

Th17 相关炎症因子与原发性肝癌关系的研究★

廖楚舒 邓中华 乐杨桦 曹友德▲

(湖南省人民医院湖南师范大学第一附属医院湖南长沙 410005)

摘要: **目的:** 探讨 Th17 相关炎症细胞因子 IL-1b、IL-6、IL-10、IL-12p70、IL-17A、IL-22、IL-23 与原发性肝癌的关系, 评价其对原发性肝癌诊断的意义。**方法:** 收集肝癌组血清标本 51 例, 其中 I 期肝癌血清标本 10 例, II 期肝癌血清标本 13 例, III 期肝癌血清标本 28 例, 收集健康对照组血清 29 例, 采用液态悬浮芯片技术进行 Th17 相关炎症细胞因子的检测。采用独立样本 t 检验比较各细胞因子肝癌组和健康对照组的差异, 应用受试者诊断特征曲线 (ROC) 得到曲线下面积评估各细胞因子的检测效能。**结果:** 分别对 IL-1b、IL-6、IL-10、IL-12p70、IL-17A、IL-22、IL-23 进行独立样本 t 检验, 7 个细胞因子中仅 IL-17A 肝癌组与正常对照组间差异具有统计学意义 ($P<0.05$), 其他 6 个细胞因子肝癌组与正常对照组之间差异没有统计学意义 ($P>0.05$); 以 IL-17A 的血清浓度为变量做 ROC 曲线, 其曲线下面积 (AUC) 为 0.882 ($P<0.05$), 说明 IL-17A 作为肝癌血清标志物具有统计学意义, 选择 IL-17A 截断点为 $11.5 \mu\text{g/ml}$, 约登指数最大, 其敏感度为 68.6%, 特异度为 93.1%。**结论:** Th17 相关炎症细胞因子 IL-1b、IL-6、IL-10、IL-12p70、IL-17A、IL-22、IL-23 中仅 IL-17A 肝癌组与正常对照组间差异具有统计学意义 ($P<0.05$)。ROC 曲线分析示 IL-17A 对肝癌具有诊断价值。

关键词: 原发性肝癌; Th17; 白介素-17 (IL-17)

★项目基金: 湖南省卫生厅科技项目

作者简介: 廖楚舒 (1989-), 女, 硕士。湖南省人民医院医院从事医学检验工作。

▲通讯作者: 曹友德, E-mail: youde120@aliyun.com

Research of the relationship of Th17 associated inflammatory factors with primary liver cancer

LIAO Chu-shu Deng zhong-hua YUE yang-hua CAO you-de

Hunan Provincial People's Hospital The First Affiliated hospital Of Human Normal University, Changsha, 410005, China

Abstract: Objective: To investigate the relationship of primary liver cancer with inflammatory cytokines of IL-1b, IL-6, IL-10, IL-12p70, IL-17A, IL-22 and IL-23, then to evaluate the diagnosis significance of primary liver cancer. **Methods:** Collect

53 cases of liver cancer serum samples, including 10 cases of the first period of liver

cancer, 13 cases of the second period of liver cancer, 28 cases of the third period of liver cancer, and collected 29 cases of serum as control group to detect inflammatory Th17-related cytokines. **Results:** Independent sample t-test results, only IL-17A were statistically significant between PHC and normal control group among 7 cytokines ($P < 0.05$), the other six cytokines liver cancer group and control group was not statistically significant ($P > 0.05$). Use IL-17A serum concentrations to make ROC curve, evaluate the possibility of cytokines as a liver cancer diagnostic marker. Its area under the curve AUC was 0.882 ($P < 0.05$), described that IL-17A as serum markers of liver cancer with statistical significance. Choose IL-17A cut-off point for the 11.5ug/ml, the sensitivity was 68.6%, specificity was 93.1%. **Conclusion:** Among Th17 related inflammatory cytokines IL-1b, IL-6, IL-10, IL-12p70, IL-17A, IL-22, IL-23, only IL-17A have difference among liver cancer group and control group and the difference was statistically significance ($P < 0.05$). ROC curve analysis showed that IL-17A has the diagnostic value of liver cancer.

Key words: primary hepatic carcinoma; Th17; IL-17.

肿瘤作为对机体的一种损伤,在其发生发展的过程中,机体会出现相应的炎症反应,特别是对于恶性肿瘤,因为是破坏性比较强,激起病人的自我防御机制也会相对明显一些。鉴于炎症与肿瘤的密切联系,对于肿瘤发生过程中炎症相关因素的参与的研究也就成为了一个重要的方向^[1]。Th17细胞被认为是一群重要的介导炎症反应的细胞,该类细胞能激活树突状细胞和T淋巴辅助细胞,通过释放细胞因子来维持慢性炎症状态和导致癌变的微环境^[2]。本研究运用液态悬浮芯片技术(Luminex xMAP)检测这些细胞因子血清表达水平进一步探讨这些细胞因子与肝癌的关系,判断其是否有潜在诊断肝癌的价值,为肝癌血清肿瘤标记物筛查及靶向治疗提供依据。

1、资料与方法

1.1 资料来源:本研究肝癌组 53 份肝癌患者血清标本来自湖南省人民医院 2013 年 1 月-2014 年 3 月住院已经确诊的原发性肝癌患者,其中男 32 例,女 21 例,年龄 35-82 岁,平均年龄(57.8 ± 15)岁,其中按照原发性肝癌中国(CS)分期标准^[3], 53 份病例原发性肝癌患者分为 3 期, I 期 10 例其中男 7 例,女 3 例,年龄 38~79 岁,平均年龄 54.9 ± 17.6 岁, 2 期 13 例其中男 8 例,女 5 例,年龄 35~82 岁,平均年龄 59.8 ± 23.6 岁, 3 期 28 例其中男 19 例,女 9 例,年龄 37~80 岁,平均年龄 57.7 ± 21.7 岁,健康对照组收集肝功能及肝脏 B 超正常的体检血清标本 29 份,其中男 15 例,女 14 例,年龄 35~78 岁,平均年龄 51.8 ± 24.3 岁。肝癌组与健康对照组之间、肝癌组各分期之间年龄性别经分析无统计学差异。

1.2 方法:

1.2.1 肝癌组于晨起 6 时左右空腹,自肘正中静脉抽取静脉血 3~4mL, 3000 r/min 离心 15min,分离血清,120 μ l 分装于 EP 管中,置于 -70℃ 保存待检。健康对照组处理同上。

1.2.2 Th 相关炎症细胞因子血清浓度的检测采用液相芯片 Luminex xMAP 技术进行检测，液相芯片七因子组合试剂盒购自美国 eBioscience 公司。检测步骤严格按照试剂盒说明操作。

1.3 统计学方法：应用 SPSS19.0 统计软件进行统计分析。各细胞因子正常对照组与肝癌组的比较采用独立样本 t 检验；应用 ROC 得到曲线 AUC 评估细胞因子指标的预测效能。以最大约登指数计算血清细胞因子的临界值(Cut-off points)。所有结果以 P<0.05 认为有统计学差异。

2. 结果

2.1 Th17 相关炎症因子进行正常对照组与肝癌组比较

分别对 Th17 相关炎症因子 IL-1b、IL-6、IL-10、IL-12p70、IL-17A、IL-22、IL-23 进行独立样本 t 检验，结果如表 1，7 个细胞因子中仅 IL-17A 肝癌组与正常对照组间差异具有统计学意义（P<0.05），其他 6 个细胞因子肝癌组与正常对照组之间差异没有统计学意义（P>0.05）。

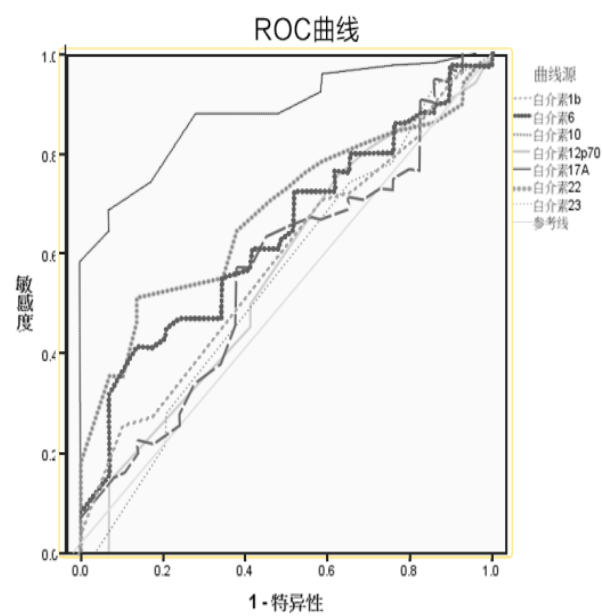
表 1 各细胞因子肝癌组和正常对照组均值比较(pg/ml)

细胞因子	组别	N	均值±标准差	t	P
IL-1b	正常对照组	29	5.68±1.61	0.657	P>0.05
	肝癌组	51	5.39±2.04		
IL-6	正常对照组	29	36.72±23.62	0.944	P>0.05
	肝癌组	51	55.44±105.01		
IL-10	正常对照组	29	23.41±12.07	0.444	P>0.05
	肝癌组	51	25.19±19.53		
IL-12p70	正常对照组	29	12.22±1.34	0.329	P>0.05
	肝癌组	51	12.31±1.07		
IL-17A	正常对照组	29	7.53±2.98	6.505	P<0.05
	肝癌组	51	18.14±8.47		
IL-22	正常对照组	29	12.68±2.22	1.448	P>0.05
	肝癌组	51	11.45±4.25		
IL-23	正常对照组	29	8.24±1.04	0.833	P>0.05
	肝癌组	51	8.06±0.86		

2.2 ROC 曲线分析各细胞因子诊断效能

以 IL-1b、IL-6、IL-10、IL-12p70、IL-17A、IL-22、IL-23 的血清浓度为变量做 ROC 曲线（见图 1），评价各因子作为肝癌血清诊断标志物的可能性。其曲线 AUC 见表 2，IL-1b 为 0.584 (P>0.05)，IL-6 为 0.637(P>0.05)，而 IL-10 为 0.560 (P>0.05)，IL-12p70 为 0.557 (P>0.05)，IL-22 为 0.615 (P>0.05)，IL-23 为 0.549 (P>0.05),而仅 IL-17A 为 0.882 (P<0.05)，说明 Th17 相关炎症因子仅 IL-17A 作为肝癌血清标志物具有统计学意义，而其他几个指标作为肝癌血清标志物均没有统计学意义。根据 ROC 曲线，当选择约登指数最高的点作为最佳

截断点来诊断肝癌患者和健康人，IL-17A 截断点为 11.5pg/ml，其敏感度为 68.6%，特异度为 93.1%，如表 3。



图（1）ROC 曲线分析 Th17 相关炎症因子诊断肝癌组与正常组

表 2 ROC 对七个细胞因子诊断正常与肝癌患者的分析结果(n=80)

指 标	AUC	标准误	P 值	95%可信区间
IL-1b	0.584	0.065	>0.05	0.456-0.711
IL-6	0.637	0.062	>0.05	0.514-0.759
IL-10	0.560	0.067	>0.05	0.429-0.691
IL-12p70	0.557	0.068	>0.05	0.424-0.690
IL-17A	0.882	0.037	<0.05	0.811-0.954
IL-22	0.615	0.063	>0.05	0.491-0.739
IL-23	0.549	0.068	>0.05	0.415-0.683

表 3 IL-17A 诊断肝癌组和正常组敏感度、特异度及约登指数.(n=80)

指 标	敏感度 (%)	特异度 (%)	约登指数 (敏感度%) + (特异度% -1)
-----	---------	---------	----------------------------

IL-17A	68.6	93.1	0.610
--------	------	------	-------

2、讨论

近年来研究的热点“肿瘤微环境”，认为炎症、免疫、肿瘤三者有着密切的关系。认为炎症反应在肿瘤的发生、进展、恶性转化、侵袭和转移中都扮演了重要角色^[4]。同时在机体炎症过程和免疫应答两者之间又有着密切的关系，已有学者提出有1/5的癌症是与慢性感染相关^[5]。Th17细胞被认为是一群重要的介导炎症反应的细胞，该类细胞能激活树突状细胞和T淋巴辅助细胞，通过释放细胞因子来维持慢性炎症状态和导致癌变的微环境。

Th17分泌的细胞因子除了IL-17 (IL-17A) 外，还包括IL-17F，以及IL-21、IL-22、IL-6等细胞因子^[6]。IL-17是一种重要的炎症介质，它可以通过诱导其他炎症细胞因子（如IL-6），及趋化因子（如MCP-1、MIP-2）等的表达，介导炎症细胞到局部的浸润及组织损伤^[7]。肝癌与炎症的关系与其他肿瘤相比，可能关系更加密切，因为约有60-80%的肝癌患者存在的乙型肝炎病毒或者丙型肝炎病毒感染而导致的肝内炎症环境，在亚洲国家主要以感染乙肝病毒为主，而在欧美国家以感染丙型肝炎病毒为主^[8]。

ROC 曲线是根据一系列不同的二分类方式，以真阳性率(敏感度)为纵坐标，假阳性率(1-特异度)为横坐标绘制的曲线，可以判断指标的潜在诊断价值，该曲线可以查出任意分界值时该指标对疾病识别能力的大小。实际应用中，可以通过 ROC 曲线分析选择最佳的诊断 cut-off 值。ROC 曲线越靠近左上角，试验的准确性就越高。一般来说，在对同一种疾病的两种或两种以上诊断方法进行比较时，可将各试验的 ROC 曲线绘制到同一坐标中，以更加直观地鉴别优劣，越靠近左上角的 ROC 曲线所代表的受试者诊断特征越准确，也可通过分别计算各个试验的 ROC 曲线下的面积(AUC)进行比较，若该项指标的 AUC 最大，则其诊断价值最佳^[9]。

文献报道IL-17具有促进多种肿瘤生长的作用，这些肿瘤包括膀胱癌、皮肤癌、卵巢癌、乳腺癌^[10-11]。IL-17和肝癌有着密切的关系，肝癌细胞中IL-17经过活化IL-6/JAK2/STAT3 的 AKT通路，促进肝癌的发生、与进展^[12]。肝癌血清高表达的IL-17和IL-17RE的肝癌患者预后可能较差，IL-17诱导的CD4+T细胞可能参与了肝癌炎症与免疫的信号通路^[13]，本研究中对肝癌组的IL-17的浓度较正常对照组的浓度增高，其判断肝癌的的ROC曲线下面积为0.882，选择IL-17A截断点为11.5pg/ml，约登指数最大，其敏感度为68.6%，特异度为93.1%，该指标具有统计学意义（P<0.05）。这一结果提示IL-17与肝癌发生有关，可能成为肝癌血清标志蛋白。

综上所述： Th17 细胞相关 IL-1b、IL-6、IL-10、IL-12p70、IL-17A、IL-22、IL-23 七个细胞因子中仅 IL-17A 肝癌组与正常对照组间差异具有统计学意义（P<0.05）,ROC 曲线分析示 IL-17A 对肝癌具有诊断价值。

参考文献

- [1] 谢延,赵云鹏,张胜男.肝细胞癌的肿瘤标记物研究进展[J].实用预防医学,2010,17（6）：：143-1246.
- [2] Su X, Ye J, Hsueh EC, Zhang Y, et al. Tumor microenvironments direct the recruitment and expansion of human Th17 cells[J]. J Immunol. 2010, 184:1630–41.
- [3] 中华医学会编著：《临床诊疗指南》肿瘤分册，人民卫生出版社 2005 年 11 月第 1 版，

325—326.

- [4] Jing Y, Han Z, Zhang S, et al. Epithelial-Mesenchymal Transition in tumor microenvironment[J]. *Cell Biosci*, 2011, 1: 29.
- [5] Coffelt S B, de Visser K E. Cancer: Inflammation lights the way to metastasis[J]. *Nature*, 2014, 507(7490): 48-49.
- [6] Tosolini M, Kirilovsky A, Mlecnik B, et al. Clinical impact of different classes of infiltrating T cytotoxic and helper cells (Th1, th2, treg, th17) in patients with colorectal cancer[J]. *Cancer Res*. 2011,71:1263–71.
- [7] Stockinger B, Veldhoen M, Martin B. Th17 T cells: linking innate and adaptive immunity[J]. *Semin Immunol*, 2007, 19(6): 353-361.
- [8] Hirota K, Martin B, Veldhoen M. Development, regulation and functional capacities of Th17 cells[J]. *Semin Immunopathol*, 2010, 32(1): 3-16.
- [9] Chabi M L, Borget I, Ardiles R, et al. Evaluation of the accuracy of a computer-aided diagnosis (CAD) system in breast ultrasound according to the radiologist's experience[J]. *Acad Radiol*, 2012, 19(3): 311-319.
- [10] Mendes E A, Mendes T A, Dos S S, et al. Expression of IL-4, IL-10 and IFN-gamma in the liver tissue of cattle that are naturally infected with *Fasciola hepatica*[J]. *Vet Parasitol*, 2013, 195(1-2): 177-182.
- [11] Dhar D, Seki E, Karin M. NCOA5, IL-6, type 2 diabetes, and HCC: The deadly quartet[J]. *Cell Metab*, 2014, 19(1): 6-7.
- [12] Santini D, Addeo R, Vincenzi B, et al. Exploring the efficacy and safety of single-agent sorafenib in a cohort of Italian patients with hepatocellular carcinoma[J]. *Expert Rev Anticancer Ther*, 2012, 12(10): 1283-1288.
- [13] Yau T, Chan P, Epstein R, et al. Management of advanced hepatocellular carcinoma in the era of targeted therapy[J]. *Liver Int*, 2009, 29(1): 10-17.