

点功能的丢失以及细胞凋亡阈值的增加而受益。

细胞周期素(Cyclin)是一类随着细胞周期的不同而发生变化的蛋白质,在G₂期主要是CyclinB的表达增加^[9],有丝分裂结束时降低^[10]。由于真核细胞M期的诱导由M期促进因子(M-phase promoting factor, MPF)来完成^[11],而MPF主要是由催化亚基P_{34cdc2}和调节亚基CyclinB组成的激酶复合体(P_{34cdc2}-cyclinB),即CyclinB是MPF的组成成分^[12]。有人^[13]研究发现CyclinB与细胞周期依赖性激酶P_{34cdc2}结合组成的激酶复合体控制着有丝分裂期的进入与离开。CyclinB与P_{34cdc2}结合, P_{34cdc2}激酶的15-酪氨酸和14-苏氨酸脱磷酸而激活,使细胞进入M期进行有丝分裂,当进入有丝分裂后期, CyclinB的迅速降解,导致复合物释放出无活性的亚单位P_{34cdc2}。P_{34cdc2}失去活性,细胞才能退出M期,如果CyclinB降解受阻,细胞将无法退出,因而停滞于M期。本实验中,胃癌组织CyclinB_i较正常胃组织水平低, Survivin表达阳性胃癌组织CyclinB_i较Survivin表达阴性胃癌组织低,说明CyclinB_i较低时,使进入M期的胃癌细胞完成有丝分裂后迅速退出M期,使细胞得以增生发展。因此, Survivin对细胞分裂周期的调控可能是通过CyclinB_i表达来实现的。Survivin在肿瘤细胞进入G₂/M期表达增加,引起CyclinB_i表达降低,从而有利于细胞完成有丝分裂后退出G₂/M期,而细胞有丝分裂的顺利完成为细胞异常增生及肿瘤发生、发展创造了先决条件。

4 参考文献

- 1 Ambrosini G, Adida C, Sirugo G, Altieri DC. Induction of apoptosis and inhibition of cell proliferation by survivin gene targeting. *J Biol Chem* 1998;273:11177-11182
- 2 Bao R, Connolly DC, Murphy M, Green J, Weinstein JK, Pisarcik DA, Hamilton TC. Activation of cancer-specific gene expression by the survivin promoter. *J Natl Cancer Inst* 2002;94:522-528
- 3 Hartwell LH, Kastan MB. Cell cycle control and cancer. *Science* 1994;266:1821-1828
- 4 Hartwell LH, Weinert TA. Checkpoints: control that ensure the order of cell cycle events. *Science* 1989;246:629-634
- 5 Elledge SJ. Cell cycle checkpoints: Preventing an identity crisis. *Science* 1996;274:1664-1672
- 6 Uren AG, Beilharz T, O'Connell MJ, Bugg SJ, Van-Driel R, Vaux DL, Lithgow T. Role for yeast inhibitor of apoptosis (IAP)-like proteins in cell division. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999;96:10170-10175
- 7 Chiarugi V, Magnelli L, Cinelli M, Basi G. Apoptosis and the cell cycle. *Cell Mol Biol Res* 1994;40:603-612
- 8 Chen J, Wu W, Tahir SK, Kroeger PE, Rosenberg SH, Cowser LM, Bennett F, Krajewski S, Krajewska M, Welsh K, Reed JC, Ng SC. Down-regulation of survivin by antisense oligonucleotides increases apoptosis, inhibits cytokinesis and anchorage-independent growth. *Neoplasia* 2000;2:235-241
- 9 Dynlacht BD. Regulation of transcription by proteins that control the cell cycle. *Nature* 1997;389:149-152
- 10 Muschel RJ, Zhang HB, McKenna WG. Differential effect of ionizing radiation on the expression of cyclin A and cyclin B in HeLa cells. *Cancer Res* 1993;53:1128-1135
- 11 Lohka MJ, Hayes MK, Maller JL. Purification of maturation-promoting factor, an intracellular regulator of early mitotic events. *Proc Natl Acad Sci (USA)* 1988;85:3009-3013
- 12 Gerhart J, Wu M, Kirschner M. Cell cycle dynamics of an M-phase-specific cytoplasmic factor in *Xenopus laevis* oocytes and eggs. *J Cell Biol* 1984;98:1247-1255
- 13 King RW, Jackson PK, Kirschner MW. Mitosis in transition. *Cell* 1994;79:563-571

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2004年版权归世界胃肠病学杂志社

• 研究快报 •

人胰腺癌组织中Th2类细胞因子的优势表达及其临床意义

张圣林, 邱法波, 吴力群, 卢云

张圣林, 邱法波, 吴力群, 卢云, 青岛大学医学院附属医院肝胆血管外科 山东省青岛市 266003

项目负责人: 邱法波, 266003, 山东省青岛市江苏路16号, 青岛大学医学院附属医院肝胆血管外科. phulin@sohu.com

电话: 0532-2911369

收稿日期: 2004-09-13 接受日期: 2004-10-20

摘要

目的: 观察Th1/Th2类细胞因子在胰腺癌组织中的表达模式及临床意义。

方法: 以IFN- γ 和IL-2代表Th1类细胞因子, IL-4和IL-10代表Th2类细胞因子。收集45例胰腺癌患者的手术切除组织蜡块, 以免疫组织化学PV-9000通用型二步法染色,

DAB显色试剂盒显色, 检测胰腺癌组织中Th1/Th2类细胞因子的表达。

结果: IFN- γ 和IL-2在胰腺癌和正常胰腺组织中的表达无明显差异($P>0.05$), 说明Th1类细胞因子在胰腺癌和正常胰腺组织中的表达无明显差异; IL-4和IL-10在胰腺癌组织中的表达明显高于正常胰腺组织($P=0.022<0.05$; $P=0.023<0.05$), 说明Th2类细胞因子在胰腺癌组织中的表达明显高于正常胰腺组织。

结论: 胰腺癌组织中Th2类细胞因子呈优势表达状态, 这可能是肿瘤免疫逃逸的机制。

张圣林, 邱法波, 吴力群, 卢云. 人胰腺癌组织中Th2类细胞因子的优势表达及其临床意义. 世界华人消化杂志 2004;12(12):2862-2864
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/12/2862.asp>

0 引言

自Th1和Th2的概念提出以来, 人们对其在机体免疫应答中的作用进行了大量的体内外实验研究, 但未见有胰腺癌组织中Th1/Th2偏移的研究报道. 我们以IFN- γ 和IL-2代表Th1类细胞因子, IL-4和IL-10代表Th2类细胞因子, 以免疫组织化学方法检测胰腺癌组织中Th1/Th2类细胞因子的表达, 阐明Th1/Th2类细胞因子在胰腺癌中的表达特征, 这对于明确胰腺癌的发病机制及指导临床有重要意义.

1 材料和方法

1.1 材料 收集青岛大学医学院附属医院肝胆血管外科1998-2004年间的45例胰腺癌患者病例资料及切除组织的蜡块标本, 男31例, 女14例, 年龄44-80岁, 平均年龄63.8岁. 其中胰头癌33例, 胰体尾癌10例, 钩突癌2例. 病理类型: 高分化腺癌5例, 中分化腺癌25例, 低分化腺癌15例. 对照组10例正常胰腺组织标本取自非正常死亡的健康成人尸体.

1.2 方法

1.2.1 免疫组化染色 胰腺癌组织蜡块预冷后4 μ m连续切片, 二甲苯与梯度酒精脱蜡至水化, 30 mL/L过氧化氢10 min以消除内源性过氧化物酶. 置入0.01 mol/L

枸橼酸缓冲液(pH = 6.0), 微波修复抗原. 一抗为兔抗人IFN- γ , IL-2, IL-4和IL-10(武汉博士德生物工程有限公司), IFN- γ , IL-2和IL-4以1:200稀释后使用, IL-10以1:50稀释. PV-9000通用型二步法染色, PV-9000试剂盒购自北京中杉金桥生物技术有限公司, 流程参考说明书. DAB显色试剂盒显色, 苏木素复染, 10 mL/L盐酸酒精分化, 1 mL/L氨水返蓝, 梯度酒精脱水, 干燥后中性树胶封片. 用已知阳性切片作阳性对照, 以PBS代替一抗作阴性对照.

1.2.2 结果判断 胞质内含棕黄色颗粒为阳性, 并按表达情况和强度分为: (-)为阴性, (+)每张切片有<25%细胞表达, (++)25-50%细胞表达, (+++) >50%的细胞表达.

统计学处理 采用SPSS 11.5软件进行分析, $P < 0.05$ 认为有统计学意义.

2 结果

胰腺癌组织中四种细胞因子的表达情况(表1). IFN- γ 在胰腺癌和正常胰腺组织中的表达无明显差异($P = 0.596 > 0.05$, 图1); IL-2在胰腺癌和正常胰腺组织中的表达也无明显差异($P = 0.146 > 0.05$, 图2); IL-4在胰腺癌组织中的表达明显高于正常胰腺组织($P = 0.022 < 0.05$, 图3); IL-10在胰腺癌组织中的表达也明显高于正常胰腺组织($P = 0.023 < 0.05$, 图4).

以IFN- γ 和IL-2代表Th1类细胞因子, 在胰腺癌和正常胰腺组织中的表达无明显差异; 以IL-4和IL-10代表Th2类细胞因子, 在胰腺癌组织中的表达明显高于

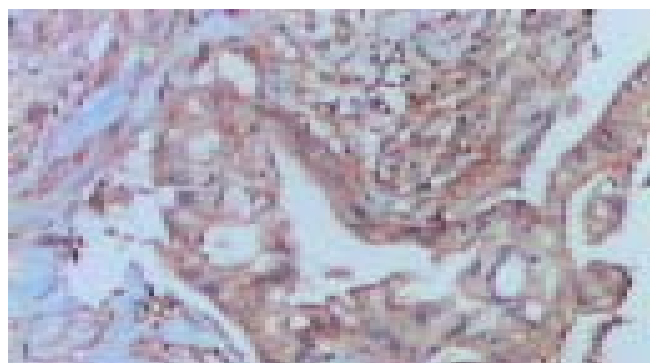


图1 IFN- γ 在胰腺癌中的表达($\times 400$).

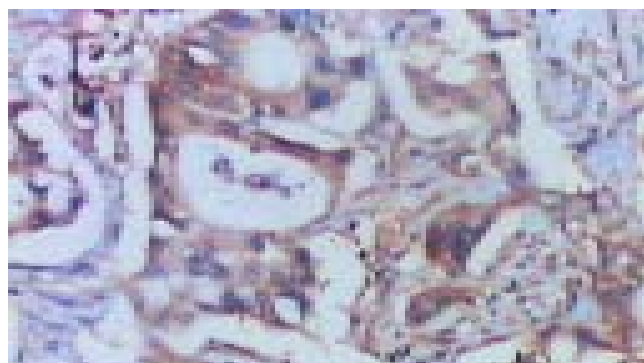


图2 IL-2在胰腺癌中的表达($\times 400$).

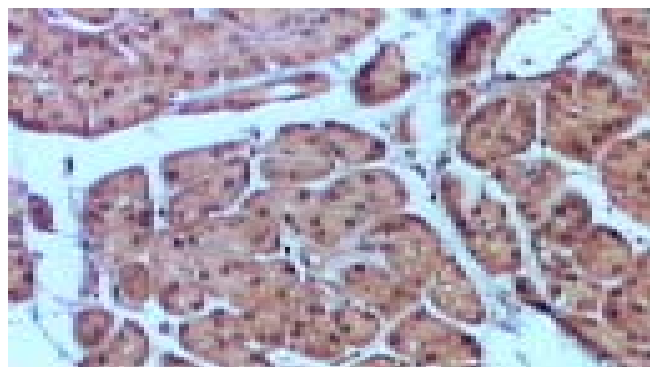


图3 IL-4在胰腺癌中的表达($\times 400$).



图4 IL-10在胰腺癌中的表达($\times 400$).

表1 细胞因子在胰腺癌和正常胰腺组织中的表达

组别	IFN- γ				IL-2				IL-4				IL-10			
	-	+	++	+++	-	+	++	+++	-	+	++	+++	-	+	++	+++
胰腺癌	4	13	22	6	7	12	21	5	15 ^a	21 ^a	9 ^a	0 ^a	19 ^a	20 ^a	6 ^a	0 ^a
正常胰腺	0	2	7	1	2	6	2	0	8 ^a	2 ^a	0 ^a	0 ^a	9 ^a	1 ^a	0 ^a	0 ^a

^a $P < 0.05$ vs 正常胰腺组; ^a $P < 0.05$ vs 正常胰腺组.

正常胰腺组织. 这与国内外的有关报道基本相符合, 说明胰腺癌作为恶性肿瘤中的一种也是处于 Th1/Th2 类细胞因子偏移状态, Th2 类细胞因子呈优势表达.

不同病理类型的胰腺癌组织中 Th2 类细胞因子的表达情况(表2). IL-4, IL-10 的表达情况与胰腺癌的恶性程度呈明显的正相关($P = 0.013 < 0.05$; $P = 0.029 < 0.05$).

表2 Th2 类细胞因子在不同病理类型胰腺癌中的表达

病理类型	IL-4			IL-10		
	-	+	++	-	+	++
高分化	4	1	0	3	2	0
中分化	6	12	7	5	12	8
低分化	2	4	9	2	3	10

3 讨论

根据 CD4⁺Th 细胞所分泌的细胞因子不同, 将其分为 Th0、Th1、Th2 三种亚型. Th1 类细胞分泌 IFN- γ 、IL-2、IL-18 和 IL-12 等, 主要介导细胞免疫应答; Th2 类细胞分泌 IL-4、IL-5、IL-6 和 IL-10 等, 主要介导体液免疫应答. 正常机体的 Th1/Th2 类细胞因子处于动态平衡, 当这个平衡失调并向 Th1 或 Th2 转化时, 称为 Th1/Th2 的偏移. Th1/Th2 的偏移与许多疾病的发生、发展、治疗和转归有密切的关系. 近年来研究发现, 非小细胞肺癌、直肠癌、卵巢癌、绒癌、黑色素瘤、胃癌、骨肉瘤、淋巴瘤及鼻咽癌等多种肿瘤患者体内 Th2 类细胞因子占优势, 且 Th1/Th2 的偏移与肿瘤的恶性程度呈正相关^[1]. Bellone *et al*^[2] 也发现胰腺癌组织中 Th2 类细胞因子的表达明显高于正常胰腺组织, 而其未对 Th1 类细胞因子和 Th1/Th2 的偏移做相

关研究. 我们的结果显示, 45 例胰腺癌组织中 Th1 类细胞因子的表达与正常胰腺组织无明显差异, Th2 类细胞因子的表达明显高于正常胰腺组织, 提示 Th2 类细胞因子分泌量增多, 呈优势表达状态. 这不但与 Bellone 的结论基本符合而且还进一步阐述了胰腺癌患者的免疫状态.

机体的抗肿瘤免疫效应机制包括细胞免疫和体液免疫两个方面, 细胞免疫是主力, 在抗肿瘤免疫过程中发挥着重要作用^[3]. 恶性肿瘤患者 Th2 优势表达可降低机体的抗肿瘤免疫能力, 致肿瘤细胞逃避细胞免疫应答, 使癌细胞在宿主体内得以长期的存活和发展^[4], 另外 Th2 类细胞还可直接阻滞 Th1 类细胞介导的免疫应答^[5], 并且随肿瘤分化程度的降低和病情的进展这种趋势会更加明显^[6], 这可能是导致肿瘤免疫逃逸的机制.

检测胰腺癌患者的 Th1/Th2 类细胞因子, 既有助于疾病的诊断, 又可对疾病的发生发展进行监测, 还能以调整 Th1/Th2 的平衡为目的设计出相应的治疗方案^[7]. 因此, 对恶性肿瘤患者, 检测机体的 Th1/Th2 类细胞因子水平有着重要的临床意义.

4 参考文献

- 1 Kharkevitch DD, Seito D, Balch GC, Maeda T, Balch CM, Itoh K. Characterization of autologous tumor-specific T-helper 2 cells in tumor-infiltrating lymphocytes from a patient with metastatic melanoma. *Int J Cancer* 1994;58:317-323
- 2 Bellone G, Turletti A, Artusio E, Mareschi K, Carbone A, Tibaudi D, Robecchi A, Emanuelli G, Rodeck U. Tumor-associated transforming growth factor-beta and interleukin-10 contribute to a systemic Th2 immune phenotype in pancreatic carcinoma patients. *Am J Pathol* 1999;155:537-547
- 3 Reome JB, Hyland JC, Dutton RW, Dobrzanski MJ. Type 1 and type 2 tumor infiltrating effector cell subpopulations in progressive breast cancer. *Clin Immunol* 2004;111:69-81
- 4 Cua DJ, Hinton DR, Stohlman SA. Self-antigen-induced Th2 responses in experimental allergic encephalomyelitis (EAE)-resistant mice. Th2-mediated suppression of autoimmune disease. *J Immunol* 1995;155:4052-4059
- 5 Ruzek MC, Mathur A. Specific decrease of Th1-like activity in mice with plasma cell tumors. *Int Immunol* 1995;7:1029-1035
- 6 Spachacz R, Kasprzak A, Stefanska K, Trejster E, Seidel J, Zabel M. Tissue expression of cytokines (IL-1alpha, IL-2, IL-6, IL-12, TNF-alpha) in B-cell lymphomas in children. *Folia Morphol* 2003;62:483-484
- 7 Loskog A, Dzojic H, Vikman S, Ninalga C, Essand M, Korsgren O, Totterman TH. Adenovirus CD40 ligand gene therapy counteracts immune escape mechanisms in the tumor Microenvironment. *J Immunol* 2004;172:7200-7205