion tissues of the observation group and the first control group were (1.82 ± 0.14) and (2.25 ± 0.46) , and in healthy tissues of the observation group and the first control group were (0.38 ± 0.17) and (0.35 ± 0.16) . The macrophage expressions in lesion tissues were higher than those in healthy tissues, and the expressions of the observation group was higher than those of the first control group; the differences between groups were statistically significant ($P < 0.05$). **Conclusion** gemcitabine could control Th17/CD4 + CD25 + Treg drifting and tumor-associated macrophage activity, which may be one of its important pharmacological mechanisms to treat cervical cancer. **Key words:** Gemcitabine; Cervical cancer; Th17/CD4 + CD25 + Treg; Tumor associated macrophage

宫颈癌的发生与发展是一个由量变到质变的累积过程, 历经了宫颈炎-宫颈上皮内瘤变(CIN I、II、III)-宫颈癌的递进式病变, 持续性的高危型人乳头瘤病毒(HR-HPV)感染是发展至宫颈癌的先决条件^[1]。流行病学调查结果显示这个过程具有可逆性, CIN I的自然消退率达到90%以上, CIN II约为45%~65%, CIN III只有25%~35%, 发展至宫颈癌中晚期, 患者的5年生存率仅有10%左右^[2]。因此, 将疾病控制在早期阶段是增加治愈率、延长患者生存期的一个重要方向。在抗肿瘤治疗中, 免疫机制受到越来越多的重视, 免疫系统是人体内自然存在的抗肿瘤机制, 近几年较受重视的是CD4 + T细胞和肿瘤相关巨噬细胞。CD4 + T细胞也称辅助

性T细胞(Th细胞), 其中Th1/Th2、Th17/CD4 + CD25 + Treg两大平衡体系在病原体与肿瘤免疫中均起了重要作用。当前研究已证实^[3-4], Th17/CD4 + CD25 + Treg平衡与肿瘤相关巨噬细胞均参与了宫颈癌的病理机制, 本研究观察吉西他滨对宫颈癌患者外周血肿瘤相关巨噬细胞及Th17/CD4 + CD25 + Treg的影响, 为完善其药理机制提供数据支撑。

1 资料与方法

1.1 一般资料 研究对象为陕西中医药大学第二附属医院2014年12月至2016年12月收治的59例宫颈癌患者, 年龄 (48.5 ± 13.4) 岁, 年龄范围为37~63岁。纳入标准: (1) 首次确诊为宫颈癌, 且有

表 1 两组一般资料的比较

组别	例数	年龄/ (岁, $\bar{x} \pm s$)	肿瘤 最大径/ (cm, $\bar{x} \pm s$)	ECOG 评分/ (分, $\bar{x} \pm s$)	FIGO 分期/例(%)			分化程度/例(%)			组织学分类/例(%)			淋巴结 转移/例		脉管转 移/例	
					I b2	II a	II b	高	中	低	腺癌	鳞癌	腺鳞癌	是	否	是	否
对照 1 组	29	48.8 ± 13.1	4.81 ± 0.84	1.21 ± 0.52	9(31.0)	14(48.3)	6(20.7)	4(13.8)	18(62.1)	7(24.1)	10(34.5)	12(41.4)	7(24.1)	9	20	6	23
观察组	30	48.1 ± 13.9	4.62 ± 0.99	1.11 ± 0.44	11(36.7)	15(50.0)	4(13.3)	6(20.0)	19(63.3)	5(16.7)	9(30.0)	13(43.3)	8(26.7)	11	19	7	23
χ^2 [Z]值		0.199	0.794	0.798		[0.687]			[0.855]			(0.142)		(0.209)		(0.060)	
P 值		0.422	0.215	0.214		[0.492]			[0.393]			(0.706)		(0.648)		(0.807)	

确切的组织学诊断依据证实为宫颈癌国际妇产科联盟(FIGO)分期 I b2 ~ II b 期;(2)拟行根治术治疗;(3)人乳头瘤病毒(HPV)阳性;(4)美国东部肿瘤协作组(ECOG)评分 0 ~ 2 分。排除标准:(1)妊娠期与哺乳期;(2)既往有放化疗治疗史;(3)近 3 个月有激素或免疫治疗史;(4)合并有传染性疾病或其他感染性疾病;(5)糖尿病;(6)免疫系统合并症等。本研究经陕西中医药大学第二附属医院伦理委员会批准,所有患者均自愿签署知情同意书。采用随机数字表法将患者分为观察组(30 例)和对照 1 组(29 例),一般资料比较如表 1 所示,差异无统计学意义($P > 0.05$)。另取 11 例同期入院体检者作为外周血对照(对照 2 组),年龄(48.3 ± 10.1)岁,年龄范围为 38 ~ 60 岁。

1.2 治疗方法 两组患者均先给予三维适形放疗,患者仰卧位,先以 CT 扫描确立放疗范围,自第三腰椎上缘扫描至阴道外口下 5 cm,基本可确定肿瘤位置与体积,并勾画出计划靶体积(PTV)。采用 6 mV-X 射线照射,按照 7 野照射方式(即 0°、52°、104°、156°、204°、256°、308°七个角度)照射。单次剂量 1.8 ~ 2.0 Gy,每周 5 次,总剂量 55 ~ 65 Gy。观察组在三维适形放疗的基础上再给予注射用盐酸吉西他滨(齐鲁制药,批号 AAED8009A)新辅助化疗,用量为 $800 \text{ mg} \cdot \text{m}^{-2}$,第 1 天和第 8 天给药,予三维适形放疗同时进行。三维适形放疗和新辅助化疗之后,所有患者行广泛性子官切除加盆腔淋巴结清扫术。

1.3 方法

1.3.1 流式细胞法测定 Th17 与 CD4 + CD25 + Treg 的外周血细胞计数 对照 2 组患者于入院体检时,宫颈癌患者于治疗前 1 d、治疗后 1 周采用流式细胞仪测定外周血单个核细胞 Th17 与 CD4 + CD25 + Treg 细胞比例。主要步骤:(1)受试者者均于清晨 8:00 点取空腹肘静脉血 2 ~ 3 mL,肝素抗凝,取血器和离心管均以肝素润洗。加入等体积 Hank's 液,充分混匀,再加入适量淋巴细胞分离液,2 000 r ·

min⁻¹低速离心 18 min,离心半径为 6 cm;(2)离心后管中液体分为三层,自上而下分别为血浆、淋巴细胞、红细胞与粒细胞的混合体,在血浆和淋巴细胞之间有一层白色的云雾带,为单个核细胞富集区;(3)以毛细管吸取单个核细胞,采用 5 倍体积 Hank's 液重悬与洗涤、1 500 r · min⁻¹低速离心 10 min,离心半径 6 cm,重复 1 次;(4)所得单个核细胞制成 1×10^6 个/100 μL 的混悬液,先后以佛波酯与离子霉素刺激,上机检测;(5)流式细胞仪购自德国贝克曼库尔特公司,型号 CytoFLEX, Th17 细胞以 CD4-FITC 抗体与 IL-17-PE 抗体标记;CD4 + CD25 + Treg 细胞以 CD4-FITC 抗体、CD25-APC 抗体及 Foxp3-PE 抗体标记。

1.3.2 酶联免疫吸附实验(ELISA)测定 Th17 与 CD4 + CD25 + Treg 细胞因子的血清水平 于治疗前 1 d、治疗后 1 周采用 ELISA 实验测定相关细胞因子白细胞介素-17A(IL-17A)、白细胞介素-17F(IL-17F)、白细胞介素-10(IL-10)、转化生长因子- β 1(TGF- β 1)水平。主要步骤:(1)受试者者均于清晨 8:00 点取空腹肘静脉血 2 ~ 3 mL,不抗凝,常温静置 1 h,4 000 r · min⁻¹离心 10 min 获得血清,离心半径 6 cm;(2)采用全自动生化分析仪(德国贝克曼库尔特 AU5800)和 ELISA 试剂盒测定 IL-17A、IL-17F、IL-10、TGF- β 1 水平的血清水平,本次使用的试剂盒均购自上海生工生物工程股份有限公司。

1.3.3 免疫组织化学实验测定肿瘤相关巨噬细胞表达 术中留取病理组织以及周边健康组织(距离病理组织 2 cm 以上),采用免疫组织化学实验法测定肿瘤相关巨噬细胞表达。主要步骤:(1)制备石蜡病理切片。术中留取的组织切成 1 cm³小块浸泡于 4.0% 多聚甲醛溶液,制备石蜡病理切片,厚度 5 ~ 7 μm 。(2)脱蜡至水。二甲苯脱蜡,3 min × 2 次,梯度乙醇脱苯至水,3% H₂O₂处理 10 min 阻断内源性过氧化酶活性。(3)抗原热修复。载玻片置于载玻片架,载玻片架置于大烧杯,大烧杯倒满枸橼酸缓冲液,微波炉中高火 10 ~ 15 min,自然冷却至室

温,连续2次。(4)抗体孵育。滴加一抗(Abcam,批号 GR140316-2),浓度为1:200,4℃孵育过夜;磷酸缓冲盐溶液(PBS)缓冲液清洗,5 min×3次,滴加二抗(Abcam,批号 GR140221-1),37℃孵育60 min,浓度为1:1 000。(5)二氨基联苯胺(DAB)显色,苏木素复染,盐酸乙醇分化,反蓝后中性树胶封片,镜下观察。染成黄色或棕黄色者为阳性,Image-Pro Plus 分析阳性强度。

1.4 统计学方法 所得数据均采用统计学软件SPSS 22.0 进行分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,行 t 检验;计数资料以例(%)表示,行 χ^2 检验;等级资料行秩和检验; $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 Th17 与 CD4 + CD25 + Treg 的外周血细胞计数 治疗前,对照1组和观察组患者的Th17细胞计数均低于对照2组,CD4 + CD25 + Treg 细胞计数均高于对照2组,且对照1组和观察组比较差异无统计学意义($P > 0.05$);治疗后,对照1组和观察组的Th17细胞有所增多,CD4 + CD25 + Treg 细胞有所减少,Th17/CD4 + CD25 + Treg 增大,且观察组变化幅度高于对照1组,两组间比较均差异有统计学意义($P < 0.05$),见图1和图2。

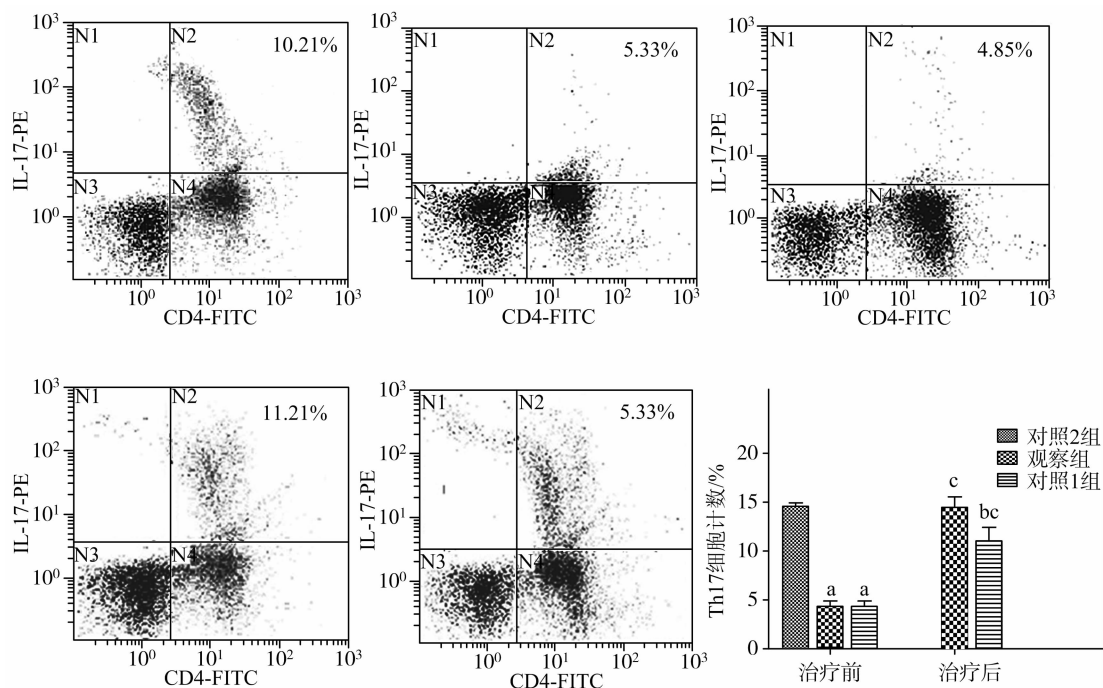
2.2 Th17 与 CD4 + CD25 + Treg 细胞因子的血清水平 治疗前,对照1组和观察组患者的血清IL-17A、IL-17F、IL-10 及 TGF- β 1 比较均差异无统计学

意义($P > 0.05$);治疗后,对照1组和观察组IL-17A 与 IL-17F 水平有所升高,IL-10 与 TGF- β 1 水平有所降低,且观察组变化幅度大于对照1组,两组间比较差异有统计学意义($P < 0.05$),见图3。

2.3 肿瘤相关巨噬细胞表达 两组病灶组织的肿瘤相关巨噬细胞表达量均高于健康组织,两组健康组织的肿瘤相关巨噬细胞表达量差异无统计学意义($P > 0.05$);观察组病灶组织肿瘤相关巨噬细胞表达量高于对照1组,组间比较均差异有统计学意义($P < 0.05$),见图4。

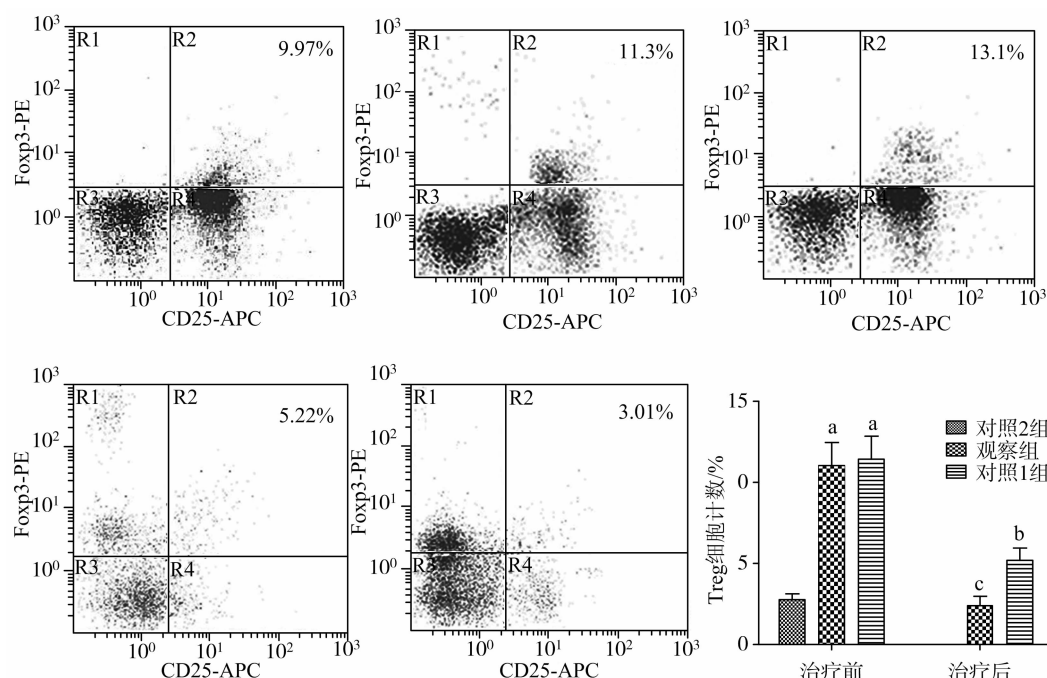
3 讨论

随着我国老龄化趋势的加剧以及普查力度的加强,宫颈癌的检出率越来越高,且呈现出一定程度的年轻化趋势。吉西他滨是一种人工合成的新型的胞嘧啶核苷衍生物,1996年正式批准上市,对大多数实体瘤有确切效果,是晚期胰腺癌的一线治疗药物,宫颈癌的二线治疗药物。其主要作用机制是进入人体后,经酶催化转化为活性代谢物二磷酸核苷和三磷酸核苷,两者可抑制核糖核苷酸还原酶,从而抑制DNA合成^[5]。此外,临床实践证实吉西他滨还是一种放射增敏剂,与放射疗法合用可起到协同作用,增强抑瘤效果^[6]。在宫颈癌的病理机制中,Th17/CD4 + CD25 + Treg 平衡与肿瘤相关巨噬细胞发挥了重要作用,本研究观察了吉西他滨对宫颈癌Th17/CD4 + CD25 + Treg 平衡与肿瘤相关巨



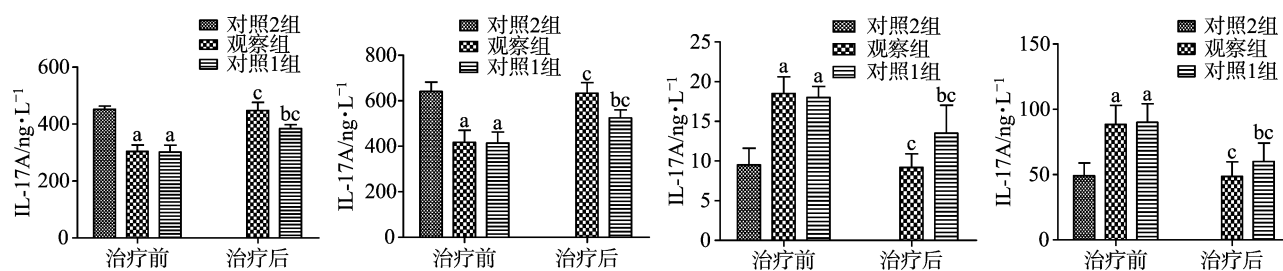
注:A为对照2组;B为对照1组治疗前;C为观察组治疗前;D为对照1组治疗后;E为观察组治疗后;F为柱状统计图,与对照2组治疗前相比,^a $P < 0.05$,与观察组治疗后相比,^b $P < 0.05$,与同组治疗前相比,^c $P < 0.05$

图1 三组患者治疗前后外周血Th17细胞比例的比较



注: A 为对照 2 组; B 为对照 1 组治疗前; C 为观察组治疗前; D 为对照 1 组治疗后; E 为观察组治疗后; F 为柱状统计图, 与对照 2 组治疗前相比, ^a $P < 0.05$, 与观察组治疗后相比, ^b $P < 0.05$, 与同组治疗前相比, ^c $P < 0.05$

图 2 三组患者治疗前后外周血 CD4 + CD25 + Treg 细胞比例比较



注: A 为 IL-17A; B. IL-17F; C 为 IL-10; D 为 TGF- β_1 ; 与对照 2 组治疗前相比, ^a $P < 0.05$; 与观察组治疗后相比, ^b $P < 0.05$; 与同组治疗前相比, ^c $P < 0.05$

图 3 三组患者治疗前后 Th17 与 CD4 + CD25 + Treg 细胞因子的血清水平比较

噬细胞的影响,以完善其药理机制,为其临床应用提供数据支撑。

研究结果显示,就 Th17/CD4 + CD25 + Treg 平衡而言,治疗前观察组和对照 1 组患者的 Th17 细胞计数、CD4 + CD25 + Treg 细胞计数及 Th17/CD4 + CD25 + Treg 均差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 治疗后,两组 Th17 细胞增多,CD4 + CD25 + Treg 细胞减少,Th17/CD4 + CD25 + Treg 增大,且观察组变化幅度大于对照 1 组。Th17/CD4 + CD25 + Treg 平衡体系和 Th1/Th2 平衡体系是目前已经发现的 CD4 + T 细胞最主要的两大体系^[7],在肿瘤生长和 HPV 感染的过程中,Th17 细胞主要起免疫激动作用,诱导细胞免疫发挥活性,清除 HPV 和杀死肿瘤细胞^[8]。而 CD4 + CD25 + Treg 细胞则主要起免疫抑制作用,其生理功能在于防止免疫反应过激造成的自体性损

伤^[9]。有研究证实^[10],肿瘤细胞也能产生 TGF- β_1 ,诱导生成大量 CD4 + CD25 + Treg 细胞,从而削弱细胞免疫反应对肿瘤的识别与清除能力,这也是肿瘤免疫逃逸的重要机制之一。因此,可以说 Th17/CD4 + CD25 + Treg 升高意味着机体对肿瘤清除能力的增强,反之,意味着机体对肿瘤清除能力的衰退。既往已有研究证实,宫颈癌患者存在 Th17/CD4 + CD25 + Treg 漂移现象,Th17 细胞计数减少,细胞因子受到抑制,与此同时 CD4 + CD25 + Treg 细胞增多,细胞因子大量分泌。Th17 细胞的主要细胞因子为 IL-17,含 A ~ F 六种亚型,血清学研究一般考察 IL-17A 与 IL-17F,因两者均为水溶性,血清含量丰富^[11]。CD4 + CD25 + Treg 细胞无特异性的细胞因子,可大量分泌 TGF- β_1 与 IL-10,且 CD4 + CD25 + Treg 细胞的形成也需要这两者的诱导^[12],

因此本研究在考察 Th17/CD4 + CD25 + Treg 细胞计数比的同时,也考察了 IL-17A、IL-17F、IL-10 及 TGF- β 1。结果显示,治疗前两组患者的血清细胞因子水平差异无统计学意义;治疗后,两组 IL-17A 与 IL-17F 水平有所升高,IL-10 与 TGF- β 1 水平有所降低,且观察组变化幅度高于对照 1 组。该结果从细胞计数和细胞因子两个方面证实了吉西他滨对缓解 Th17/CD4 + CD25 + Treg 漂移有积极作用。

肿瘤相关巨噬细胞是肿瘤间质中数量最多的炎症细胞群,大约占炎症细胞总数的 30% ~ 50%^[13]。研究指出^[14],肿瘤相关巨噬细胞能通过加快淋巴结转移与血行转移促进宫颈癌细胞的散播和扩展。也有研究指出^[15],肿瘤相关巨噬细胞能够分为极化为 M1 型和 M2 型,参与肿瘤免疫炎症的调控,类似于 Th1 细胞和 Th2 细胞。鉴定肿瘤组织中肿瘤相关巨噬细胞多采用免疫组织化学实验测定 CD68 的表达水平,虽然 CD68 也表达于脂肪细胞、成纤维细胞等其他细胞,但因为巨噬细胞缺乏特异性的谱系标志,目前尚无更好的方案。本研究采用传统方案,以 CD68 表达水平衡量肿瘤相关巨噬细胞,结果显示两组病灶组织的肿瘤相关巨噬细胞表达量均高于健康组织,且观察组病灶组织表达量高于对照 1 组病灶组织。既往也有学者^[16]指出,肿瘤组织与周边正常组织之间的肿瘤相关巨噬细胞表达存在明显的“梯度差”,与本研究结果一致。肿瘤相关巨噬细胞多来源于外周循环血中的单核细胞,受肿瘤微环境的诱导,向病灶处迁移并分化为巨噬细胞,从而为病灶增殖做准备。本研究结果一方面证实了“梯度差”的存在事实,另一方面也说明吉西他滨对肿瘤相关巨噬细胞具有明显的抑制作用。

综上所述,吉西他滨能够抑制宫颈癌患者 Th17/CD4 + CD25 + Treg 漂移和肿瘤相关巨噬细胞活性,可能是其发挥抗癌作用的重要机制之一。本研究的主要局限性在于未行靶向干预实验,明确 Th17/CD4 + CD25 + Treg 和肿瘤相关巨噬细胞之间是否存在相关性,因此,本研究仅能明确吉西他滨能作用于两者,但其确切机制尚需更加严谨的实验深入探讨。

(本文图 4 见插图 11-4)

参考文献

[1] TANTON C, SOLDAN K, BEDDOWS S, et al. High-risk human papillomavirus (HPV) infection and cervical cancer prevention in

Britain: Evidence of differential uptake of interventions from a probability survey[J]. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 2015, 24(5):842-853.

- [2] HE C, MAO D, HUA G, et al. The Hippo/YAP pathway interacts with EGFR signaling and HPV oncoproteins to regulate cervical cancer progression[J]. EMBO Molecular Medicine, 2015, 7(11): 1426-1449.
- [3] CHEN Z, DING J, PANG N, et al. The Th17/Treg balance and the expression of related cytokines in Uyghur cervical cancer patients[J]. Diagn Pathol, 2013, 8:61.
- [4] 徐华, 王丹波. 宫颈癌患者外周血 CD4 + CD25 + 调节性 T 细胞及其 Foxp3 表达的临床意义[J]. 中国妇产科临床杂志, 2015, 16(1):8-10.
- [5] CANDELARIA M, DE LA CRUZ-HERNANDEZ E, TAJA-CHAYEB L, et al. DNA methylation-independent reversion of gemcitabine resistance by hydralazine in cervical cancer cells[J]. PLoS One, 2012, 7(3): e29181. DOI: 10.1371/journal.pone.0029181.
- [6] 付改玲. 吉西他滨联合放疗治疗老年中晚期宫颈癌的临床研究[J]. 中国生化药物杂志, 2014, 35(2):138-139, 142.
- [7] PARK BV, PAN F. The role of nuclear receptors in regulation of Th17/Treg biology and its implications for diseases[J]. Cell Mol Immunol, 2015, 12(5):533-542.
- [8] NUÑEZ S, SAEZ JJ, FERNANDEZ D, et al. T helper type 17 cells contribute to anti-tumour immunity and promote the recruitment of T helper type 1 cells to the tumour[J]. Immunology, 2013, 139(1):61-71.
- [9] KARIMI S, CHATTOPADHYAY S, CHAKRABORTY NG. Manipulation of regulatory T cells and antigen-specific cytotoxic T lymphocyte-based tumour immunotherapy[J]. Immunology, 2015, 144(2):186-196.
- [10] DE AQUINO MT, MALHOTRA A, MISHRA MK, et al. Challenges and future perspectives of T cell immunotherapy in cancer[J]. Immunol Lett, 2015, 166(2):117-133.
- [11] 陈志芳, 蔡冬慧, 范玲玲, 等. 维吾尔族宫颈癌患者手术前后 HPV 感染与 Th 17/Treg 细胞的相关性[J]. 新疆医科大学学报, 2017, 40(1):106-110.
- [12] 于丹军, 樊静, 胡月, 等. 宫颈癌患者外周血中 CD4 ~ + CD25 ~ + Foxp3 ~ + 调节性 T 淋巴细胞及血清中 IL-10, TGF- β 的表达及其临床意义[J]. 标记免疫分析与临床, 2016, 23(10):1185-1190.
- [13] 吴婷, 周武雄. 肿瘤微环境中肿瘤相关巨噬细胞的研究进展[J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2016, 32(2):265-267.
- [14] NOY R, POLLARD JW. Tumor-associated macrophages: from mechanisms to therapy[J]. Immunity, 2014, 41(1):49-61.
- [15] 沈依帆, 徐曼, 王欣, 等. 人子宫颈癌肿瘤相关巨噬细胞浸润与 T 细胞亚型及临床病理特征的相关性分析[J]. 基因组学与应用生物学, 2016, 35(12):3235-3240.
- [16] 冯娜, 郝敏. 肿瘤相关巨噬细胞在宫颈癌的研究进展[J/CD]. 中华妇幼临床医学杂志(电子版), 2015, 11(5):648-651. DOI: 10.3877/cma.j.issn.1673-5250.2015.05.021

(收稿日期:2017-07-28,修回日期:2017-08-31)