

• 论 著 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2021.08.007

结直肠癌患者血清组织蛋白酶 B 与 IL-22、IL-17 水平的相关分析^{*}

兰巧芬,耿有全,张诗颜,陈娟,陈喜霞,张惠冰
福建中医药大学附属福鼎市医院检验科,福建福鼎 355200

摘要:**目的** 通过检测分析不同分期结直肠癌患者(CRC)血清中组织蛋白酶 B(CB)和白细胞介素(IL)-17、IL-22 水平的相关性,为结直肠癌转移的早期诊断及防治提供新的线索。**方法** 选取 CRC 患者 82 例作为 CRC 组,30 例健康志愿者为健康对照组,采用酶联免疫吸附试验检测所有研究对象血清中 CB 和 IL-17、IL-22 水平并分析其相关性。**结果** CRC 组患者血清中 CB、IL-17、IL-22 水平均明显高于健康对照组($P<0.05$),且随着病情发展,Ⅲ~Ⅳ期的 CRC 患者血清 CB、IL-17、IL-22 水平明显高于Ⅰ~Ⅱ期患者($P<0.05$),中高分化的 CRC 患者血清 CB、IL-17、IL-22 水平明显低于低分化的患者($P<0.05$);相关分析显示,CRC 患者血清 CB 水平与 IL-17、IL-22 水平均呈显著正相关($r=0.835\ 1, P<0.001; r=0.955\ 1, P<0.001$)。**结论** CRC 患者血清 CB、IL-17、IL-22 水平随疾病进展均明显升高,且 CB 水平与 IL-17、IL-22 水平呈显著正相关,相关机制有待进一步探索。

关键词: 结直肠癌; 组织蛋白酶 B; 白细胞介素-17; 白细胞介素-22

中图法分类号: R446.6

文献标志码: A

文章编号: 1672-9455(2021)08-1051-04

Correlation analysis of serum cathepsin B and IL-22/IL-17 levels in colorectal cancer^{*}

LAN Qiaofen, GENG Youquan, ZHANG Shiyan, CHEN Juan, CHEN Xixia, ZHANG Huibing
Department of Clinical Laboratory, Affiliated Fuding Municipal Hospital, Fujian University of
Traditional Chinese Medicine, Fuding, Fujian 355200, China

Abstract:**Objective** To detect and analyze the correlation between serum cathepsin B (CB) level with serum interleukin (IL)-17 and IL-22 levels in the patients with different stages of colorectal cancer (CRC) to provide the new clue for early diagnosis, prevention and treatment of CRC metastasis. **Methods** A total of 82 patients with CRC were selected as the CRC group and 32 healthy volunteers were selected as the healthy control group. The levels of serum CB, IL17 and IL-22 levels in all study subjects were detected by adopting the enzyme-linked immunosorbent assay and their correlation was analyzed. **Results** The serum CB, IL-7 and IL-22 levels in the CRC group were significantly higher than those in the healthy control group ($P<0.05$), moreover with the disease condition progress, the serum CB, IL-17 and IL-22 levels in the patients with stage Ⅲ—Ⅳ CRC were significantly higher than those in the patients with stage Ⅰ—Ⅱ ($P<0.05$); the serum CB, IL-17 and IL-22 levels in the patients with moderate and high differentiation of CRC were significantly lower than those in the patients with low differentiation of CRC ($P<0.05$); The correlation analysis showed that serum CB level in the patients with CRC had significantly positive correlation with serum IL-17 and IL-22 levels ($r=0.835\ 1, P<0.001; r=0.955\ 1, P<0.001$). **Conclusion** The levels of serum CB, IL-17 and IL-22 levels in the patients with CRC are significantly increased with the progression of the disease, moreover CB has significantly positive correlation with IL-17 and IL-22, and its related mechanisms need to be further explored.

Key words: colorectal cancer; cathepsin B; interleukin-17; interleukin-22

结直肠癌(CRC)是常发生于结肠或直肠部位的恶性上皮性肿瘤。多年来该病的发病率和病死率一直居高不下,严重威胁着人类的健康和生命^[1]。近十几年来,直肠癌的发病机制研究一直都是一个热门话题,也是一个世界难题。随着分子生物学和分子免疫

学技术的发展和广泛应用,人们从基因水平、转录水平、蛋白水平及它们之间的信号通路方面和 T 淋巴细胞等方面对 CRC 进行了大量研究。既往研究发现组织蛋白酶与肿瘤的发生、发展密切相关,其中组织蛋白酶 B(CB)在肿瘤转移中扮演重要角色。免疫方面,

^{*} 基金项目:福建省卫生健康科技计划项目(2017-1-100)。

作者简介:兰巧芬,女,技师,主要从事结直肠癌免疫发病机制及自身免疫性疾病发病的机制方面的研究。

本文引用格式:兰巧芬,耿有全,张诗颜,等.结直肠癌患者血清组织蛋白酶 B 与 IL-22、IL-17 水平的相关分析[J].检验医学与临床,2021,18(8):1051-1053.

免疫细胞一直以来也是 CRC 发病机制研究的主要对象,但主要集中在 T 淋巴细胞,如 Th17 和 Th22 细胞。CB 能够促进细胞因子[白细胞介素(IL)-23、IL-1 β 及肿瘤坏死因子- α (TNF- α)]的产生,而这些细胞因子正是 Th17 及 Th22 细胞分化所需物质^[2-3]。

因此本研究拟探讨不同时期的 CRC 患者中 CB 水平与 IL-17、IL-22 水平的关系,进一步了解在 CRC 患者外周血中 CB 能否作为癌细胞转移的早期诊断的一个指标,这将有助于深入明确 CRC 新的发病机制,并为新的干预治疗策略提供线索。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2016 年 6 月至 2019 年 1 月在福鼎市医院外科行 CRC 切除及肿瘤科明确诊断为 CRC 的患者 82 例作为 CRC 组。所有患者术前未进行放化疗,无感染性疾病,近期无服用免疫抑制剂病史,术后病理证实为结肠或直肠腺癌,原发灶不能切除者被排除。82 例 CRC 患者中男 45 例,女 37 例;平均年龄(61 $\pm$ 2)岁;按 Dukes 分期法分为 A~B (I~II)期 30 例(低分化腺癌 10 例、高中分化腺癌 20 例),C~D(III~IV)期 52 例(低分化腺癌 25 例、高中分化腺癌 27 例)。选择 30 例健康志愿者为健康对照组,其中男 15 例,女 15 例;平均年龄(61 $\pm$ 2)岁。本研究获得所有受试者本人同意及本院伦理委员会的批准。

1.2 试剂及仪器 人 CB ELISA 试剂盒由上海复星生物工程公司提供,人 IL-17 和 IL-22 ELISA 试剂盒由武汉博士德生物工程公司提供;采用全自动酶标仪检测。

1.3 方法 采集所有研究对象外周静脉血不少于 4 mL,室温血液自然凝固 10~20 min,3 500 r/min 离

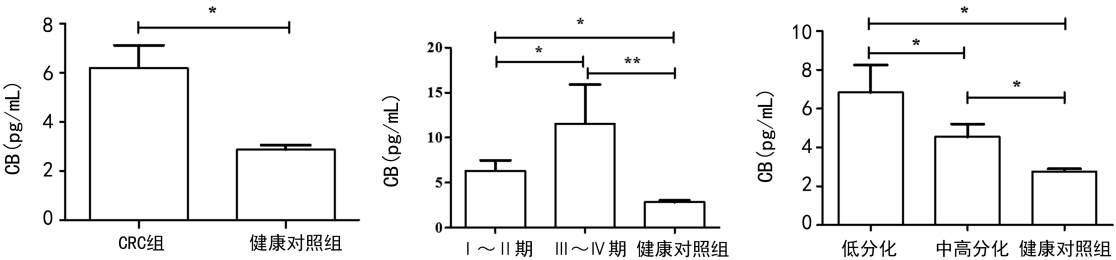
心 10 min 左右。仔细收集上清液,保存过程中如出现沉淀,应再次离心。应用双抗体夹心法(ELISA 法)按试剂盒说明书分别测定标本中 CB、IL-17 和 IL-22 水平,采用全自动酶标仪测定,在 450 nm 处读取吸光度(A)值,测定值按标准曲线换算成 CB、IL-17 和 IL-22 水平。

1.4 统计学处理 采用 SPSS20.0 软件进行统计学处理及 GraphPad Prism5 统计软件对所有数据进行统计分析。正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,偏态分布数据以中位数(四分位数)[$M(P_{25} \sim P_{75})$]表示,计量资料的两个变量之间比较采用 Wilcoxon 法,多个变量之间比较采用 Kruskal-Wallis 法,变量间的相关关系应用 Spearman 相关分析。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

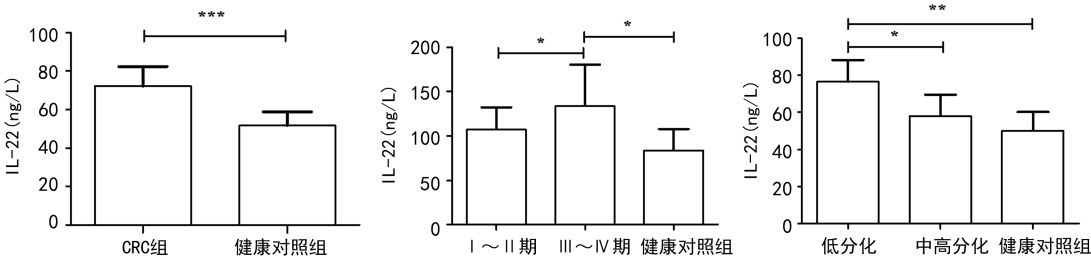
2.1 两组血清 CB 水平比较 CRC 组患者血清 CB 水平明显高于健康对照组($P < 0.05$)。且随着病情发展,III~IV 期的 CRC 患者血清 CB 水平明显高于 I~II 期($P < 0.05$),中高分化的 CRC 患者血清 CB 水平明显低于低分化的患者($P < 0.05$),见图 1。

2.2 两组研究对象血清 IL-22、IL-17 水平比较 CRC 组患者血清 IL-17、IL-22 水平均明显高于健康对照组($P < 0.05$),且随着病情发展,III~IV 期的 CRC 患者血清 IL-17、IL-22 水平明显高于 I~II 期患者($P < 0.05$),中高分化的 CRC 患者血清 IL-17、IL-22 水平明显低于低分化的患者($P < 0.05$),而中高分化的 CRC 患者血清 IL-17、IL-22 水平与健康对照组的差异无统计学意义($P > 0.05$),I~II 期 CRC 患者血清 IL-22 水平与健康对照组的差异无统计学意义($P > 0.05$)。见图 2、3。



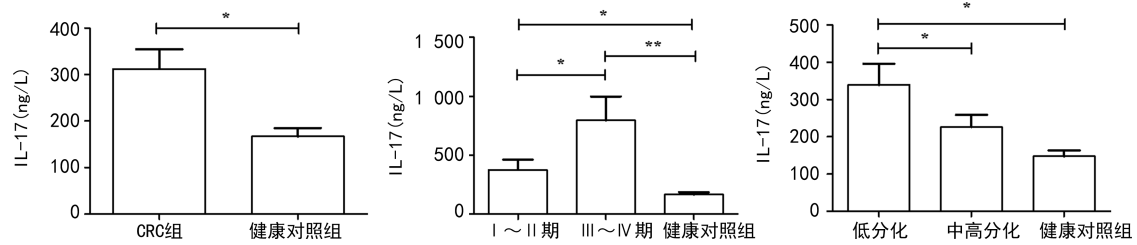
注: * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$ 。

图 1 各组研究对象血清 CB 水平比较



注: * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$ 。

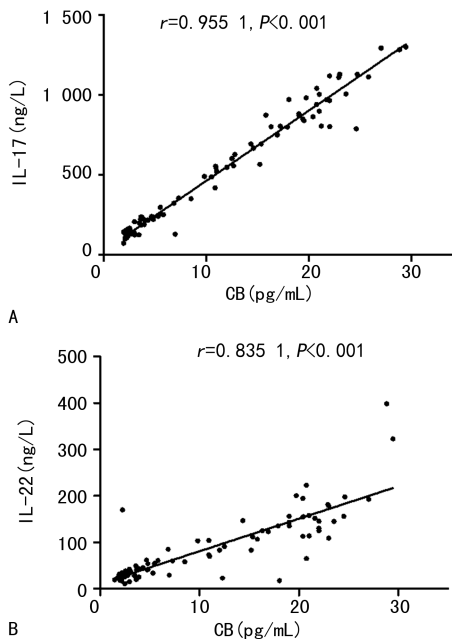
图 2 各组研究对象血清 IL-22 水平比较



注: * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$ 。

图 3 各组研究对象血清 IL-17 水平比较

2.3 CRC 患者血清中 CB 水平与 IL-22 及 IL-17 水平的相关性 CRC 患者血清 CB 水平与血清 IL-22 水平呈正相关关系($r=0.835\ 1, P<0.001$);CRC 患者血清 CB 水平与血清 IL-17 水平也是呈正相关关系($r=0.955\ 1, P<0.001$),见图 4。



注:A 表示 CB 水平与 IL-17 水平的相关性分析;B 表示 CB 水平与 IL-22 水平的相关性分析。

图 4 CRC 患者血清 CB 水平与 IL-22 及 IL-17 水平的相关性

3 讨 论

组织蛋白酶属于溶酶体半胱氨酸蛋白酶中的番木瓜蛋白酶超家族,有 11 种(B、C、F、H、L、K、O、S、V、W、X),不同的组织蛋白酶在肿瘤的发展中起着不同的作用,比如在肿瘤中发挥增殖、血管再生、转移和浸润等作用^[4]。近几年研究发现,CB 在肿瘤时期表达明显增高,在肿瘤转移过程中起着重要作用,它能够降解基底膜、细胞外基质和结缔组织,促进肿瘤的侵袭和转移^[4]。本研究显示 CRC 患者血清中的 CB 水平是高于健康者的,且随着肿瘤发展,Ⅲ~Ⅳ期 CRC 患者血清 CB 水平高于 I~Ⅱ期患者,随着肿瘤的分化程度增高而逐渐减低,与文献^[5-6]报道的癌胚抗原(CEA)、糖类抗原 199(CA199)水平与疾病发展和分化程度呈负相关相似,可更进一步有效反映 CRC

患者肿瘤细胞分化程度,对病情评估、对症治疗具有重要指导意义。

CRC 发生、发展的最主要致病因素是肠内慢性炎症^[7],其中炎症细胞($CD4^+$ T 淋巴细胞等)及炎症因子是这一过程的重要参与者。越来越多的证据也说明了 $CD4^+$ T 淋巴细胞各亚群之间的平衡和它们的细胞因子网络是影响 CRC 发生、发展的关键因素^[8-9],其中 IL-17 和 IL-22 与 CRC 的发生、发展密切相关^[10]。IL-17 是近年来新发现的促炎症细胞因子。研究表明,在胃癌、非小细胞肺癌、肝细胞肝癌及 CRC 等恶性肿瘤中,IL-17 均呈高表达^[11]。IL-22 是 Th22 细胞分泌的特征性细胞因子,其可能通过 STATA3 信号通路机制抑制结肠癌细胞凋亡,促进结肠癌生长和转移,IL-22 在溃疡性结肠炎和结肠癌中高表达与 CRC 的发生、发展密切相关^[12]。在免疫方面,Th17 细胞和 Th22 细胞都是由初始 $CD4^+$ T 淋巴细胞经共刺激信号活化后,在不同因子的刺激下分别分化而来。Th17 是在 $TGF-\beta$ 、IL-1 β 、IL-23 和 IL-6 的诱导下由初始 $CD4^+$ T 淋巴细胞分化而来的,Th22 是在 TNF- α 及 IL-6 的诱导下由初始 $CD4^+$ T 淋巴细胞分化而来的。Th17 和 Th22 都可分泌众多细胞因子,其中最具特征性的分别是 IL-17 和 IL-22。近年研究发现 CB 可促进 IL-1 β 、IL-23 及 TNF- α 的产生^[13]。SON 等^[14]提出,CB 在 Caspase-1 成熟及促进炎症因子产生中扮演重要角色。那么,在 CRC 患者中,血清 IL-17 及 IL-22 高水平表达,且随着肿瘤发展,在Ⅲ~Ⅳ期的水平高于 I~Ⅱ期,随着肿瘤的分化程度增高而逐渐减低,CB 水平与 IL-22、IL-17 水平呈正相关,因此本试验可初步探讨 CB 可能通过促进分泌细胞因子而诱导 Th17 及 Th22 细胞分化,促进 CRC 进展,具体的机制可通过体外实验及其他角度进一步探讨。

综上所述,CRC 患者血清 CB、IL-17、IL-22 水平随疾病进展均明显升高,随肿瘤分化程度增高而减低,且 CB 水平与 IL-17、IL-22 水平呈显著正相关,这将为 CRC 转移的早期诊断及防治提供新的线索。

参考文献

[1] SIEGEL R L, MILLER K D, JEMAL A. Cancer statistics, 2016[J]. CA Cancer J Clin, 2016, 66(1): 7-30.
[2] CHEN W, ZHENG R, BAAD E, et al. (下转第 1058 页)

P450 genetic variants with clopidogrel resistance and outcomes in acute ischemic stroke[J]. J Atheroscler Thromb, 2016,23(10):1188-1200.

[4] 付梦璐,董若兰,涂玲,等. 氯吡格雷抵抗研究进展[J]. 医药导报,2018,37(2):139-145.

[5] 刘倩,孙玉坤,党大胜,等. 不同年龄段 CYP2C19 基因多态性与氯吡格雷抵抗的相关性[J]. 沈阳药科大学学报, 2011,28(4):320-324.

[6] 彭文星,徐晓宇,石秀锦,等. PCI 术后患者 CYP2C19 基因多态性与氯吡格雷抵抗关联性研究[J]. 中国药物应用与检测,2015,12(6):334-335.

[7] 李苗苗,刘静,郭泽洪,等. 我国部分地区冠心病患者 CYP2C19 基因多态性分布特征及意义的 Meta 分析[J]. 检验医学与临床,2018,15(24):3707-3711.

[8] 向瑜,崔鲂,邓济甦,等. 重庆地区汉族人群 CYP2C19 基因多态性分布与不同种族间比较[J]. 临床检验杂志, 2013,8(8):629-631.

[9] 范超,张燕,何建维,等. 重庆地区冠心病介入治疗患者 CYP2C19 基因多态性分布[J]. 重庆医学,2016,45(11): 1549-1551.

[10] 李桂梅,陈凤英,崔晓迎,等. 蒙古族 PCI 病人 CYP2C19 基因多态性与氯吡格雷抵抗相关性研究[J]. 内蒙古医科大学学报,2017,39(2):128-132.

[11] 秦延海,古丽扎尔·买买提明,帕丽达·阿不来提. 维吾尔族、哈萨克族、汉族人群 CYP2C19 基因多态性分析

[J]. 重庆医学,2015,44(33):4632-4634.

[12] ZHANG Y J, LI M P, TANG J, et al. Pharmacokinetic and pharmacodynamic responses to clopidogrel: evidences and perspectives[J]. Int J Environ Res Public Health, 2017,14(3):301-303.

[13] BROWN S A, PEREIRA N. Pharmacogenomic impact of CYP2C19 variation on clopidogrel therapy in precision cardiovascular medicine[J]. J Pers Med,2018,8(1):8-12.

[14] 武子举. CYP2C19 基因多态性与心力衰竭合并肺动脉高压的关联研究[J]. 实验与检验医学,2019,37(4):595-597.

[15] PAN Y, CHEN W, XU Y, et al. Genetic polymorphisms and clopidogrel efficacy for acute ischemic stroke or transient ischemic attack: a systematic review and Meta-Analysis[J]. Circulation,2017,135(1):21-33.

[16] 余建萍,邹显巍,张黎黎,等. CYP2C19 基因多态性影响颈动脉血管内支架置入术后氯吡格雷疗效[J]. 微循环学,2019,29(3):53-56.

[17] LI C, ZHANG L, WANG H, et al. Gene variants in responsiveness to clopidogrel have no impact on clinical outcomes in Chinese patients undergoing percutaneous coronary intervention; a multicenter study[J]. Int J Cardiol,2017,240:360-366.

(收稿日期:2020-03-30 修回日期:2021-03-11)

(上接第 1053 页)

Cancer statistics in China, 2015[J]. CA Cancer J Clin, 2016,66(2):115-132.

[3] YIU A J, YIU C Y. Biomarkers in colorectal cancer[J]. Anticancer Res,2016,36(3):1093-1102.

[4] GJ T, PENG Z K, LU J P, et al. Cathepsins mediate tumor metastasis[J]. World J Biol Chem,2013,4(4):91-101.

[5] 王科学. 血清 CEA、CA199、CA242 及 CA724 联合检测对结直肠癌诊断的临床价值[J]. 中国医师杂志,2016,18(3):422-424.

[6] 邱绪文,王祖斌. 血清 CEA、CA199、CA724、CA242 与结直肠癌关系的临床研究[J]. 中国现代普通外科进展, 2016,19(4):326-327.

[7] ROGEL G. Chronic ulcerative colitis and colorectal cancer[J]. Cancer Lett,2014,345(2):235-241.

[8] 文国容,度必光,刘华庆,等. IGF- I 和 IGF- II 在人结直肠腺瘤和结直肠癌中的表达及意义[J]. 贵州医药,2010,34(12):10-12.

[9] GAZOULI M, LYBEROPOULOU A, PERICLEOUS P, et al. Development of a quantum-dot-labelled magnetic immunoassay method for circulating colorectal cancer cell detection[J]. World J Gastroenterol,2012,18(32):4419-4426.

[10] MAO H, PAN F, GUO H X, et al. Feedback mechanisms between M2 macrophages and Th17 cells in colorectal cancer patients[J]. Tumour Biol, 2016, 37(9): 12223-12230.

[11] SHAPIRO M, NANDI B, PAI C, et al. Deficiency of IL-17A, but not the prototypical Th17 transcription factor RORγt, decreases murine spontaneous intestinal tumorigenesis[J]. Cancer Immunol Immunother, 2016, 65(1): 13-24.

[12] JIANG R, WANG H, DENG L, et al. IL-22 is related to development of human colon cancer by activation of STAT3[J]. BMC Cancer,2013,13:59-62.

[13] WYNICK C, PETES C, TIGERT A, et al. Lipopolysaccharide-Mediated induction of concurrent IL-1β and IL-23 expression in THP-1 cells exhibits differential requirements for caspase-1 and cathepsin B activity[J]. J Interferon Cytokine Res,2016,36(8):477-487.

[14] SON C N, BANG S Y, KIM J H, et al. Caspase-1 level in synovial fluid is high in patients with spondyloarthropathy but not in patients with gout[J]. J Korean Med Sci, 2013,28(9):1289-1292.

(收稿日期:2020-08-19 修回日期:2021-01-28)