

· 论 著 ·

# IL-17 和 IL-17R 在原发性肝细胞癌中的表达 及与临床病理的关系

张晶晶, 叶奕菁, 陆小军

中山大学附属中山医院肿瘤放疗科, 广东 中山 528403

**摘要:** **目的** 探讨原发性肝细胞癌白细胞介素(IL)-17 及 IL-17 受体(IL-17R)的表达及与临床病理的关系。**方法** 选择 2011 年 1 月至 2014 年 8 月 40 例原发性肝细胞癌患者为研究对象(肝细胞癌组),并选择同期肝纤维瘤患者 40 例(肝纤维瘤组)和体检健康者 40 例(对照组)作为对照。采用免疫组化方法检测不同组织中 IL-17、IL-17R 的表达,并对 IL-17、IL-17R 的表达与原发性肝细胞癌临床病理的关系进行统计学分析。**结果** 肝细胞癌组织 IL-17、IL-17R 的表达高于癌旁组织和肝纤维瘤,差异均有统计学意义( $P$  均  $<0.01$ );肝细胞癌 IL-17、IL-17R 的表达阳性率(75.0%、70.0%) 高于癌旁组织(47.5%、32.5%)和肝纤维瘤(37.5%、35.0%),差异均有统计学意义( $P$  均  $<0.01$ );肝细胞癌 IL-17、IL-17R 的表达与原发灶分期、分化程度及淋巴结转移有关( $P$  均  $<0.05$ )。肝细胞癌患者术前血清 IL-17 水平高于对照组,差异有统计学意义( $P < 0.01$ ),术后 IL-17 水平低于术前,差异有统计学意义( $P < 0.01$ )。**结论** IL-17、IL-17R 在原发性肝细胞癌中呈高表达;IL-17、IL-17R 可能参与了肝细胞癌的发生、转移和进展。

**关键词:** 原发性肝细胞癌; 白细胞介素 17; 白细胞介素 17 受体; 临床病理特征; 相关性

**中图分类号:** R 735.7 **文献标识码:** A **文章编号:** 1674-8182(2015)07-0851-04

## Expressions of interleukin-17 and interleukin-17 receptor in primary hepatocellular carcinoma and their correlations with clinicopathological features

ZHANG Jing-jing, YE Yi-jing, LU Xiao-jun

Department of Tumor Radiotherapy, Affiliated Zhongshan Hospital of Sun Yat-sen University,  
Zhongshan, Guangdong 528403, China

**Abstract: Objective** To study the expressions of Interleukin (IL)-17 and IL-17 receptor (IL-17R) in primary hepatocellular carcinoma and their correlations with clinicopathological features of tumor. **Methods** Forty patients with primary hepatocellular carcinoma admitted in our hospital between January 2011 and August 2014 were selected as the research objects (hepatocellular carcinoma group), and 40 cases of liver fibroma (liver fibroma group) and 40 healthy subjects (control group) at the same time were selected as control. The expressions of IL-17 and IL-17R in liver tissues were measured by immunohistochemical method and their correlations with clinicopathological features of primary hepatocellular carcinoma were statistically analyzed. **Results** The expressions of IL-17 and IL-17R in primary hepatocellular carcinoma were significantly higher than those in the tissues adjacent to carcinoma and liver fibroma (all  $P < 0.01$ ), and their positive expression rates in primary hepatocellular carcinoma (75.0%, 70.0%) were significantly higher than those in the tissues adjacent to carcinoma (47.5%, 32.5%) and liver fibroma (37.5%, 35.0%). The expressions of IL-17 and IL-17R in primary hepatocellular carcinoma were correlated with the staging and differentiation degree of primary foci and lymph node metastasis (all  $P < 0.05$ ). Preoperative serum IL-17 level in primary hepatocellular carcinoma patients was significantly higher than that in control group ( $P < 0.01$ ), and the postoperative serum IL-17 level dropped obviously compared with preoperative level ( $P < 0.01$ ). **Conclusion** IL-17 and IL-17R present high-expression in primary hepatocellular carcinoma, and they might be involved in the occurrence, metastasis and development of primary hepatocellular carcinoma.

**Key words:** Primary hepatocellular carcinoma; Interleukin-17; Interleukin-17 receptor; Clinicopathological features; Correlation

原发性肝细胞癌是常见的消化系统恶性肿瘤,近年来其发病率、死亡率均呈上升趋势,因此对肝细胞癌尽早诊治具有重要意义<sup>[1-2]</sup>。白细胞介素(IL)-17为重要的促炎因子,在机体炎症发生及进展过程中起重要作用<sup>[3]</sup>。研究显示,IL-17在恶性肿瘤中可呈现异常表达<sup>[4]</sup>。本研究通过检测原发性肝细胞癌中IL-17、IL-17受体(IL-17R)的表达,探讨IL-17、IL-17R在肝细胞癌发生、转移和进展中的可能作用。

## 1 资料与方法

1.1 一般资料 选择2011年1月至2014年8月本院收治的40例肝细胞癌患者为研究对象(肝细胞癌组),男35例,女5例;年龄45~80岁,平均(58.0±6.0)岁,体质指数(21.7±3.2) kg/m<sup>2</sup>。40例患者均经手术病理证实为肝细胞癌,符合原发性肝细胞癌的诊断标准<sup>[2]</sup>。按照TNM分期,I~II期16例,III~IV期24例。选取同期40例肝纤维瘤患者(肝纤维瘤组),肝纤维瘤由术后病理证实,男34例,女6例;年龄(54.0±4.0)岁,体质指数(22.4±3.5) kg/m<sup>2</sup>。选取同期在本院门诊的健康体检者40例(对照组),男32例,女8例;年龄(55.0±5.0)岁,体质指数(23.2±3.4) kg/m<sup>2</sup>。3组在年龄、性别、体质指数方面差异无统计学意义( $P$ 均>0.05),有可比性。本研究获我院伦理委员会审查批准,并经患者签署知情同意书。

1.2 肝细胞癌纳入与排除标准 纳入标准<sup>[1]</sup>:年龄45~80岁;原发性肝细胞癌;首次手术;已行常规影像学检查;无严重心血管疾病;入组对象知情同意。排除标准<sup>[1]</sup>:近3个月内接受靶向治疗、放化疗者;严重精神疾病者;肺结核者;免疫性疾病者;急性感染者;其他系统恶性肿瘤;过度饮酒者;资料缺失;未完成随访者。

## 1.3 研究方法

1.3.1 标本采集 选择冷冻癌组织、癌旁组织及纤维瘤组织蜡块,切片厚度约5 μm,后在45℃水箱中展片,并于65℃烤箱中过夜<sup>[1]</sup>。于肝细胞癌及肝纤维瘤患者手术前和手术1周后抽取外周血4 ml,并抽取对照组外周血4 ml,3 500 r/min,离心10 min,取上清液-80℃保存。

1.3.2 指标检测 采用免疫组化方法检测IL-17、IL-17R的表达,兔抗人IL-17多克隆抗体购自美国Santa Cruz公司,鼠抗人IL-17R多克隆抗体购自美国Abcam公司,试剂盒兔抗羊IgG二抗及SP染色试剂盒购自于上海华大科技有限公司。采用ELISA法

检测入组对象血IL-17水平,试剂盒购自于上海华大科技有限公司。均严格按照试剂盒说明书操作。

1.4 判定标准 细胞染色强度:无染色0分,淡黄色1分,棕黄色2分,深褐色3分。染色细胞阳性率:0分为阴性;~25%为1分;~50%为2分;~75%为3分;大于75%为4分。得分为0即阴性,2~3分即弱阳性,4~5分即阳性,6~7分即强阳性<sup>[1]</sup>。

1.5 统计学处理 采用SPSS 19.0软件进行统计学处理。计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 $t$ 检验。计数资料采用 $\chi^2$ 检验,病理参数间统计执行person $\chi^2$ 检验,等级资料比较采用秩和检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 不同组织IL-17、IL-17R表达情况比较 肝细胞癌IL-17、IL-17R的表达水平均高于癌旁组织和肝纤维瘤,差异均有统计学意义( $P$ 均<0.01)。见表1。

2.2 不同组织IL-17、IL-17R的检测阳性率比较 肝细胞癌IL-17表达的阳性率(75.0%)高于癌旁组织(47.5%)和肝纤维瘤(37.5%)( $P < 0.01$ ),但癌旁组织和肝纤维瘤组织中IL-17的阳性率差异无统计学意义( $P > 0.05$ );肝细胞癌IL-17R表达的阳性率(70.0%)高于癌旁组织(32.5%)和肝纤维瘤(35.0%)( $P < 0.01$ ),但癌旁组织和肝纤维瘤中IL-17R的阳性率差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。见表2。

2.3 肝细胞癌组织中IL-17的表达与临床病理的关系 经免疫组化检测,肝细胞癌组织中IL-17的表达与原发灶分期、分化程度、淋巴结转移有显著相关性( $P$ 均<0.05)。见表3。

表1 不同组织中IL-17、IL-17R的表达情况比较 (例)

组别	例数	IL-17				IL-17R			
		-	+	++	+++	-	+	++	+++
肝细胞癌	40	10	6	10	14	12	5	9	14
癌旁组织	40	21	15	4	0	27	8	5	0
肝纤维瘤	40	25	14	1	0	26	9	5	0
$H$ 值		25.1207				20.8838			
$P$ 值		<0.01				<0.01			

表2 不同组织IL-17、IL-17R的检测阳性率比较 例(%)

组别	例数	IL-17	IL-17R
肝细胞癌	40	30(75.0)	28(70.0)
癌旁组织	40	19(47.5)	13(32.5)
肝纤维瘤	40	15(37.5)	14(35.0)
$\chi^2$ 值		12.1205	14.1650
$P$ 值		<0.01	<0.01

表 3 IL-17 表达与肝细胞癌临床病理的关系 (例)

因素	例数	IL-17(-)	IL-17(+)	$\chi^2$ 值	P 值
性别					
女	5	2	3	0.6857	>0.05
男	35	8	27		
年龄					
$\geq 50$ 岁	19	4	15	0.3008	>0.05
<50 岁	21	6	15		
TNM 分期					
III ~ IV 期	24	4	20	5.0794	<0.05
I ~ II 期	16	8	8		
分化程度					
高分化	19	7	12	4.2691	<0.05
低分化	21	2	19		
淋巴结转移					
有	18	2	16	5.5604	<0.05
无	22	10	12		

表 4 IL-17R 的表达与肝细胞癌临床病理的关系 (例)

因素	例数	IL-17R(-)	IL-17R(+)	$\chi^2$ 值	P 值
性别					
女	5	3	2	2.4490	>0.05
男	35	9	26		
年龄					
$\geq 50$ 岁	19	5	14	0.2339	>0.05
<50 岁	21	7	14		
TNM 分期					
III ~ IV 期	24	5	19	5.2930	<0.05
I ~ II 期	16	7	9		
分化程度					
低分化	19	7	12	4.8211	<0.05
高分化	21	15	6		
淋巴结转移					
有	18	3	15	4.8352	<0.05
无	22	11	11		

#### 2.4 IL-17R 的表达与肝细胞癌临床病理的关系

IL-17R 的表达与肝细胞癌患者年龄、性别无显著关系 ( $P$  均  $>0.05$ ), 但与肝细胞癌原发灶分期、分化程度、淋巴结转移显著相关 ( $P$  均  $<0.05$ )。见表 4。

#### 2.5 肝细胞癌患者术前和术后血中 IL-17 水平变化

肝细胞癌患者术前血清 IL-17 水平为  $(69.3 \pm 6.7)$  pg/ml, 高于对照组的  $(29.4 \pm 4.4)$  pg/ml ( $t = 497.28$ ,  $P < 0.01$ ); 术后血清 IL-17 水平  $(37.6 \pm 5.3)$  pg/ml, 较术前显著下降, 差异有统计学意义 ( $t = 421.65$ ,  $P < 0.01$ )。

### 3 讨论

研究显示, IL-17 参与了喉癌、肺癌、消化道肿瘤、泌尿系统肿瘤等恶性肿瘤的发生及进展, 在上述恶性肿瘤组织中 IL-17 可出现异常激活和表达<sup>[5-6]</sup>。原发性肝细胞癌发病机制复杂, 可由多种因素诱发。近年来研究显示, 消化系统疾病中 IL-17 水平可出现异常升高现象<sup>[6-9]</sup>。范莎莎等<sup>[6]</sup>报道, 原发性肝癌患者

外周血中 IL-17 水平显著高于肝良性病变及健康者。于晓辉等<sup>[7]</sup>研究亦发现, 肝细胞癌患者血中 IL-17、IL-10 等炎症因子水平明显高于良性肝病者。本研究显示, 肝细胞癌组织中 IL-17、IL-17R 的表达水平高于癌旁组织和肝纤维瘤组织, 与文献报道一致<sup>[6-9]</sup>。本研究同时对肝细胞癌患者血清 IL-17 水平进行检测, 结果显示, 肝细胞癌患者术前血清 IL-17 水平高于对照组, 而术后 IL-17 水平较术前显著下降, 与 He 等<sup>[8]</sup>的研究结果一致。肝细胞癌患者 IL-17、IL-17R 异常表达的可能机制有: 肝细胞癌机体中出现 Th 17 细胞的异常激活, 而 Th 17 的异常激活可诱导肝细胞癌中 IL-17 的分泌, 且 IL-17 在肝细胞癌局部组织中亦存在异常激活现象<sup>[10-11]</sup>。

Onishi 等<sup>[12]</sup>研究发现, 肝细胞癌患者体内炎症指标的表达与机体临床病理状况有关。本研究结果显示, 肝细胞癌组织中 IL-17、IL-17R 的表达与患者癌灶分期、淋巴结转移、分化程度相关。该结果与 Onishi 等<sup>[12]</sup>的报道一致。本研究中 IL-17 参与肝细胞癌发生、转移和进展的可能机制有: (1) 机体内 IL-17 表达增强时, 可招募肿瘤坏死因子- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) 受体相关因子及系列接头蛋白, 随后在磷酸化的作用下, 诱导部分转录因子入胞, 进而促进 IL-6、IL-8、TNF- $\alpha$  等促炎细胞因子的表达, 导致肝细胞癌发生<sup>[12]</sup>。(2) IL-17 在抑制机体免疫功能的同时, 促进肝脏肿瘤血管生成及细胞增殖<sup>[12]</sup>。

本研究结果表明, IL-17、IL-17R 在原发性肝细胞癌中呈高表达; 肝细胞癌中 IL-17 的表达参与了肝细胞癌的发生、转移和进展。今后的研究将动态监测肝细胞癌患者手术后血中 IL-17 的水平, 以进一步探讨 IL-17 在肝细胞癌发病及进展中的可能机理。

#### 参考文献

- [1] Gaffen SL. An overview of IL-17 function and signaling[J]. Cytokine, 2008, 43(3): 402-407.
- [2] 高杰, 朱继业. 卫生部《原发性肝癌诊疗规范(2011年版)》解读[J]. 中华普通外科杂志, 2012, 27(8): 693-695.
- [3] 王斐斐, 王国艳, 张光波, 等. B7-H3 在人肝癌细胞株 HepG2 对外周血 CD8+ T 细胞活化、周期及分泌 IL-17 调节中的作用[J]. 中华微生物学和免疫学杂志, 2012, 32(11): 989-994.
- [4] Maruyama T, Kono K, Mizukami Y, et al. Distribution of Th17 cells and FoxP3(+) regulatory T cells in tumor infiltrating lymphocytes, tumor-draining lymph nodes and peripheral blood lymphocytes in patients with gastric cancer[J]. Cancer Sci, 2010, 101(9): 1947-1954.
- [5] Huang CK, Yang CY, Jeng YM, et al. Autocrine/paracrine mechanism of interleukin-17 B receptor promotes breast tumorigenesis

- induces substantial weight loss and normalizes glucose homeostasis in rats with diet-induced obesity[J]. *Obesity (Silver Spring)*, 2008, 16(12):2585-2592.
- [10] Mason EE. The mechanisms of surgical treatment of type 2 diabetes[J]. *Obes Surg*, 2005, 15(4):459-461.
- [11] Garcia FE, Garrido SL, Garcia JM, et al. Different effect of laparoscopic Roux-en-Y gastric bypass and open biliopancreatic diversion of Scopinaro on serum PYY and ghrelin levels[J]. *Obes Surg*, 2008, 18(11):1424-1429.
- [12] Sham JG, Simianu VV, Wright AS, et al. Evaluating the mechanisms of improved glucose homeostasis after bariatric surgery in Ossabaw miniature swine[J]. *J Diabetes Res*, 2014, 2014:526972.
- [13] Mingrone G, Castagneto-Gissey L. Mechanisms of early improvement/resolution of type 2 diabetes after bariatric surgery[J]. *Diabetes Metab*, 2009, 35(6 Pt 2):518-523.
- [14] Allen RE, Hughes TD, Ng JL, et al. Mechanisms behind the immediate effects of Roux-en-Y gastric bypass surgery on type 2 diabetes[J]. *Theor Biol Med Model*, 2013, 10:45.
- [15] Chakhtoura G, Zinzindohoué F, Ghanem Y, et al. Primary results of laparoscopic mini-gastric bypass in a French obesity-surgery specialized university hospital[J]. *Obes Surg*, 2008, 18(9):1130-1133.
- [16] Noun R, Zeidan S, Riachi E, et al. Mini-gastric bypass for revision of failed primary restrictive procedures; a valuable option[J]. *Obes Surg*, 2007, 17(5):684-688.
- [17] Alexandrides TK, Skroubis G, Kalfarentzos F. Resolution of diabetes mellitus and metabolic syndrome following Roux-en-Y gastric bypass and a variant of biliopancreatic diversion in patients with morbid obesity[J]. *Obes Surg*, 2007, 17(2):176-184.
- [18] Hanley AJ, Bowden D, Wagenknecht LE, et al. Associations of adiponectin with body fat distribution and insulin sensitivity in nondiabetic Hispanic and African-Americans[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2007, 92(7):2665-2671.
- [19] Iglesias P, Díez JJ. Influence of thyroid dysfunction on serum concentrations of adipocytokines[J]. *Cytokine*, 2007, 40(2):61-70.
- [20] He B, Yu C, Du R, et al. Roux-en-Y esophagojejunostomy reduces serum and aortic inflammatory biomarkers in type 2 diabetic rats[J]. *Obes Surg*, 2014, 24(6):916-926.
- [21] Kaska L, Kobiela J, Proczko M, et al. Does the length of the biliary limb influence medium-term laboratory remission of type 2 diabetes mellitus after Roux-en-Y gastric bypass in morbidly obese patients? [J]. *Wideochir Inne Tech Malo Inwazyjne*, 2014, 9(1):31-39.

收稿日期:2015-02-24 编辑:王国品

(上接第 853 页)

- through NF- $\kappa$ B-mediated antiapoptotic pathway [J]. *Oncogene*, 2014, 33(23):2968-2977.
- [6] 范莎莎, 李爱民, 李荣, 等. IL-17 在肝癌患者血清中表达增高对肝癌诊断的研究[J]. *湖南师范大学自然科学学报*, 2014, 37(3):19-23.
- [7] 于晓辉, 段惠春, 杨晓萍, 等. 肝细胞性肝癌血清中 MIF IL-17 IL-10 的检测及其临床意义[J]. *中国肿瘤临床*, 2013, 40(12):714-716.
- [8] He D, Li H, Yusuf N, et al. IL-17 promotes tumor development through the induction of tumor promoting microenvironments at tumor sites and myeloid-derived suppressor cells[J]. *J Immunol*, 2010, 184(5):2281-2288.
- [9] 刘家秀, 许国莹, 徐彬, 等. IL-17、IL-22 与乙型病毒性肝病的相关性分析[J]. *山东医药*, 2012, 52(39):62-64.
- [10] 武敬, 雷云鹏, 林晓华, 等. 肝癌手术患者血清炎症性细胞因子浓度与预后关系的研究[J]. *临床外科杂志*, 2013, 21(8):608-611.
- [11] Meng CD, Zhu DD, Jiang XD, et al. Overexpression of interleukin-17 in tumor-associated macrophages is correlated with the differentiation and angiogenesis of laryngeal squamous cell carcinoma [J]. *Chin Med J (Engl)*, 2012, 125(9):1603-1607.
- [12] Onishi RM, Gaffen SL. Interleukin-17 and its target genes: mechanisms of interleukin-17 function in disease [J]. *Immunology*, 2010, 129(3):311-321.

收稿日期:2015-02-26 编辑:王国品