

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2013.06.016

· 短篇论著 ·

胃癌患者外周血干扰素水平的变化及其临床意义

Changes in interferon levels in peripheral blood of patients with gastric cancer and its clinical significance

郑雅文, 赵华, 魏枫, 于津浦, 李慧, 张新伟, 任秀宝(天津医科大学肿瘤医院免疫室, 国家肿瘤临床医学研究中心, 天津市肿瘤免疫与生物治疗重点实验室, 天津 300060)

[摘要] 目的: 检测胃癌患者外周血各类干扰素(Interferon, IFN)水平, 探讨其与临床病理特征的关系。方法: 收集天津医科大学附属肿瘤医院胃部肿瘤科 2012 年 3 月至 2012 年 5 月收治的 47 例初治胃腺癌患者外周血, 以同期收集的 25 例健康人外周血为对照, ELISA 法检测血清中 IFN- α 、IFN- β 、IFN- γ 、IFN- λ 1 以及 IFN- λ 2/3 含量, 分析各类 IFN 含量与患者性别、年龄、肿瘤分化程度、原发部位及各项生化指标间的相关性。结果: 与健康对照相比, IFN- β 在 I、II 期胃癌中表达升高 ($P = 0.009$), IFN- λ 1 在 III、IV 期胃癌中表达下降 ($P < 0.001$), 而 IFN- γ 和 λ 2/3 在 III、IV 期胃癌中表达升高 ($P = 0.029$; $P = 0.004$)。IFN- α 、 β 含量与肿瘤发生部位有密切关系 ($P = 0.003$; $P = 0.004$); IFN- γ 与 LDH 水平密切相关 ($P = 0.013$)。结论: 胃癌患者外周血中不同 IFN 亚型呈现不同的表达变化, 其变化与胃癌发生部位、分期及 LDH 水平相关, 提示 IFN 家族成员可能对肿瘤的发生发展发挥各自的作用。

[关键词] 干扰素; 外周血; 胃癌; 乳酸脱氢酶

[中图分类号] R735.2; R730.54

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-385X(2013)06-0725-04

干扰素(Interferon, IFN)存在三个亚型: I 型 IFN- α/β 等; II 型 IFN- γ ; III 型 IFN- λ 1, λ 2/3^[1]。所有的 IFNs 都具有抗病毒、抗肿瘤的作用, 临床上可用于乙肝、多发性硬化、慢性肉芽肿、恶性黑素瘤、肾癌等的治疗。III 型 IFN 是一类 2003 年发现的 IFN 家族的新成员, 与 I 型 IFN 有很多相似之处, 但又具有自己的特点, 特别是在免疫调节方面^[2]。目前关于各型 IFN 抑制肿瘤生长的研究已经有很多, 但关于肿瘤患者自身 IFN 表达情况尚未见报道。本研究检测胃癌患者外周血各类干扰素水平, 探讨其表达变化与临床病理特征的关系。

1 材料与方法

1.1 一般资料

收集天津医科大学附属肿瘤医院胃部肿瘤科 2012 年 3 月至 2012 年 5 月收治的初治胃腺癌患者 47 例设为实验组, 其中男性 31 例, 女性 16 例; 中位年龄 63 岁(31~80 岁)。根据 AJCC/UICC 7 版胃癌 TNM 分期标准, 47 例胃癌中, I、II 期 19 例, III、IV 期 28 例。所有患者均临床资料完整, ECOG 评分 0~1, 未进行手术、化疗和放疗, 均经活检或手术病理证实, 诊断明确; 排除患有自身免疫病、肝炎者。采集患者病理类型、肿瘤部位、手术与否、吸烟、饮酒、血常规、肿瘤标志物、生化指标等临床病理资料。25 名健康查体者设为对照组, 其中男性 13 名, 女性 12

名, 中位年龄 53 岁(28~71 岁), 排除患有自身免疫病、肝炎者。

1.2 主要试剂

IFN- α 、IFN- β ELISA 试剂盒购自美国 Bio-Swamp 公司, IFN- γ ELISA 试剂盒购自北京达科为生物技术有限公司, IFN- λ 1、 λ 2/3 ELISA 试剂盒购自美国 Biologend 公司。

1.3 ELISA 法检测胃癌患者 IFN 的表达水平

清晨取胃癌患者和对照组空腹静脉血 5 ml, 静置 2 h 后离心取血清, 分装于 EP 管中, 置于 -80℃ 冰箱储存备用。以 ELISA 法检测五种 IFN 亚型(IFN- α 、IFN- β 、IFN- γ 、IFN- λ 1 以及 IFN- λ 2/3)的表达水平。

1.4 统计学分析

采用 SPSS21.0 统计软件分析。IFN- α 、 β 含量呈偏态分布, 集中趋势使用中位数表示, 组间比较采用非参数检验中的 Kruskal-Wallis H 检验, IFN- γ 、 λ 1、 λ 2/3 含量呈正态分布, 集中趋势使用均数表示,

[基金项目] 国家重点基础研究发展计划(973 计划)资助项目(No. 2012CB9333004)。Project Supported by the National Basic Research Program(973 Program) of China(No. 2012CB9333004)

[作者简介] 郑雅文(1987-), 女, 山东日照人, 硕士生, 主要从事肿瘤生物治疗基础及临床研究。E-mail: my123454321@126.com

[通信作者] 任秀宝(Ren Xiubao, corresponding author), E-mail: rwz-iyi@yahoo.com

组间比较采用方差分析, 两两比较用 SNK-q 检验。以 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 胃癌患者外周血中各类 IFN 含量的变化

IFN- α 在对照组和 I、II 期及 III、IV 期胃癌患者的中位数分别为 144.1、173.1 和 104.3 pg/ml, 差异无统计学意义 ($H = 3.05, P = 0.218$)。

IFN- β 在对照组和 I、II 期及 III、IV 期胃癌患者的中位数分别为 86.8 pg/ml、177.5 pg/ml 和 120.0 pg/ml, 三组间差异有统计学意义 ($H = 8.91, P = 0.012$)。其中, I、II 期患者外周血 IFN- β 含量显著高于对照组 ($P = 0.009$)。

IFN- γ 在对照组和 I、II 期及 III、IV 期胃癌患者的含量分别为 (17.9 \pm 7.8)、(19.1 \pm 15.5) 和 (27.2 \pm

16.0) pg/ml, 三组间差异有统计学意义 ($F = 3.65, P = 0.031$)。其中 III、IV 期患者 IFN- γ 含量显著高于对照组 ($P = 0.029$)。

IFN- $\lambda 1$ 在对照组和 I、II 期及 III、IV 期胃癌患者的含量分别为 (117.2 \pm 42.1)、(122.1 \pm 45.1) 和 (67.7 \pm 47.6) pg/ml, 三组间差异有统计学意义 ($F = 11.29, P < 0.001$)。其中对照组及 I、II 期患者外周血 IFN- $\lambda 1$ 含量均显著高于 III、IV 期患者 (均 $P < 0.001$)。

IFN- $\lambda 2/3$ 在对照组和 I、II 期及 III、IV 期胃癌患者的含量分别为 (5.6 \pm 1.5)、(6.4 \pm 1.6) 和 (8.0 \pm 3.9) pg/ml, 三组间差异有统计学意义 ($F = 5.39, P = 0.007$)。其中 III、IV 期患者 IFN- $\lambda 2/3$ 显著高于对照组 ($P = 0.004$) (图 1, 表 1)。

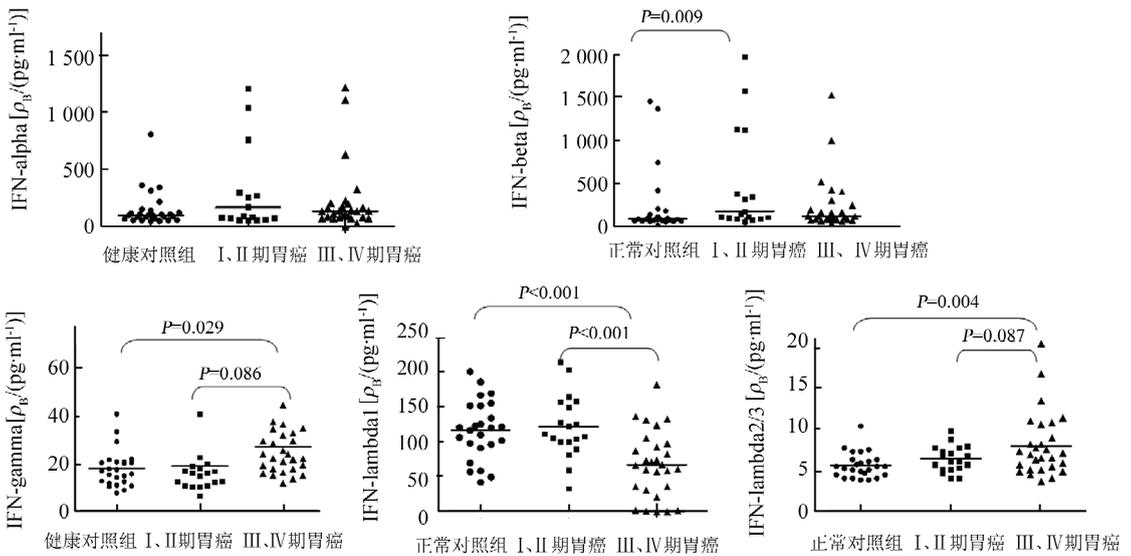


图 1 胃癌患者与健康对照者外周血中各类 IFN 的表达

2.2 IFN 含量与胃癌患者临床病理特征的关系

分析发现, IFN- α 、 β 含量与肿瘤发生部位有关。原发于胃窦的患者, 其血清中 IFN- α/β 的含量显著高于原发于其他部位的患者 ($P = 0.003; P = 0.004$)。胃癌患者中, IFN- $\alpha > 500$ pg/ml 且 IFN- $\beta > 500$ pg/ml 共有 8 例, 其中 I 期 3 例、II 期 3 例, 术后病理证实其均原发于胃窦。IFN- γ 与 LDH 含量相关 ($P = 0.013$), LDH 含量高的患者 IFN- γ 含量也较高。另外发现, IFN- $\lambda 1$ 含量与临床分期密切相关, I、II 期患者血清中 IFN- $\lambda 1$ 水平显著高于 III、IV 期 ($P < 0.001$)。未发现其他 IFN 与临床病理特征存在明显关系 ($P > 0.05$) (见表 2)。

表 1 5 种 IFN 在对照组、I、II 期胃癌和 III、IV 期胃癌的集中趋势比较 [$\rho_B / (\text{pg} \cdot \text{ml}^{-1})$]

IFN 亚型	对照组 (25 例)	I、II 期胃癌 (19 例)	III、IV 期胃癌 (28 例)	P 值
IFN- α	144.1	173.1	104.3	0.218
IFN- β	86.8	177.5	120.0	0.012
IFN- γ	17.9	19.1	27.2	0.031
IFN- $\lambda 1$	117.2	122.1	67.7	<0.001
IFN- $\lambda 2/3$	5.6	6.4	8.0	0.007

表2 胃癌患者外周血 IFN 含量与临床病理特征的关系[$\rho_B / (\text{pg} \cdot \text{ml}^{-1})$]

项目	例数	IFN- α	<i>P</i>	IFN- β	<i>P</i>	IFN- γ	<i>P</i>	IFN- $\lambda 1$	<i>P</i>	IFN- $\lambda 2/3$	<i>P</i>
性别			0.728		0.439		0.243		0.560		0.637
男	31	112.9		165.9		20.7		90.04		7.69	
女	16	104.3		116.5		30.3		86.30		7.21	
年龄(t/a)			0.484		0.584		0.609		0.942		0.303
<60	18	112.9		149.6		22.39		88.88		6.75	
≥ 60	29	102.1		122.9		24.90		90.07		7.77	
肿瘤分化			0.831		0.694		0.868		0.472		0.839
中高分化	16	104.3		121.1		23.38		97.54		7.51	
低分化	31	110.7		126.4		24.22		85.53		7.31	
临床分期			0.278		0.095		0.089		<0.001		0.054
I、II期	19	173.1		177.5		19.1		122.05		6.40	
III、IV期	28	104.3		120.0		27.2		67.67		8.04	
原发部位			0.003		0.004		0.703		0.057		0.727
胃窦	24	241.4		309.0		24.4		102.2		7.32	
其他部位	21	96.2		105.4		22.5		72.4		6.99	
LDH[Z/U · L ⁻¹]			0.707		0.871		0.013		0.860		0.313
<200	32	106.4		129.8		19.1		88.1		7.03	
≥ 200	13	105.4		126.4		26.4		91.2		8.12	

* 其他部位包括:胃底、胃体、弥漫全胃

3 讨论

在肿瘤发生的不同阶段,机体的免疫功能处于不同的状态。早期免疫功能相对完善,试图达到免疫平衡、甚至消除肿瘤,进展期则很可能已经出现了免疫耐受,产生免疫逃逸^[3]。通过检测各类免疫细胞比例或细胞因子含量的变化有利于了解机体的免疫状态。IFN与机体抗肿瘤密切相关,它不仅能够直接作用于肿瘤细胞,也能够通过调节免疫细胞来对肿瘤细胞产生影响。研究^[4]表明,内源性的I型IFN具有肿瘤免疫监视并抑制肿瘤生长的作用。本研究发现,IFN- α 、IFN- β 在I、II期胃癌中显示出上升的趋势,提示机体免疫功能相对完善,试图达到免疫平衡甚至清除肿瘤;在III、IV期胃癌患者中呈现出下降的

趋势,提示随肿瘤的发展,I型IFN产生受抑制,有利于产生免疫耐受。可能由于样本量不足,除早期胃癌患者的IFN- β 高于对照组有统计学意义外($P < 0.05$),其他各组间差异无统计学意义。

II型IFN分泌情况与I型IFN呈现不甚相同的表达情况。IFN- γ 在III、IV期胃癌中的表达呈现升高的趋势($P = 0.029, P = 0.086$)。目前,越来越多的研究证明IFN- γ 在肿瘤发生的不同阶段具有不同的作用,如IFN- γ 能够通过下调内源性的肿瘤抗原造成肿瘤逃逸^[5],并使肿瘤细胞抵抗CTL的杀伤^[6]。在葡萄膜黑素瘤中,血浆中IFN- γ 水平升高与肿瘤的转移相关,是不良的预后信号^[7];IFN- γ 能够诱导叫喋胺2,3-双加氧酶的产生,参与形成免疫耐受^[8],这些与本研究的结论一致。有研究^[9-10]表

明,血清中 LDH 在肿瘤进展期会升高,与患者不良预后相关。本研究发现,LDH 含量高的患者 IFN- γ 水平也较高($P=0.013$),从另一个角度提示患者外周血 IFN- γ 升高或与不良预后相关。

Ⅲ型 IFN 对免疫系统的作用目前尚未完全阐明,有研究^[11-13]证实它能够调节 NK 细胞、T 细胞和 DC 的抗肿瘤作用;但也有研究表明它参与免疫耐受的形成^[14-15]。本研究发现,IFN- $\lambda 1$ 在胃癌Ⅲ、Ⅳ期患者中含量低,提示其可能具有正性免疫作用,含量降低不利于免疫细胞发挥抗肿瘤作用;而 IFN- $\lambda 2/3$ 在胃癌Ⅲ、Ⅳ期患者中含量高,提示其可能呈现负性免疫作用,含量升高有利于免疫耐受的形成。

有研究^[16]报道,与胃其他部位的肿瘤相比,胃窦癌直径较小、浸润较浅、淋巴结转移较少、静脉侵犯较少且预后相对较好。本研究发现,原发于胃窦的患者 IFN- α 及 IFN- β 的含量明显高于原发于其他部位的患者,这或许是因为胃窦癌发生与幽门螺旋杆菌感染更为相关^[17],而易诱导较强的免疫应答。但为何其他种类干扰素不存在这种与胃癌发生部位相关的差异,尚有待进一步研究。

本研究采用 ELISA 方法检测胃癌患者外周血清中 IFN 家族的表达情况,显示不同 IFN 亚型呈现出的不同表达变化,提示 IFN 家族各个亚型在肿瘤发生、发展中可能发挥着不同的作用。

[参 考 文 献]

[1] Kotenko SV. IFN-lambdas [J]. *Curr Opin Immunol*, 2011, 23 (5): 583-590.

[2] Zheng YW, Li H, Yu JP, et al. Interferon-lambdas: Special immunomodulatory agents and potential therapeutic targets [J]. *J Innate Immun*, 2013, 5(3): 209-218.

[3] Kim R, Emi M, Tanabe K. Cancer immunoeediting from immune surveillance to immune escape [J]. *Immunology*, 2007, 121 (1): 1-14.

[4] Dunn GP, Koebel CM, Schreiber RD. Interferons, immunity and cancer immunoeediting [J]. *Nat Rev Immunol*, 2006, 6(11): 836-848.

[5] Beatty GL, Paterson Y. IFN-gamma can promote tumor evasion of the immune system *in vivo* by down-regulating cellular levels of an endogenous tumor antigen [J]. *J Immunol*, 2000, 165(10): 5502-5508.

[6] Malmberg KJ, Levitsky V, Norell H, et al. IFN-gamma protects short-term ovarian carcinoma cell lines from CTL lysis via a CD94/ NKG2A-dependent mechanism [J]. *J Clin Invest*, 2002, 110 (10): 1515-1523.

[7] Hallerlalm K, Seki K, De Geer A, et al. Modulation of the tumor cell phenotype by IFN-gamma results in resistance of uveal melanoma cells to granule-mediated lysis by cytotoxic lymphocytes [J]. *J Immunol*, 2008, 180(6): 3766-3774.

[8] Puccetti P. On watching the watchers: IDO and type I / II IFN [J]. *Eur J Immunol*, 2007, 37(4): 876-879.

[9] Kostakis ID, Vaiopoulos AG, Philippou A, et al. Preoperative serum lactate dehydrogenase levels in colorectal and gastric cancer: A hospital-based case-control study [J]. *Biomark Med*, 2013, 7 (1): 131-137.

[10] Zhou GQ, Tang LL, Mao YP, et al. Baseline serum lactate dehydrogenase levels for patients treated with intensity-modulated radiotherapy for nasopharyngeal carcinoma: A predictor of poor prognosis and subsequent liver metastasis [J]. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2012, 82(3): e359-e365.

[11] Morrow MP, Pankhong P, Laddy DJ, et al. Comparative ability of IL-12 and IL-28B to regulate Treg populations and enhance adaptive cellular immunity [J]. *Blood*, 2009, 113(23): 5868-5877.

[12] Wongthida P, Diaz RM, Galivo F, et al. Type III IFN interleukin-28 mediates the antitumor efficacy of oncolytic virus VSV in immune-competent mouse models of cancer [J]. *Cancer Res*, 2010, 70(11): 4539-4549.

[13] Numasaki M, Tagawa M, Iwata F, et al. IL-28 elicits antitumor responses against murine fibrosarcoma [J]. *J Immunol*, 2007, 178 (8): 5086-5098.

[14] He SH, Chen X, Song CH, et al. Interferon-lambda mediates oral tolerance and inhibits antigen-specific, T-helper 2 cell-mediated inflammation in mouse intestine [J]. *Gastroenterology*, 2011, 141 (1): 249-258, 251-258.

[15] Mennechet FJ, Uze G. Interferon-lambda-treated dendritic cells specifically induce proliferation of FOXP3-expressing suppressor T cells [J]. *Blood*, 2006, 107(11): 4417-4423.

[16] Pinto-De-Sousa J, David L, Seixas M, et al. Clinicopathologic profiles and prognosis of gastric carcinomas from the cardia, fundus/body and antrum [J]. *Dig Surg*, 2001, 18(2): 102-110.

[17] 侯云修, 王巧银, 王金燕, 等. 幽门螺旋杆菌感染与胃癌部位和类型的关系 [J]. *西安交通大学学报: 医学版*, 2003, 24 (6): 629-630.

[收稿日期] 2013 - 06 - 06

[修回日期] 2013 - 10 - 15

[本文编辑] 黄静怡

《中国肿瘤生物治疗杂志》欢迎投稿、欢迎订阅