

- [2] 刘铁军,曲晓峰,官艳玲,等. 磁共振动态增强扫描成像评价辛伐他汀治疗兔动脉粥样硬化斑块的疗效[J]. 中国老年学杂志, 2013,33(8):1858-1859.
- [3] 樊清波,简立国. 不同剂量阿托伐他汀对急性心肌梗死急诊行 PCI 患者血清骨桥蛋白的影响[J]. 郑州大学学报(医学版), 2012,47(6):869-870.
- [4] 章冬霞,周颖. 血栓通注射液联合阿托伐他汀治疗急性冠脉综合征临床观察[J]. 中国中医急症,2013,22(8):1421-1422.
- [5] 徐长福,陆明,车庆,等. 急诊冠状动脉介入治疗围术期使用负荷量阿托伐他汀的疗效及安全性观察[J]. 浙江医学,2013,35(15):1407-1409,1437.
- [6] 徐志清,黄瑛,张代富. 经皮冠脉介入术前负荷剂量阿托伐他汀对急性心梗患者血小板指标及血脂水平的影响[J]. 微循环学

杂志,2013,23(4):27-29.

- [7] 林文果,刘丽,何江,等. 阿托伐他汀对急性心肌梗死循环内皮祖细胞的作用以及对延迟开通冠脉时并发症的影响[J]. 西部医学,2012,24(12):2313-2316.
- [8] 吴成思,申珊,朱浩猛. 辛伐他汀在脑血栓治疗中的疗效观察[J]. 湖南中医药大学学报,2013,33(10):8,41.
- [9] 毛必来,甘慧玲,童巧薇,等. 阿托伐他汀对不稳定型心绞痛患者血清超敏 C 反应蛋白与血栓调节蛋白水平的影响及疗效观察[J]. 中国药物与临床,2014,14(1):67-69.
- [10] 赵文,刘勇,李焕明,等. 依折麦布联合阿托伐他汀干预急性冠脉综合征病人血清高敏 C 反应蛋白变化的研究[J]. 中国实验诊断学,2013,17(7):1280-1281.

收稿日期:2015-03-20 编辑:王国品

· 临床研究 ·

IL-2 和 IL-21 对口腔癌患者机体免疫因子水平的影响

杜琛¹, 袁道英², 霍红¹

1. 山东省阳谷县人民医院口腔科, 山东 聊城 252300; 2. 山东省聊城市人民医院口腔科, 山东 聊城 252000

摘要: **目的** 探讨白细胞介素-2(IL-2)和 IL-21 对口腔癌患者机体免疫因子水平的影响。**方法** 选取 2012 年 1 月至 2014 年 6 月口腔癌患者 70 例,抽取清晨空腹血,设对照组及试验组 A:IL-2 组,B:IL-21 组,C:IL-2 联合 IL-21 组,对照组不加细胞因子,经细胞培养后,应用流式细胞仪检测免疫因子 IL-2⁺、IFN- γ ⁺、CD4⁺/IL-2⁺、CD4⁺/IFN- γ ⁺ 水平的变化。**结果** 与对照组比较,A、B、C 组各细胞因子水平在 24 h 后及 48 h 后均明显增高(P 均 < 0.05)。A、B、C 三组之间比较无统计学差异(P 均 > 0.05)。A、B、C 三组未发生淋巴结转移的及处于肿瘤较早期的患者免疫功能更容易被增强,差异有统计学意义(P 均 < 0.05)。**结论** IL-2 及 IL-21 对口腔癌患者机体免疫功能的增强具有促进作用,二者联用并未发现明显的协同作用,且未发生淋巴结转移的及处于肿瘤较早期的患者免疫功能更容易被增强。

关键词: 白细胞介素-2; 白细胞介素-21; 口腔癌; 免疫因子

中图分类号: R 739.8 **文献标识码:** B **文章编号:** 1674-8182(2015)09-1164-03

口腔癌为头颈部常见的恶性肿瘤之一,按世界卫生组织 ICD-10 的分类,口咽部癌症占癌症发病率的第六位。口腔癌以手术治疗为主,辅以放疗化疗,但毒副反应较大,因此免疫治疗的研究具有重要价值。目前白细胞介素-2(IL-2)可治疗动物肿瘤模型,但其药物依赖性导致的毒副作用限制了其进一步的临床应用^[1]。IL-21 是 IL-2 家族成员,与 IL-2 结构类似,且高剂量的 IL-21 对机体没有明显的毒副作用^[2]。本文对口腔癌患者应用 IL-2 及 IL-21 检测机体免疫因子水平的变化进行研究,现将结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料 选取我院 2012 年 1 月至 2014 年 6 月收治的 70 例口腔癌患者作为研究对象。所有患者均为首次诊断且经术后病理确诊为口腔癌,患者原发病灶均为口腔,患者既往均未接受过任何抗肿瘤治疗,排除全身系统性疾病。其中男 39 例,女 31 例,年龄为 36~77(60.25 \pm 8.91)岁。其中舌癌 21 例,牙龈癌 25 例,口底癌 14 例,颊癌 8 例,上颌癌 2 例;高分化 33 例,中分化 24 例,低分化 13 例;38 例有淋巴结转移,32 例无淋巴结转移;按照国际抗癌协会(UICC)标准进行 TNM 分期: I 期 12 例, II 期 24 例, III 期 22 例, IV 期 12 例。IL-2、IL-21 购于美国 Pepro-Tech INC,鼠抗人 IL-2、IFN- γ 、CD4 购于北京奥博森生物有限公司。

1.2 方法

1.2.1 血样收集与细胞培养 采集患者清晨空腹血 3 ml, 肝素抗凝, 试验于采血后 1 h 内进行。进行细胞培养, 培养基为 10% 灭活新生小牛血清、100 U/ml 青霉素、100 μg/ml 链霉素。对照组不加任何细胞因子 70 例, 试验组 A: IL-2 组, B: IL-21 组, C: IL-2 联合 IL-21 组, 各 70 例, 参照文献 [3] 提供添加剂量: IL-2 1 000 U/ml、IL-21 15 ng/ml。在 37℃、5% CO₂、湿度饱和条件下培养。

1.2.2 流式细胞检测^[4] 免疫荧光标记: 取 4 组待测样本培养全血 100 μl, 分别加入 PE 标记的 IL-2、IFN-γ 单抗 10 μl; FITC 标记的 CD4 单抗与 PE 标记的 IL-2 单抗 10 μl; FITC 标记的 CD4 单抗与 PE 标记的 IFN-γ 单抗 10 μl, 室温避光孵育 1 h, 加入红细胞裂解液 5 min, 加入 PBS 液冲洗, 取悬浮细胞涂片, 在荧光显微镜下观察, 抗原抗体复合物上出现黄绿色及桔红色荧光, 通过定量技术测定含量。流式细胞检测: 利用 Epics-XL II 型流式细胞仪, 激发光源为 15 mW, 波长为 488 nm, 以 flow-checkTMFlourpheres (10 μm) 荧光微球作为标准, 进行荧光数据分析, CV 值控制在 2% 以内。每份样本同步用 IgG1/IgG2 对照, 选择出淋巴细胞群, 计数 5 000 个淋巴细胞中标记出的细胞的百分比, 获得各细胞因子的含量。

1.3 统计学方法 采用 SPSS 21.0 软件进行统计处理, 计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 细胞因子与病理特征采用多因素方差分析, 两两比较采用 LSD-*t* 检验。检验标准为 $\alpha = 0.05$ 。

2 结果

2.1 T 淋巴细胞因子水平比较 细胞培养后 24 h、48 h, 各试验组与对照组比较 4 类因子水平均有显著提高 (P 均 < 0.05)。对照组 48 h 与 24 h 各因子水平比较无统计学差异 (P 均 > 0.05)。A、B、C 三组 48 h 各因子水平均明显高于 24 h (P 均 < 0.05)。而在 24 h 及 48 h A、B、C 三组各因子水平组间比较均无统计学差异 (P 均 > 0.05)。见表 1。

2.2 细胞因子水平与病理特征关系

2.2.1 IL-2 刺激组 IL-2⁺、INF-γ⁺、CD4⁺/IL-2⁺、CD4⁺/INF-γ⁺ 的增强值在 I、II 期组均明显高于 III、IV 期组 (P 均 < 0.05)。CD4⁺/INF-γ⁺ 的增强值在无淋巴结转移组明显高于有淋巴结转移组 ($P < 0.05$)。见表 2。

2.2.2 IL-21 刺激组 IL-2⁺、INF-γ⁺ 的增强值在无淋巴结转移组均明显高于有淋巴结转移组, 在 I、II 期组均明显高于 III、IV 期组。IL-2⁺、INF-γ⁺、CD4⁺/

INF-γ⁺ 的增强值在 I、II 期组明显高于 III、IV 期组, (P 均 < 0.05)。见表 3。

2.2.3 IL-2 联合 IL-21 刺激组 IL-2⁺、INF-γ⁺、CD4⁺/INF-γ⁺ 的增强值在 I、II 期组均明显高于 III、IV 期组 (P 均 < 0.05)。CD4⁺/INF-γ⁺ 的增强值在无淋巴结转移组明显高于有淋巴结转移组 ($P < 0.05$)。见表 4。

表 1 T 淋巴细胞因子水平比较 ($n = 70, \% , \bar{x} \pm s$)

组别	时间段	IL-2 ⁺	INF-γ ⁺	CD4 ⁺ /IL-2 ⁺	CD4 ⁺ /INF-γ ⁺
对照组	24 h	1.25 ± 0.21	1.05 ± 0.09	0.68 ± 0.10	0.51 ± 0.07
	48 h	1.26 ± 0.15	1.07 ± 0.11	0.68 ± 0.09	0.53 ± 0.09
A 组	24 h	3.12 ± 0.38*	2.45 ± 0.33*	2.54 ± 0.36*	1.49 ± 0.29*
	48 h	6.33 ± 1.14 [△]	5.61 ± 0.99 [△]	5.51 ± 1.07 [△]	4.72 ± 0.77 [△]
B 组	24 h	3.35 ± 0.57*	2.58 ± 0.29*	2.57 ± 0.41*	1.44 ± 0.19*
	48 h	4.97 ± 0.85 [△]	5.73 ± 1.13 [△]	4.89 ± 0.79 [△]	5.50 ± 0.70 [△]
C 组	24 h	3.28 ± 0.41*	2.59 ± 0.26*	2.48 ± 0.23*	1.74 ± 0.19*
	48 h	5.34 ± 1.07 [△]	5.58 ± 0.84 [△]	5.36 ± 0.92 [△]	5.37 ± 0.94 [△]

注: 与对照组 24 h 比较, * $P < 0.05$; 与对照组 48 h 比较, [△] $P < 0.05$; 与本组 24 h 比较, [○] $P < 0.05$ 。

表 2 IL-2 刺激组结果 ($\%, \bar{x} \pm s$)

组别	例数	IL-2 ⁺	INF-γ ⁺	CD4 ⁺ /IL-2 ⁺	CD4 ⁺ /INF-γ ⁺
淋巴结转移					
有	38	4.66 ± 0.64	5.08 ± 0.94	4.88 ± 0.43	2.77 ± 0.51
无	32	5.08 ± 0.96	6.02 ± 0.91	5.00 ± 0.96	6.53 ± 0.54 [△]
临床分期					
I、II	36	7.71 ± 0.24	7.26 ± 0.28	5.89 ± 0.79	6.91 ± 1.10
III、IV	34	4.01 ± 0.13*	3.23 ± 0.26*	4.28 ± 0.44*	2.18 ± 0.37*

注: 与 I、II 期比较, * $P < 0.05$; 与有淋巴结转移组比较, [△] $P < 0.05$ 。

表 3 IL-21 刺激组结果 ($\%, \bar{x} \pm s$)

组别	例数	IL-2 ⁺	INF-γ ⁺	CD4 ⁺ /IL-2 ⁺	CD4 ⁺ /INF-γ ⁺
淋巴结转移					
有	38	3.12 ± 0.24	4.38 ± 0.16	2.93 ± 0.81	3.13 ± 0.76
无	32	6.55 ± 0.25 [△]	7.13 ± 0.24 [△]	3.58 ± 0.61	4.08 ± 0.77
临床分期					
I、II	36	6.98 ± 0.14	8.06 ± 0.87	4.58 ± 1.12	6.76 ± 0.66
III、IV	34	3.35 ± 0.27*	3.55 ± 0.17*	3.37 ± 0.75	2.12 ± 0.54*

注: 与 I、II 期比较, * $P < 0.05$; 与有淋巴结转移组比较, [△] $P < 0.05$ 。

表 4 IL-2 联合 IL-21 刺激组结果 ($\%, \bar{x} \pm s$)

组别	例数	IL-2 ⁺	INF-γ ⁺	CD4 ⁺ /IL-2 ⁺	CD4 ⁺ /INF-γ ⁺
淋巴结转移					
有	38	3.53 ± 0.82	4.26 ± 0.90	3.75 ± 1.24	2.38 ± 0.29
无	32	4.05 ± 1.04	5.68 ± 0.33	4.93 ± 0.59	6.77 ± 0.99 [△]
临床分期					
I、II	36	6.90 ± 0.24	6.19 ± 0.34	4.59 ± 0.46	5.18 ± 1.05
III、IV	34	2.88 ± 0.17*	2.32 ± 0.48*	3.80 ± 0.94	3.08 ± 0.64*

注: 与 I、II 期比较, * $P < 0.05$; 与有淋巴结转移组比较, [△] $P < 0.05$ 。

3 讨论

3.1 细胞因子选择 IL-2 目前的研究已日益成熟, 且在临床中得到了广泛的应用, 但其在免疫机制中的

作用具有很大的矛盾性。IL-2 可以刺激并维持机体的免疫反应对抗肿瘤,通过调节 T 细胞活性使诱发性细胞死亡限制特异性效应细胞的增殖,其不仅在支持 T 细胞活性和功能上发挥作用,在大剂量的条件下 IL-2 的毒副作用也同样明显,从而限制了其进一步的应用^[5]。IL-21 是通过结构相似原理而筛选出的,因其与 IL-2 相似的结构及功能,大剂量条件下未见毒副作用而成为抗肿瘤基因治疗方案。本世纪初美 FDA 开始 IL-21 抗肿瘤的临床研究,目前已显示可接受的毒性及抗肿瘤反应的诱导^[6]。IL-21 主要由 CD4⁺T 细胞分泌,可以增强 CD8⁺T 细胞及 NK 细胞的活性,抑制肿瘤增殖及转移^[7-8]。

3.2 T 淋巴细胞中细胞因子水平 肿瘤患者 T 淋巴细胞表形发生变化时,相关细胞因子也出现不同的变化。IL-2 是 Th1 型细胞分泌的炎性因子,具有调节免疫应答的作用^[9]。唐任光等^[10]发现恶性肿瘤患者 IL-2 水平降低,sIL-2R 水平则增高,是由于 T 细胞的大量分泌导致。IFN- γ 是一种诱生蛋白,同样由 Th1 型细胞分泌,具有抗肿瘤和免疫调节作用。刘振玉等^[11]发现肺癌患者肿瘤组织中 IL-2、IFN- γ 明显降低。有动物研究显示舌癌大鼠血清 IFN- γ 水平低于正常大鼠,随肿瘤进展,表达水平持续降低^[12]。

本研究中单独使用 IL-2、IL-21 及联用 IL-2、IL-21 对样本进行刺激,与对照组比较,各细胞因子的水平在 24 h 后及 48 h 后均出现了明显的增高,但采取刺激的 3 组之间比较并无统计学差异。可以得出 IL-21 能够提高口腔癌患者 IL-2 及 IFN- γ 的分泌,增强机体免疫能力,与 IL-2 具有同样的有效性,二者联用未发现明显的促进作用,但也无明显的抑制作用。某研究发现对小鼠联用 IL-21 及 IL-15 对 CD8⁺T 细胞具有促进作用,而对 CD4⁺T 细胞无效,这与本研究结果一致^[13]。而众多学者对 IL-21 与其他单抗联用的效果进行了研究,Roda 等^[14]发现 IL-21 与一些单抗联用对 NK 细胞分泌 IL-2 及 IFN- γ 的作用强于单抗的单独使用。Liu 等^[15]发现 IL-21 联合 IL-7 可以促进 Th1 型细胞因子的分泌。结论的争议性可能存在于细胞因子使用剂量的不同。

3.3 细胞因子与病理特征关系 口腔癌患者均存在免疫功能的抑制,且随着病情的加重抑制现象更为严重。本研究对口腔癌患者的淋巴结转移及临床肿瘤分期进行了分析,在对样本进行单独或联合细胞因子刺激后,未发生淋巴结转移的及处于肿瘤较早期的患者免疫功能更容易被增强。说明 IL-2 及 IL-21 对肿瘤的发展及转移具有不同程度的保护作用。

综上所述,IL-2 及 IL-21 对口腔癌患者机体免疫

功能的增强具有促进作用,但二者联用并未发现明显的协同作用。本次研究中的样本量较小,且细胞培养时间较短,有待进一步改进,得到更准确的数据,并对细胞因子的时间依赖性进行探究。

参考文献

- [1] Davis ID, Skrmsager BK, Cebon J, et al. An open-label, two-arm, phase I trial of recombinant human interleukin-21 in patients with metastatic melanoma [J]. *Clin Cancer Res*, 2007, 13(12):3630.
- [2] Thompson JA, Curti BD, Redman BG, et al. Phase I study of recombinant interleukin-21 in patients with metastatic melanoma and renal cell carcinoma [J]. *J Clin Oncol*, 2008, 26(12):2034-2039.
- [3] Parrish-Novak J, Dillon SR, Nelson A, et al. Interleukin 21 and its receptor are involved in NK cell expansion and regulation of lymphocyte function [J]. *Nature*, 2000, 408(6808):57-63.
- [4] 左连富. 流式细胞仪样品制备技术 [M]. 北京:华夏出版社, 1991:45-76.
- [5] Bayer AL, Yu A, Adeegbe D, et al. Essential role for interleukin-2 for CD4⁺CD25⁺T regulatory cell development during the neonatal period [J]. *J Exp Med*, 2005, 201(5):769-777.
- [6] di Carlo E, de Toter D, Piazza T, et al. Role of IL-21 in immunoregulation and tumor immunotherapy [J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2007, 56(9):1323-1334.
- [7] Smyth MJ, Hayakawa Y, Cretney E, et al. IL-21 enhances tumor-specific CTL induction by anti-DR5 antibody therapy [J]. *J Immunol*, 2006, 176(10):6347-6355.
- [8] Smyth MJ, Wallace ME, Nutt SL, et al. Sequential activation of NKT cells and NK cells provides effective innate immunotherapy of cancer [J]. *J Exp Med*, 2005, 201(12):1973-1985.
- [9] Lissoni P, Barni S, Rovelli F, et al. The biological significance of soluble interleukin-2 receptors in solid tumors [J]. *Eur J Cancer*, 1990, 26(1):33-36.
- [10] 唐任光, 韦叶生, 陈宏明, 等. 食管癌患者血清 IL-2、sIL-2R 水平监测及临床意义 [J]. *广东医学*, 2006, 27(8):1169-1171.
- [11] 刘振玉, 方向明, 路作新, 等. 正常肺组织, 肺癌组织 IL-10、IL-2、IFN- γ 的检测意义 [J]. *江西医药*, 2000, 35(5):259-260.
- [12] 蒋灿华, 叶冬霞, 陈万涛, 等. 舌鳞癌 SD 大鼠血清中 Th1/Th2 漂移与肿瘤进展的关系 [J]. *中国口腔颌面外科杂志*, 2005, 3(3):238-241.
- [13] Zeng R, Spolski R, Finkelstein SE, et al. Synergy of IL-21 and IL-15 in regulating CD8⁺T cell expansion and function [J]. *J Exp Med*, 2005, 201(1):139-148.
- [14] Roda JM, Joshi T, Butchar JP, et al. The activation of natural killer cell effector functions by cetuximab-coated, epidermal growth factor receptor positive tumor cells is enhanced by cytokines [J]. *Clin Cancer Res*, 2007, 13(21):6419-6428.
- [15] Liu S, Lizée G, Lou Y, et al. IL-21 synergizes with IL-7 to augment expansion and anti-tumor function of cytotoxic T cells [J]. *Int Immunol*, 2007, 19(10):1213-1221.