本文引用:王雷,王煜霞,薛会朝. 肝癌患者肿瘤坏死因子-α和白细胞介素-8水平变化及其与临床病理特征的关系[J]. 新乡医学院学报,2015,32(8):735-737.

【临床研究】

肝癌患者肿瘤坏死因子-α和白细胞介素-8水平变化及其与临床病理特征的关系

王 雷[1], 王煜霞[2], 薛会朝[1]
(1.新乡医学院第一附属医院普外科,河南 卫辉 453100;2.新乡医学院基础医学院病理生理学教研室,河南 新乡 453003)

摘要: **目的** 探讨肿瘤坏死因子-α(TNF-α)和白细胞介素-8(IL-8)在肝癌中联合检测的临床意义,揭示二者变化与肝癌临床病理特征的关系。**方法** 采集诊断明确的肝癌患者(肝癌组)术前、术后血清与健康人群(对照组)血清,并采集肝癌患者肝组织石蜡标本,采用酶联免疫吸附法检测血清TNF-α和IL-8水平,免疫组织化学法检测肝癌患者肝组织中TNF-α和IL-8的表达,分析其与临床病理特征的关系。**结果** 肝癌患者术后血清TNF-α和IL-8水平较术前显著降低($P<0.01$),但仍显著高于对照组人群($P<0.01$)。肝癌患者血清TNF-α和IL-8水平与性别、年龄、组织类型、临床分期及肿瘤大小无明显相关性($P>0.05$),与有无淋巴结转移有关($P<0.05$)。肝癌组织中TNF-α和IL-8的表达呈正相关($P<0.01$)。**结论** TNF-α和IL-8可作为肝癌转移的重要标志物及预后评估的指标。

关键词: 肿瘤坏死因子-α;白细胞介素-8;肝癌;临床病理特征
中图分类号: R735.7 **文献标志码:** A **文章编号:** 1004-7239(2015)08-0735-03

Changes of serum tumor necrosis factor-α and interleukin-8 in hepatocarcinoma patients and their relationship between them and clinicopathologic characteristics

WANG Lei[1], WANG Yu-xia[2], XUE Hui-chao[1]
(1. *Department of General Surgery, the First Affiliated Hospital of Xinxiang Medical University, Weihui* 453100, *Henan Province, China*; 2. *Department of Pathophysiology, School of Basic Medical Science of Xinxiang Medical University, Xinxiang* 453003, *Henan Province, China*)

Abstract: **Objective** To explore the clinical significance of combined detection of serum levels of tumor necrosis factor-α(TNF-α) and interleukin-8(IL-8) in hepatocarcinoma and the relationship between TNF-α, IL-8 and clinicopathologic characteristics. **Methods** Serum of hepatocarcinoma patients who had definite diagnosis (hepatocarcinoma group) before and after operation and serum of healthy people who had examination(control group) were selected, and the hepatocarcinoma tissue paraffin specimen was also selected. The serum levels of TNF-α and IL-8 were detected by enzyme linked immunosorbent assay and immunohistochemistry was used to detected the TNF-α and IL-8 expression in hepatocarcinoma tissue. The relationship between TNF-α, IL-8 and clinicopathologic characteristics was analyzed. **Results** Serum levels of TNF-α and IL-8 in hepatocarcinoma group decreased more significantly after operation than those before operation($P<0.01$), but still higher significantly than those in control group($P<0.01$). TNF-α and IL-8 levels had no obvious association with histological types, clinical stage and tumor size($P>0.05$), but had relation with lymph node metastasis($P<0.05$). Serum level of TNF-α was positive correlated with IL-8 in hepatocarcinoma($P<0.01$). **Conclusion** TNF-α and IL-8 may be used as an important metastasis markers for hepatocarcinoma and prognostic factors.

Key words: tumor necrosis factor-α; interleukin-8; hepatocarcinoma; clinicopathologic characteristics

肝癌是我国常见的恶性肿瘤之一,早期症状不典型,确诊时多属中晚期,病死率高,严重影响人们的身心健康[1]。大量研究表明,炎症在癌症的发生、发展、侵袭和转移过程中起重要作用[2-3]。肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor-α, TNF-α)和白细胞介素-8(interleukin-8, IL-8)作为多功能细胞因子,与炎症反应及肿瘤发生密切相关。本研究探讨TNF-α和IL-8水平变化与肝癌的发生、发展、转移及临床病理特征的关系,以期为肝癌的诊断和治疗带来新的思路。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择2010年6月至2013年6月新乡医学院第一附属医院普外科经影像学及病理学

DOI: 10.7683/xxyxyxb.2015.08.012
收稿日期: 2015-02-03
基金项目: 河南省教育厅自然科学研究资助项目(编号:13A320854)
作者简介: 王 雷(1977-),男,河南唐河人,硕士,主治医师,讲师,主要从事普外科常见病的临床研究。

检查确诊为肝癌患者 50 例(肝癌组),男 32 例,女 18 例,年龄 30 ~ 69 岁,平均(47.2 ± 3.1)岁,所有病例术前均未接受过化学治疗和放射治疗。根据 2010 年 1 月"原发性肝癌规范化病理诊断方案专家共识研讨会"制定的"原发性肝癌的临床诊断与分期标准"[4],大体病理分型为:结节型 37 例,块状型 12 例,弥漫型 1 例。另随机抽取本院 2012 年 3 月体检中心体检的 50 例健康人群空腹静脉血为对照组,均经常规检查及辅助检查,排除全身各部位存在感染病灶;男 27 例,女 23 例,年龄 31 ~ 71 岁,平均(46.2 ± 4.4)岁。2 组受试者的性别及年龄构成差异无统计学意义($P > 0.05$),具有可比性。所有受试者对本研究知情同意,并签署同意书。本研究经医院伦理委员会批准。

1.2 方法

1.2.1 血清 TNF-α 和 IL-8 水平测定 所有肝癌患者均于术前及术后 7 d 晨起 6:30 ~ 7:00 空腹静脉采血 5 mL,分离血清置 -20 ℃冰箱保存,实验前迅速解冻,由专人严格按照说明书进行双抗体夹心酶联免疫吸附测定(enzyme-linked immunosorbent assay,ELISA)法检测肝癌组及对照组血清 TNF-α 和 IL-8 水平。TNF-α 和 IL-8 ELISA 试剂盒由北京博奥森生物技术有限公司提供。

1.2.2 肝癌组织中 TNF-α 和 IL-8 表达检测 采用免疫组织化学链霉素抗生物素蛋白-过氧化物酶连结法检测肝癌组织中 TNF-α 和 IL-8 的表达,肝癌组织经甲醛固定、石蜡包埋、脱蜡至水,体积分数 3% H_2O_2 孵育,正常山羊血清封闭,滴加 TNF-α 和 IL-8 稀释液(一抗),生物素标记 IL-G(二抗),经二氨基联苯胺(亲和素-生物素复合物底物)孵育,苏木精染色,常规脱水,透明,干燥,封片,光镜下观察。TNF-α 和 IL-8 免疫阳性物质表达在细胞质中,呈棕色至棕黄色颗粒,随机抽查 5 个高倍视野,计数 1 000 个细胞,以阳性细胞百分数和着色深度进行评分[5],"-":无明显阳性细胞,"+":阳性细胞百分比 <25%,"++":阳性细胞百分比 25% ~75%,"+++":阳性细胞百分比 >75%,将"-"和"+"组定义为阴性/弱阳性表达,"++"和"+++"定义为强阳性表达。TNF-α 和 IL-8 多克隆抗体及免疫组织化学试剂盒由北京博奥森生物技术有限公司提供。

1.3 统计学处理 应用 SPSS 13.0 软件进行统计学分析,计量资料以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,采用 t 检验,计数资料采用 χ^2 检验,相关性分析采用 Spearman 秩相关分析,$P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 2 组血清 TNF-α 和 IL-8 水平比较 肝癌组患者术前血清 TNF-α 和 IL-8 水平[(71.21 ± 14.22)、(17.69 ± 11.20) ng · L^{-1}]均显著高于对照组[(2.50 ± 3.18)、(3.02 ± 5.43) ng · L^{-1}](t = 14.624、12.327,$P < 0.01$),肝癌组患者术后 7 d 血清 TNF-α 和 IL-水平[(43.25 ± 6.01)、(9.53 ± 6.34) ng · L^{-1}]较术前显著降低(t = 11.316、19.614,$P < 0.01$),但仍显著高于对照组(t = 8.476、10.016,$P < 0.01$)。

2.2 肝癌组织中 TNF-α 和 IL-8 的表达与临床病理特征的关系 结果见表 1。肝癌组织中 TNF-α 和 IL-8 的表达与组织类型、临床分期、肿瘤大小无相关性($P > 0.05$),与有无淋巴结转移明显相关($P < 0.05$)。

表 1 肝癌组织中 TNF-α 和 IL-8 的表达与临床病理特征的关系

Tab. 1 Relationship between the expression of TNF-α and IL-8 in hepatocarcinoma tissue and clinicopathologic characteristics

病理特征	n	TNF-α 阴性/弱阳性/例(%)	TNF-α 强阳性/例(%)	χ^2	P	IL-8 阴性/弱阳性/例(%)	IL-8 强阳性/例(%)	χ^2	P
性别									
男	32	13(40.6)	19(59.3)	0.25	0.83	14(43.6)	18(56.3)	0.73	0.63
女	18	9(50.0)	9(50.0)			10(55.6)	8(44.4)		
年龄/岁									
≥50	36	16(44.4)	20(55.6)	0.85	0.54	15(41.7)	21(58.3)	0.95	0.67
<51	14	6(42.9)	8(57.1)			9(64.3)	5(35.7)		
组织类型									
块状型	12	9(75.0)	3(25.0)			7(58.3)	5(41.7)		
结节型	37	13(35.1)	24(64.9)	0.64	0.72	17(45.9)	20(54.1)	0.58	0.67
弥漫型	1	0(0.0)	1(100.0)			0(0.0)	1(100.0)		
临床分期									
Ⅰ ~ Ⅱ期	31	13(41.9)	18(58.1)	0.43	0.61	14(45.2)	17(54.84)	0.34	0.82
Ⅲ期	19	9(47.4)	10(52.6)			10(52.6)	9(47.4)		
淋巴结转移									
有	35	10(28.6)	25(71.4)	0.12	0.02	11(31.4)	24(68.6)	0.24	0.00
无	15	12(80.0)	3(20.0)			13(86.7)	2(13.3)		
肿瘤大小									
<5 cm	35	17(48.6)	18(51.4)	1.21	0.74	16(45.7)	19(54.3)	0.47	0.78
≥5 cm	15	7(46.7)	8(53.4)			8(53.3)	7(46.7)		

2.3　肝癌组织中 TNF-α 和 IL-8 表达的相关性

结果见表2。肝癌组织中 TNF-α 和 IL-8 的表达呈正相关($r=0.312$,$P<0.01$)。

表 2　肝癌组织中 TNF-α 和 IL-8 表达的相关性

Tab. 2　Correlation of the expression of TNF-α and IL-8 in hepatocarcinoma tissue　　($n=50$)

TNF-α	IL-8		r	P
	强阳性表达/例	阴性/弱阳性表达/例		
强阳性表达	22	6	0.312	<0.01
阴性/弱阳性表达	4	18		

3　讨论

肝癌是常见恶性肿瘤之一,其发生发展是一个多因素多环节参与的复杂过程。近年来,国内外肿瘤学研究表明,多种细胞因子参与肿瘤的发生发展及浸润转移[6],因此,对机体免疫应答调控起重要作用的细胞因子成为肿瘤学领域的研究热点,逐渐应用于肿瘤的辅助诊断和疗效观察。

TNF-α 是一种多功能细胞因子,主要由单核-巨噬细胞或活化的中性粒细胞产生。生理状态下,体内有少量 TNF-α 存在,与多种细胞因子共同发挥抗感染、抗肿瘤作用。病理状态下,如炎症、肿瘤,TNF-α 持续释放,启动瀑布式炎症级联反应,促进 IL-1、IL-8 等多种促炎因子生成,引起全身炎症反应综合征[7]。本研究结果显示,肝癌组患者术前血清 TNF-α 水平显著高于对照组健康人群,术后 7 d 较术前显著降低,但仍显著高于对照组,提示 TNF-α 增多可能参与肝癌的发生发展。患者术前 TNF-α 水平高可能与肝癌细胞引起机体免疫反应有关,术后切除癌肿,阻断或减少肿瘤对炎症细胞的刺激,使炎症细胞产生 TNF-α 减少,血清 TNF-α 水平显著降低,但由于手术后时间较短,短时期内癌细胞未能完全清除,血清 TNF-α 仍然高于正常水平。

IL-8 属于白细胞趋化因子,主要由单核-巨噬细胞、上皮细胞、内皮细胞、成纤维细胞、中性粒细胞及多种肿瘤细胞等产生[8],还可由多种物质如脂多糖、TNF-α、IL-1β、巨噬细胞集落刺激因子等诱导产生,其主要生物学功能是募集、激活白细胞,促进白细胞产生更多的促炎因子如 TNF-α、IL-1β 等,从而发挥其杀死细菌、清除坏死组织、增强免疫活性以及创伤愈合等重要作用。研究显示 IL-8 在肺癌、膀胱癌等多种恶性肿瘤中高表达[9]。本研究结果显示,肝癌组患者术前血清 IL-8 水平显著高于对照组健康人群,术后 7 d 则较术前显著降低。分析术前血清 IL-8 水平较高的原因,一方面肿瘤细胞通过自分泌产生 IL-8;另一方面,肿瘤细胞大量繁衍,活化单核-巨噬细胞、中性粒细胞、成纤维细胞等多种炎症细胞,活化的炎症细胞释放大量 IL-8。同时,本研究相关性分析结果表明 TNF-α 和 IL-8 在肝癌组织中的表达呈正相关,推测二者可能存在显著正反馈或者相互调节的作用:一方面,TNF-α 的释放诱导机体产生 IL-8[10],与此同时,释放的 IL-8 促进机体产生更多的 TNF-α。

此外,本研究还发现,TNF-α 和 IL-8 在肝癌组织中的表达与组织类型、临床分期及肿瘤大小无明显相关性,与有无淋巴结转移密切相关,提示 TNF-α 和 IL-8 与肝癌侵袭、转移有关,TNF-α 和 IL-8 可作为肝癌恶性程度及预后的客观判断指标。

本研究结果提示,联合检测 TNF-α 和 IL-8 对了解肝癌患者病情及预后评估具有重要的临床价值,TNF-α 和 IL-8 可作为肝癌转移的重要标志物及预后评估的指标。

参考文献:

[1] 郑阳,陈涛. 多肿瘤标志物联合应用对肝癌的诊断价值[J]. 新乡医学院学报,2014,31(5):388-390.

[2] Sansone P, Bromberg J. Environment, inflammation, and cancer[J]. *Curr Opin Genet Dev*, 2011, 21(1): 80-85.

[3] Maher S G, Reynolds J V. Basic concepts of inflammation and its role in carcinogenesis[J]. *Recent Results Cancer Res*, 2011, 185: 1-34.

[4] Maletzki C, Emmrich J. Inflammation and immunity in the tumor environment[J]. *Dig Dis*, 2010, 28(4/5): 574-578.

[5] 中国抗癌协会肝癌专业委员会,中国抗癌协会临床肿瘤学协作专业委员会,中华医学会肝病学分会肝癌学组,全国肝胆肿瘤及移植病理协作组. 原发性肝癌规范化病理诊断方案专家共识[J]. 中华肝脏病杂志,2011,19(4):254-257.

[6] 于萍,步宏,王华,等. 免疫组化结果的图像分析与人工计数方法的对比研究[J]. 生物医学工程学杂志,2003,20(2):288-290.

[7] Grivennikov S, Karin E, Terzic J, *et al*. IL-6 and Stat3 are required for survival of intestinal epithelial cells and development of colitis-associated cancer[J]. *Cancer Cell*, 2009, 15(2): 103-113.

[8] Todorović-Raković N, Milovanović J. Interleukin-8 in breast cancer progression[J]. *J Interferon Cytokine Res*, 2013, 33(10): 563-570.

[9] Pine S R, Mechanic L E, Enewold L, *et al*. Increased levels of circulating interleukin 6, interleukin 8, c-reactive protein, and risk of lung cancer[J]. *J Natl Cancer Inst*, 2011, 103(14): 1112-1122.

[10] Urquidi V, Chang M, Dai Y, *et al*. IL-8 as a urinary biomarker for the detection of bladder cancer[J]. *BMC Urol*, 2012, 12(12): 1-7.

(本文编辑:王　燕　英文编辑:王　燕)