

免疫与感染

DOI: 10.13406/j.cnki.cyx.000035

变应性鼻炎豚鼠模型中 Th2/Th17 相关细胞因子检测

唐新业¹, 孙 荣², 洪苏玲³, 姚红兵¹, 杨 阳¹

(1. 重庆医科大学附属儿童医院耳鼻喉科, 重庆 400014; 2. 重庆医科大学附属第一医院健康体检部, 重庆 400016;

3. 重庆医科大学附属第一医院耳鼻喉科, 重庆 400016)

【摘要】目的:分析变应性鼻炎(allergic rhinitis, AR)豚鼠模型鼻腔灌洗液白细胞介素-17(interleukin-17, IL-17)、白细胞介素-4(interleukin-4, IL-4)及鼻相关淋巴组织中白细胞介素-23(interleukin-23, IL-23)mRNA 的表达水平,探讨该模型中是否存在 Th2/Th17 细胞因子失衡。**方法:**建立 AR 豚鼠模型,收集鼻腔灌洗液,采用 ELISA 法检测灌洗液中 IL-17 和 IL-4,分离鼻相关淋巴组织,通过 RT-PCR 半定量检测 IL-23 mRNA 的表达水平,比较模型组和对照组间细胞因子水平差异。**结果:**AR 模型组鼻腔灌洗液 IL-17 水平为 (4.98 ± 1.54) pg/ml,比对照组 (12.68 ± 3.32) pg/ml低,差异有统计学意义($t=10.35, P=0.006$)。鼻相关淋巴组织中 IL-23 mRNA 的表达水平与 IL-17 的表达相似;而鼻腔灌洗液中 IL-4 的表达水平正好相反,与对照组 (6.60 ± 1.36) pg/ml比较,模型组 IL-4 的表达水平 (31.20 ± 4.25) pg/ml高,差异有统计学意义($t=17.26, P=0.001$)。**结论:**Th17 相关的细胞因子 IL-17、IL-23 在 AR 动物模型中表达降低,而 Th2 细胞因子 IL-4 的表达水平明显升高,从而推测在 AR 中可能存在 Th2/Th17 细胞因子网络失衡,这种 Th2/Th17 细胞因子网络失衡可能对变应性炎症的发生起到关键的重要。

【关键词】变应性鼻炎;白细胞介素-17;白细胞介素-4;白细胞介素-23**【中图分类号】**R765.21**【文献标志码】**A**【收稿日期】**2013-03-14

Detection of concentrations of Th2/Th17 cytokines in guinea pig model of allergic rhinitis

Tang Xinye¹, Sun Rong², Hong Suling³, Yao Hongbing¹, Yang Yang¹

(1. Departments of Otolaryngology, the Children's Hospital, Chongqing Medical University;

2. Department of Physical Examination, The First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University;

3. Department of Otolaryngology, The First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University)

【Abstract】Objective: To investigate the changes of interleukin-17 (IL-17) and interleukin-4 (IL-4) in nasal lavage fluid and interleukin-23 (IL-23) mRNA in nasal associated lymphoid tissue of animal model of allergic rhinitis (AR). **Methods:** Guinea pig model of AR was established. Nasal lavage fluid was collected, then IL-17 and IL-4 levels in nasal lavage fluid were measured by ELISA. Nasal associated lymphoid tissue was separated, then IL-23 mRNA expression level was detected by RT-PCR. Differences of cytokines level were compared between model group and control group. **Results:** Level of IL-17 in nasal cavity lavage fluid was (4.98 ± 1.54) pg/ml in model group and (12.68 ± 3.32) pg/ml in the control group. Level of IL-17 decreased in model group than in control group with statistically significant differences ($t=10.35, P=0.006$). mRNA level of IL-23 in nasal-associated lymphoid tissue was the same with IL-17. But the level of IL-4 in the nasal cavity lavage fluid (31.20 ± 4.25) pg/ml was significantly higher in model group than in control group (6.60 ± 1.36) pg/ml, with statistically significant differences ($t=17.26, P=0.001$). **Conclusion:** Levels of IL-17 and IL-23 decrease in AR model. But level and levels of IL-4 are significant higher in model group than in control group. Thereby we infer that there is the imbalance of Th2/Th17 cytokine network in AR, which may play an important role in allergic inflammation.

【Key words】allergic rhinitis; interleukin-17; interleukin-4; interleukin-23

变应性鼻炎(allergic rhinitis, AR)是多种免疫活性细胞和细胞因子参与的由 IgE 介导的 I 型变态

反应性疾病。机体内免疫调节细胞和细胞因子水平与 AR 的发生发展有着密切的关系。以往认为 AR 的发生是 Th2 细胞过度极化和 Th2 细胞因子白细胞介素-4(interleukin-4, IL-4)、白细胞介素-5(interleukin-5, IL-5)等优势表达的结果^[1-2]。近年来发现了一种不同于 Th1 细胞和 Th2 细胞、与白细胞介

作者介绍:唐新业, Email: ent2008@126.com,

研究方向:耳鼻咽喉科学变态反应性疾病。

通信作者:孙 荣, Email: ent2002@163.com。

优先出版: <http://www.cnki.net/kcms/doi/10.13406/j.cnki.cyx.000035.html>

素-23(interleukin-23, IL-23)相关的且能够分泌白细胞介素-17(interleukin-17, IL-17)的新的 Th 细胞亚群——Th17 细胞。其在促炎反应和气道过敏性反应中起一定作用^[3],但 Th17 细胞及其分泌的 IL-17 与 AR 之间的关系尚不明确。

金黄色葡萄球菌肠毒素 B(staphylococcal enterotoxin B, SEB)是由金黄色葡萄球菌合成的一种外毒素。SEB 可作为超抗原,也可作为传统的变应原参与变应性疾病的发生。金黄色葡萄球菌及其产生的超抗原广泛分布于人类的皮肤和鼻腔,人们在日常生活中接触金葡萄超抗原的几率极高,这就增加了特应性个体罹患变态反应性疾病的风险。本课题组以 SEB 作为变应原,在没有任何佐剂的情况下,通过反复鼻腔喷滴 SEB,在国际上首次成功建立 AR 豚鼠模型^[4]。该模型具备 AR 的典型症状,如打喷嚏、抓鼻等,鼻腔黏膜 HE 染色可见大量嗜酸性粒细胞浸润。本研究以该 AR 豚鼠模型为研究对象,通过检测模型中 IL-23、IL-17 和 IL-4 的表达,探讨该 AR 动物模型中是否存在 Th2/Th17 细胞因子失衡。

1 材料和方法

1.1 实验动物

健康 Hartley 系豚鼠 12 只,雄性,体质量 250~300 g,购自重庆医科大学基础医学院动物实验中心。将实验动物随机分为 2 组:模型组 and 对照组,每组 6 只。实验前经观察,豚鼠无频繁喷嚏、抓鼻、呼吸深慢及大量流涕等鼻部感染表现。在空调动物房饲养,饲养房避免过敏原存在,早晚 12 h 间断照明。模型组:以每侧鼻孔 2 μ g SEB + 20 μ l 生理盐水,在没有任何佐剂的情况下,行豚鼠双鼻孔喷滴,每 4 d 1 次,连续 11 次(共 41 d)。对照组:以生理盐水代替 SEB 进行实验。

1.2 主要试剂

总 RNA 提取试剂盒和 MIX(含 Taq DNA 聚合酶和 dNTP)购自大连宝生物工程有限公司,逆转录试剂盒由大连宝生物工程有限公司提供,豚鼠淋巴细胞分离液购自天津 TBD 公司,胶原酶 I 购自美国 Invitrogen 公司,豚鼠 IL-4、IL-17 ELISA 试剂盒购自美国 BPB 公司,IL-23(p19)和 β -actin 的 PCR 引物(表 1)定制于上海生物工程有限公司。

表 1 用于 RT-PCR 分析的 IL-23(p19)、 β -actin 引物序列

Tab.1 Primer sequences for IL-23(p19) and β -actin

基因名称	引物序列
IL-23 正义引物	5' -GATCCACAAGGACTCAAGGACAAC-3'
IL-23 反义引物	5' -AGGATCTTGATTCTCAGAAGAAGGC-3'
β -actin 正义引物	5' -TGCTGGCAAAAGTGGATATTGTAGC-3'
β -actin 反义引物	5' -GGACTTGTCTGCTACTTCTCGTGATTC-3'

1.3 标本取材和检测指标

1.3.1 症状学观察 每次鼻腔喷滴后 1 h 内,用数码摄录机对豚鼠行为进行记录,然后对豚鼠喷嚏和抓鼻次数进行逐个计数。

1.3.2 鼻腔灌洗液的收集 2 组豚鼠于第 11 次鼻腔喷滴 5 h 内,肌肉注射 20%乌拉坦麻醉(1 350 mg/kg),鼻腔灌洗液的收集参考 Nabe 等^[5]的方法。豚鼠固定于俯卧头低位,右侧鼻腔以细管与盛有 2 ml 生理盐水(37 $^{\circ}$ C)的密封试管相连,左侧鼻腔通过细管与处于负压状态下的回收管相连,这样灌洗液自右侧鼻腔流向左侧鼻腔。此法可有 80%以上的鼻腔灌洗液被回收。经室温 1 400 r/min 离心 10 min,上清液保存于 -80 $^{\circ}$ C 冰箱,待测 IL-4 和 IL-17 用。

1.3.3 鼻腔灌洗液中细胞因子的检测 竞争结合 ELISA 法检测鼻腔灌洗液 IL-4 和 IL-17。一抗包被的反应板每孔加入 50 μ l 标准品或鼻腔灌洗液样本,然后每孔加入 10 μ l 生物素化二抗工作液和 100 μ l 辣根过氧化物酶标记的亲合素,混匀 15 s,37 $^{\circ}$ C 孵育 60 min。洗板后,每孔加入 50 μ l TMB 显色液,混匀 5 s,37 $^{\circ}$ C 孵育 15 min,每孔加入 50 μ l 终止液终止反应。采用 Thermo 全自动酶标仪在 450 nm 处检测和采集数据。IL-4 ELISA 试剂盒的最低检测限度为 2 pg/ml,IL-17 ELISA 试剂盒的最低检测限度为 1 pg/ml。

1.3.4 鼻相关淋巴组织的分离

1.3.4.1 鼻黏膜标本取材 2 组豚鼠于获取鼻腔灌洗液后,立即放血处死。剥离鼻部皮肤后,将连同鼻腔的上颌骨取下,从中切齿间完整分离双侧鼻腔。一侧鼻腔组织甲醛固定,行 HE 染色,在高倍镜下观察嗜酸性粒细胞浸润情况。另一侧的鼻腔组织行鼻相关淋巴组织的分离,分离参考 Asanuma 等^[6-7]的方法,小心取出鼻腔黏膜组织。

1.3.4.2 抗生素处理鼻黏膜 将鼻黏膜组织置入含高浓度抗生素(青霉素 500 IU/ml,链霉素 500 μ g/ml)的 Hanks 液中,在 4 $^{\circ}$ C 下处理 1 h,再用 Hanks 液漂洗 2 次,去除血块。

1.3.4.3 单细胞悬液制备 用眼科剪在 300 目不锈钢筛网上将鼻部组织剪碎,在 2 ml PBS 冲洗下轻轻研磨,将滤液转入盛有 2 ml PRMI1640 培养液 + 4 mg/ml 胶原酶 I 的培养皿中,在 37 $^{\circ}$ C 下孵育、消化 30 min。孵育后,单细胞悬液(含淋巴细胞、粒细胞、单核细胞、上皮细胞、红细胞等)被得到。

1.3.4.4 Ficoll 提取鼻相关淋巴细胞 将悬液中的细胞洗涤 2 次并再次悬浮于 6 ml PRMI1640 培养液中。将单细胞悬液转移到豚鼠淋巴细胞分离液的上层(悬液:分离液 1:1),经室温 2 000 r/min 离心 15 min,提取鼻相关淋巴细胞。将鼻相关淋巴细胞再次悬浮于 2 ml PBS 中,取 10 μ l 混悬液用血球计数池进行细胞计数,结果显示单细胞混悬液中细胞总数约 2×10^6 个。将细胞悬液经 4 $^{\circ}$ C 1 200 r/min 离心 5 min,洗涤 2 次,以去除多余 Ficoll 液。

1.3.4.5 鼻相关淋巴细胞瑞氏-姬姆萨复合染色并行白细胞分类计数 洗涤后,取少许细胞沉渣涂片,经瑞氏-姬姆萨复合染色后,各类细胞呈现不同的着色,易于对白细胞进行分类计数,获得的鼻相关淋巴细胞占细胞总数的 80%左右。

1.3.5 RT-PCR 检测鼻相关淋巴组织中 IL-23 mRNA 的表达 按总 RNA 提取试剂盒(RNA simple Total RNA kit,离心

柱型)说明书的相关步骤提取鼻相关淋巴细胞中总 RNA。保存于 -80°C 冰箱。按照逆转录试剂盒说明书的操作步骤于冰上配置 $20\ \mu\text{l}$ 反应体系,于 PCR 仪行逆转录,其反应条件为: $37^{\circ}\text{C}\ 15\ \text{min} \times 3$ (逆转录反应), $85^{\circ}\text{C}\ 5\ \text{s}$ (逆转录酶的失活时间)。合成的 cDNA 保存于 -20°C 冰箱。预实验示 IL-23(p19, 263 bp) 的退火温度为 57.3°C , β -actin(359 bp)的退火温度为 56.1°C 。以合成的 cDNA 为模板($2\ \mu\text{l}$),用目的基因的上下游引物进行 PCR 反应。PCR 扩增条件为: 95°C 预变性 $4\ \text{min}$,然后 $95^{\circ}\text{C}\ 30\ \text{s}$, $57.3^{\circ}\text{C}\ 30\ \text{s}$, $72^{\circ}\text{C}\ 30\ \text{s}$,共 32 个循环,循环完毕 72°C 延伸 $5\ \text{min}$ 。将 $7\ \mu\text{l}$ PCR 产物置于 2% 琼脂糖凝胶(溴化乙锭染色)上进行电泳,Bio-Rad 凝胶成像系统扫描观察结果,并应用其自带的 Quantity one V 4.4 图像分析软件进行半定量分析。将同时扩增的 β -actin 扩增条带吸光度值设为 1 000,测量出 IL-23 mRNA 的相对吸光度值。

1.4 统计学分析

采用 SAS 9.1 统计软件进行统计学处理。所有数据符合正态分布,以均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,各项指标组间比较均采用两独立样本 t 检验,检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 症状表现和病理结果

对照组仅出现少许喷嚏或不打喷嚏。模型组自第 8 次鼻腔喷滴后开始出现显著地频繁喷嚏,其喷嚏数显著高于对照组。频繁喷嚏在鼻腔喷滴后立即出现,喷滴 10 min 后喷嚏数快速下降或完全消失。并且喷嚏频率随着鼻腔喷滴次数的增加而增加。抓鼻次数的比较与喷嚏的表现相似。模型组鼻黏膜腺体杯状细胞增多,小血管扩张充血,间质明显水肿,有多量嗜酸性粒细胞浸润,其中混有一些淋巴细胞和少许中性粒细胞。对照组罕有嗜酸性粒细胞浸润。

2.2 鼻腔灌洗液 IL-4 和 IL-17 水平

模型组鼻腔灌洗液 IL-4 水平为 $[(31.20 \pm 4.25)\ \text{pg/ml}]$, 比对照组 $[(6.60 \pm 1.36)\ \text{pg/ml}]$ 高, 差异有统计学意义 ($t=17.26, P=0.001$, 图 1A)。而鼻腔灌洗液中 IL-17 的表达水平正好相反, 与对照组 $[(12.68 \pm 3.32)\ \text{pg/ml}]$ 比较, 模型组 IL-17 的表达水平 $[(4.98 \pm 1.54)\ \text{pg/ml}]$ 低, 差异有统计学意义 ($t=10.35, P=0.006$, 图 1B)。

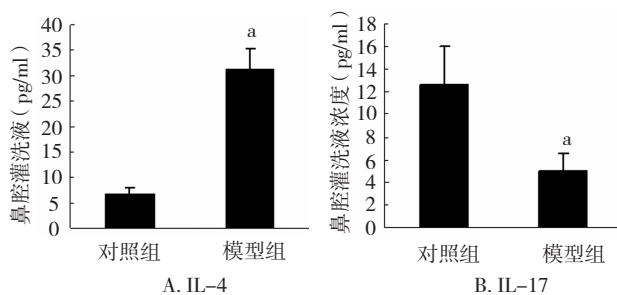


图 1 鼻腔灌洗液 IL-4 和 IL-17 水平

Fig.1 Levels of IL-4 and IL-17 in nasal lavage fluid

2.3 鼻相关淋巴组织中 IL-23 mRNA 的表达情况

模型组、对照组动物鼻相关淋巴组织中 IL-23 mRNA 均有表达,与对照组比较,模型组动物鼻相关淋巴组织中 IL-23 mRNA 的表达水平明显降低,差异有统计学意义 ($t=4.95, P=0.000$, 图 2、图 3)。

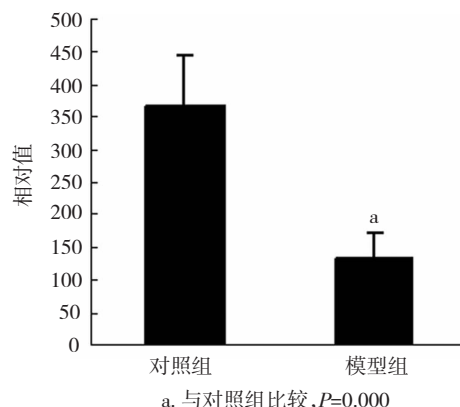


图 2 鼻相关淋巴组织中 IL-23 mRNA 的表达

Fig.2 Level of IL-23 mRNA in nasal-associated lymphoid tissue

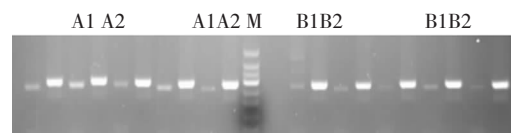


图 3 鼻相关淋巴组织中 IL-23 和 β -actin mRNA 的表达

Fig.3 Level of IL-23 and β -actin mRNA in nasal-associated lymphoid tissue

3 讨论

AR 是最常见的气道慢性炎症性疾病,其发病机制一直以来都是耳鼻咽喉科学的研究热点。本课题组前期以 SEB 作为变应原成功建立 AR 的豚鼠模型,为 AR 发病机制的研究提供有力工具。本研究模型组豚鼠第 8 次鼻腔激发后成功诱导出频繁喷嚏和抓鼻等 AR 典型症状,鼻腔灌洗液中 Th2 细胞因子 IL-4 的高表达,以及鼻腔黏膜病理学检查提示以嗜酸性粒细胞为主的炎症细胞浸润,均证实 AR 豚鼠模型的成功建成。

以往将 AR 的发病简单归因于 Th1/Th2 细胞因子网络失衡,最近一些学者注意到,新识别的 Th17 细胞及其合成的 IL-17 对 Th2 细胞的分化具有调节作用,可能参与了呼吸道变应性疾病的发生。IL-17 (通常指 IL-17A) 主要由外周血 T 细胞 (尤其是 Th17 细胞) 产生,其受体广泛分布于各种细胞。IL-17 的表达受 IL-23 的调节,研究证实,IL-23 促进 Th17

细胞分化成熟后的维持和增殖,并选择性调节 IL-17 的表达^[8-9]。IL-17 的主要生物学功能为:诱导人表皮细胞、内皮细胞和成纤维细胞分泌 IL-6、IL-8 和粒细胞集落刺激因子,促进人成纤维细胞表达细胞间黏附分子-1,从而参与中性粒细胞的增殖、成熟和趋化,对 T 细胞的活化起协调刺激作用,并能促进树突状细胞的成熟^[10]。

IL-17 在上、下呼吸道变应性疾病中的作用以研究哮喘最为深入。一些学者证实,哮喘患者的肺泡灌洗液和痰液中 IL-17 和 IL-17 mRNA 的表达明显高于对照组,且痰液中 IL-17 和 IL-17 mRNA 的水平与中性粒细胞的浸润情况呈明显正相关^[11-12]。后来有学者证实,IL-17 可以通过促进支气管黏膜上皮细胞合成 IL-8,诱导外周血中性粒细胞在下呼吸道浸润^[13]。以上研究均暗示 IL-17 作为一种前炎症细胞因子参与了伴有中性粒细胞浸润的重症哮喘的发生。但也有学者认为,在变应性哮喘早期高表达的 IL-17 不能诱导哮喘的发生,相反通过诱导局部中性粒细胞的浸润,抑制变应原诱导哮喘的发生。这个观点在小鼠的哮喘模型上得到验证。经卵清白蛋白激发的哮喘小鼠应用抗 IL-17 的单克隆抗体,在其迟发相过程中,肺泡灌洗液中出现大量的嗜酸性粒细胞,并伴有 IL-5 水平明显升高^[14]。最近有学者在对哮喘患者的研究中发现,哮喘患者 IL-17 的表达水平与对照组比较无明显差别^[15]。总之,IL-17 可能参与了伴有中性粒细胞浸润的重症哮喘,对于变应性哮喘,IL-17 的作用尚不明确。

与哮喘相比,IL-17 在 AR 中作用的研究较少。2008 年 Ciprandi 等^[16]报道,仅对桦树一种变应原过敏、症状表现为中重度的 AR 患者给予变应原激发后,患者血清中 IL-17 的水平明显高于正常对照组。后来该课题组发现,症状表现为中重度的 AR 患者血清中 IL-17 的水平明显升高^[17]。本课题所得结果与其不相符。本实验发现,在 AR 动物模型中,鼻腔灌洗液中的 IL-17 和鼻相关淋巴组织中 IL-23 mRNA 的表达较正常对照组明显降低,而 IL-4 的表达正好相反,模型组动物鼻腔灌洗液中 IL-4 的水平明显高于对照组。本实验的结果与 Klemens 等^[18]的研究相符。Klemens 等^[18]发现,AR 患者鼻分泌物中 IL-17 的水平明显低于病毒性鼻炎患者。在对 Th17 细胞与 Th1、Th2 细胞的相互关系的研究中发现,在分化初期,干扰素- γ 与 IL-4 可分别抑制初始 CD4⁺ T 细胞向 Th2 细胞和 Th1 细胞的分化,但二者都能

抑制 Th17 细胞的分化;在分化成熟期,Th1 细胞可产生干扰素- γ ,Th2 细胞则产生 IL-4 和 IL-25 来抑制 Th17 细胞的分化发育^[19]。本课题结果与其相一致。由于 IL-17 主要是由 Th17 细胞合成的细胞因子,结合本实验结果推测:变应性鼻炎的发生过程中出现了 Th2 细胞过度极化和 Th2 细胞因子 IL-4、IL-5 等优势表达,这些优势表达的 Th2 细胞因子可能抑制了 Th17 细胞的分化、成熟,从而导致 IL-17 在 AR 中的表达降低。

总之,本实验从动物模型的角度证实 IL-17、IL-23 在 AR 中表达降低,而 Th2 细胞因子 IL-4 的表达水平明显升高。因 IL-17 主要是由 Th17 细胞合成的细胞因子,从而推测在 AR 中可能存在 Th2/Th17 细胞因子网络失衡,这种 Th2/Th17 细胞因子网络失衡可能对变应性炎症的发生起到关键的重要。那么从 IL-17 入手,研究 Th2/Th17 细胞因子网络失衡介导的变态反应性疾病的发生发展规则并对其进行干预从而达到治疗目的,可能为变态反应性疾病的防治找到新的突破口。

参 考 文 献

- [1] Ogasawara H, Asakura K, Saito H, et al. Role of CD4⁺ positive T cells in the pathogenesis of nasal allergy in the murine model [J]. *Int Arch Allergy Immunol*, 1999, 118(1): 37-43.
- [2] 刘虹, 洪苏玲, 杨玉成, 等. 单一屋尘螨特异性免疫治疗变应性鼻炎的免疫机制探讨 [J]. *重庆医科大学学报*, 2009, 34(6): 739-742.
- [3] Nakae S, Komiyama Y, Nambu A, et al. Antigen-specific T cell sensitization is impaired in IL-17-deficient mice causing suppression of allergic cellular and humoral responses [J]. *Immunity*, 2002, 17(3): 375-387.
- [4] Tang X, Sun R, Hong S, et al. Repeated intranasal instillation with staphylococcal enterotoxin B induces nasal allergic inflammation in guinea pigs [J]. *Am J Rhinol Allergy*, 2011, 25(3): 176-181.
- [5] Nabe T, Shimizu K, Mizutani N, et al. A new model of experimental allergic rhinitis using Japanese cedar pollen in guinea pigs [J]. *Jpn J Pharmacol*, 1997, 75(3): 243-251.
- [6] Asanuma H, Inaba Y, Aizawa C, et al. Characterization of mouse nasal lymphocytes isolated by enzymatic extraction with collagenase [J]. *J Immunol Methods*, 1995, 187(1): 41-51.
- [7] Asanuma H, Thompson A H, Iwasaki T, et al. Isolation and characterization of mouse nasal-associated lymphoid tissue [J]. *J Immunol Methods*, 1997, 202(2): 123-131.
- [8] Aggarwal S, Ghilardi N, Xie M H, et al. Interleukin-23 promotes a distinct CD4 T cell activation state characterized by the production of interleukin-17 [J]. *J Biol Chem*, 2003, 278(3): 1910-1914.
- [9] Murphy CA, Langrish CL, Chen Y, et al. Divergent pro- and anti-in-

免疫与感染

DOI: 10.13406/j.cnki.cyx.000171

肝细胞性肝癌合并门静脉癌栓与甲胎蛋白的高危因素分析

邓 新¹, 杜成友², 钟永富¹, 谭德明¹

(1. 重庆三峡中心医院急诊外科, 万州 404000; 2. 重庆医科大学附属第一医院肝胆外科, 重庆 400016)

【摘要】目的:探讨肝细胞性肝癌(hepatic carcinoma, HCC), 以下简称肝癌, 患者发生门静脉癌栓(portal vein tumor thrombus, PVTT)的高危因素。**方法:**通过回顾性分析随机抽取的本科室 2009 年 4 月至 2011 年 4 月收治的 HCC 患者 126 例。分析 PVTT 形成高危因素, 包括甲胎蛋白(alpha-fetoprotein, AFP)值(以 400 ng/ml 为界)、有无 PVTT、HBsAg、肿瘤直径、肿瘤数目、细胞分化程度(Edmondson-Steiner 分级法)、有无脉管浸润以及性别。用卡方检验及非条件 logistic 回归分析。**结果:**126 例为 HCC, 56 例(44.4%)确诊为 HCC 合并 PVTT。脉管浸润、肿瘤直径、高滴度 AFP、肿瘤数目、细胞分化程度为 PVTT 形成的高危因素($\chi^2=20.97, 13.67, 4.73, 5.04$, 均 $P<0.05$)。肿瘤大小、脉管浸润、细胞分化程度与 AFP 有关系($\chi^2=8.121, 4.038$, 均 $P<0.05$)。多因素分析 AFP、脉管浸润是 PVTT 发生的独立危险因素。**结论:**在 HCC 患者中, 高滴度血清 AFP 可成为 HCC 患者发生 PVTT 的一项危险指标, 对早期发现肝癌合并 PVTT 具有临床指导意义。

【关键词】肝细胞性肝癌; 门静脉癌栓; 甲胎蛋白; 危险因素**【中图分类号】**R735.7**【文献标志码】**A**【收稿日期】**2013-03-27

Analysis of high risk factors for hepatocellular carcinoma combined with portal vein tumor thrombus and alpha-fetoprotein

Deng Xin¹, Du Chengyou², Zhong Yongfu¹, Tan Deming¹

(1. Department of Emergency Surgery, Chongqing Three Gorges Center Hospital;

2. Department Hepatobiliary Surgery, The First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University)

【Abstract】Objective: To investigate the risk factors for hepatocellular carcinoma (HCC) combined with portal vein tumor thrombus (PVTT). **Methods:** Retrospective analysis was conducted for 126 HCC patients chosen at random in the department of hepatobiliary

作者介绍: 邓 新, Email: 306539550@qq.com,

研究方向: 肝胆外科学。

通信作者: 杜成友, Email: duchengyou@163.com。

优先出版: <http://www.cnki.net/kcms/doi/10.13406/j.cnki.cyx.000171.html>

surgery in the First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University from April 2009 to April 2011. Alpha-fetoprotein (AFP) level (400 ng/ml is the dividing line), with or without the PVTT, tumor size, cell differentiation grade (Edmondson-Steiner grade),

flammatory roles for IL-23 and IL-12 in joint autoimmune inflammation[J]. J Exp Med, 2003, 198(12): 1951-1957.

[10] Kolls JK, Linden A. Interleukin-17 family members and inflammation[J]. Immunity, 2004, 21(4): 467-476.

[11] Molet S, Hamid Q, Davoine F, et al. IL-17 is increased in asthmatic airways and induces human bronchial fibroblasts to produce cytokines[J]. J Allergy Clin Immunol, 2001, 108(3): 430-438.

[12] 高 惠, 罗征秀, 刘 超, 等. 支气管哮喘患儿诱导痰 IL-17 水平分析[J]. 重庆医科大学学报, 2011, 36(9): 1094-1096.

[13] Laan M, Cui ZH, Hoshino H, et al. Neutrophil recruitment by human IL-17 via C-X-C chemokine release in the airways[J]. J Immunol, 1999, 162(4): 2347-2352.

[14] Schnyder-Candrian S, Togbe D, Couillin I, et al. Interleukin-17 is a negative regulator of established allergic asthma[J]. J Exp Med, 2006, 203(12): 2715-2725.

[15] Lei Z, Liu G, Huang O, et al. SCF and IL-31 rather than IL-17 and BAFF are potential indicators in patients with allergic asthma[J]. Allergy, 2008, 63(3): 327-332.

[16] Ciprandi G, Fenoglio D, De Amici M, et al. Serum IL-17 levels in patients with allergic rhinitis[J]. J Allergy Clin Immunol, 2008, 122(3): 650-651.

[17] Ciprandi G, De Amici M, Murdaca G, et al. Serum interleukin-17 levels are related to clinical severity in allergic rhinitis[J]. Allergy, 2009, 64(9): 1375-1378.

[18] Klemens C, Rasp G, Jund F, et al. Mediators and cytokines in allergic and viral-triggered rhinitis[J]. Allergy Asthma Proc, 2007, 28(4): 434-441.

[19] Bettelli E, Korn T, Kuchroo VK. Th17: the third member of the effector T cell trilogy[J]. Curr Opin Immunol, 2007, 19(6): 652-657.

(责任编辑: 唐秋姗)