

论著 • 临床研究

IL-37b 与 TNF- α 在大肠癌患者中的关系及其临床意义 *

谢英东¹, 侯玉香¹, 高如秀³, 钟沛松⁴, 张俊爱^{2 Δ}

(1. 东莞市大朗医院, 广东东莞 523770; 2. 广东省医学分子诊断重点实验室, 广东东莞 523808;
3. 广东医科大学医学检验学院, 广东东莞 523808; 4. 广东医科大学公共卫生学院, 广东东莞 523808)

摘要: **目的** 通过检测大肠癌患者血浆中白细胞介素(IL)-37b 和肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 的水平, 探讨 IL-37b 与大肠癌的发生、发展的关系。 **方法** 利用酶联免疫吸附试验(ELISA) 对 30 例大肠癌患者和 13 例健康对照者血浆 IL-37b 和 TNF- α 水平进行检测, 并对 15 例术后患者和 10 例放化疗患者血浆进行了治疗后的跟踪检测。 **结果** 大肠癌患者血浆 IL-37b 水平高于健康对照者, 差异有统计学意义($P < 0.05$); 患者血浆 IL-37b 水平与 TNF- α 水平呈负相关关系; 患者癌组织病理分级分组比较显示, 分化低的患者血浆 IL-37b 水平较分化高的患者增高, TNM 分期Ⅳ期高于临床分期Ⅰ期, 差异有统计学意义($P < 0.05$); TNF- α 在肿瘤细胞分化高的患者中水平高于分化低的患者, 临床分期Ⅰ期高于临床分期Ⅳ期, 差异有统计学意义($P < 0.05$); 患者在放化疗前后血浆 IL-37b 与 TNF- α 水平差异无统计学意义($P > 0.05$), 术后患者血浆 IL-37b 水平下降, TNF- α 水平增高。 **结论** IL-37b 在大肠癌患者血浆中水平增高, 并与大肠癌的病理分级及临床分期相关, 与疾病的转归相关; IL-37b 水平与 TNF- α 水平呈负相关关系, IL-37b 可能通过调节 TNF- α 影响大肠癌的发展; IL-37b 可能作为大肠癌的预后的辅助诊断指标。

关键词: 大肠癌; 白细胞介素-37b; 肿瘤坏死因子- α ; 酶联免疫吸附试验

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2019.11.004

中图法分类号: R521, R446.61, R378.91+1, R392.11

文章编号: 1673-4130(2019)11-1298-04

文献标识码: A

The relationship between IL-37b and TNF- α in patients with colorectal cancer and its clinical significance *

XIE Yingdong¹, HOU Yuxiang¹, GAO Ruxiu³, ZHONG Peisong⁴, ZHANG Jun'ai^{2 Δ}

(1. Dalang Hospital of Dongguan, Dongguan, Guangdong 523770, China; 2. Guangdong Provincial Key Laboratory of Medical Molecular Diagnostics, Dongguan, Guangdong 523808, China; 3. Medical Laboratory College of Guangdong Medical University, Dongguan, Guangdong 523808, China; 4. Public Health College of Guangdong Medical University, Dongguan, Guangdong 523808, China)

Abstract: **Objective** To detect the plasma interleukin (IL)-37b and tumor necrosis factor- α (TNF- α) level in patients with colorectal cancer and explore the relationship with the occurrence and development of colorectal cancer. **Methods** Plasma IL-37b and TNF- α level from 30 patients with colorectal cancer and 13 healthy controls were detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), 15 patients after surgical intervention and 10 patients after chemoradiotherapy were followed-up. **Results** The plasma IL-37b level in patients with colorectal cancer was higher than that in controls, and the difference was statistically significant ($P < 0.05$). The plasma IL-37b level was negative correlation with the level of TNF- α inpatients with colorectal cancer. According to the comparisons of histopathological grading and grouping of patients with cancer, the plasma IL-37b level in the patients with low differentiation was significantly higher than that in high differentiation, and the plasma IL-37b level in the patients with the clinical TNM stage Ⅳ was significantly higher than that in the patients with clinical stage Ⅰ, and the difference was statistically significant ($P < 0.05$). The

* 基金项目: 国家自然科学基金面上项目(81570009); 东莞市社会科技发展项目(2015108101029); 广东医科大学面上培育项目(M2015021); 广东医科大学大学生创新实验项目(2016ZYDG002, 2016ZZDC003)。

作者简介: 谢英东, 男, 副主任医师, 主要从事肿瘤免疫研究。 Δ 通信作者, E-mail: zhangjunai@gdmu.edu.cn。

本文引用格式: 谢英东, 侯玉香, 高如秀, 等. IL-37b 与 TNF- α 在大肠癌患者中的关系及其临床意义[J]. 国际检验医学杂志, 2019, 40(11):

plasma TNF- α level in the patients with high differentiation was significantly higher than that in the patients with low differentiation, and plasma TNF- α level in the patients with the clinical stage I was higher than that in the patients with the clinical stage IV, and the difference was statistically significant ($P < 0.05$). There was no difference between plasma IL-37b and TNF- α levels before and after chemoradiotherapy, but plasma IL-37b was significantly decreased and TNF- α levels were significantly increased after operation. **Conclusion** The plasma IL-37b level was increased in patients with colorectal cancer, and was correlated with the pathological grade, clinical stage and prognosis of colorectal cancer. The level of IL-37b is negatively correlated with the level of TNF- α , IL-37b may influence the development of colorectal cancer through regulating the TNF- α and it may be used as an auxiliary diagnostic index for the prognosis of colorectal cancer.

Key words: colorectal cancer; interleukin-37b; tumor necrosis factor- α ; enzyme-linked immunosorbent assay

大肠癌包括结肠癌和直肠癌,其发病率在近几年升高显著,国家肿瘤登记中心(NCCR)2013 年的数据显示,其发病率在我国恶性肿瘤中排名第五。目前大肠癌的治疗方法为外科切除,不能手术者只能选择姑息性的化疗^[1]。因此寻找有效的新的治疗策略极为迫切。随着近来嵌合抗原受体基因修饰 T(CAR-T)细胞治疗技术在血液肿瘤治疗中取得的令人振奋的效果,寻找免疫治疗的靶点成为肿瘤研究的热点。

白细胞介素-37(IL-37)是一种抑炎性细胞因子^[2],IL-37b 为其主要具有功能的亚型,在人外周血及部分组织中均有表达^[3]。目前研究显示,体外 IL-37 可抑制肺癌的侵蚀和转移^[4],抑制肝癌细胞的生长^[2],揭示其在肿瘤中的保护作用^[2]。然而,IL-37 被大多数细胞和肿瘤细胞表达,且具有广泛的抑制免疫反应的作用,在肿瘤患者体内的主要作用目前尚不清楚^[2]。另外机体的免疫监视作用对于组织微环境的平衡起到极其重要的调节作用,而微循环的免疫监视作用的失败对肿瘤的发生及其治疗均具有重要的作用^[5]。笔者通过对大肠癌患者血浆 IL-37b 和肿瘤坏死因子- α (TNF- α)进行了检测,探讨 IL-37b 与大肠癌的关系,分析与 TNF- α 的相关性,初步探讨 IL-37b 在大肠癌中的可能机制。

1 资料与方法

1.1 一般资料 研究对象选取了 30 例大肠癌患者,13 例健康对照者,均来自于东莞市大朗医院,其中大肠癌患者均通过结肠镜组织活检或手术切除肠癌组织病理检查确诊,男 17 例,女 13 例,平均年龄为(61.41 $\pm$ 9.16)岁,其中 10 例患者做了术前的放化疗治疗,并选取了 15 例术后 1 周的患者样本;按照临床 TNM 分期:Ⅰ期($n=8$)、Ⅱ期($n=7$)、Ⅲ期($n=8$)、Ⅳ期($n=7$);按照病理分化等级分为:低分化($n=10$)、中分化($n=12$)、高分化($n=8$)。健康志愿者样本均来自于体检者样本,血常规无异常,肝肾功能无异常,腹部 B 超检测未见异常,男 6 例,女 7 例,平均年龄为

(57.08 $\pm$ 8.04)岁,两组性别比例及年龄差异无统计学意义($P > 0.05$),具有可比性。该研究得到大朗医院道德伦理委员会的批准,并征得研究对象的知情同意。

1.2 试剂及仪器 主要试剂:检测人 IL-37b 蛋白的 ELISA 试剂盒(MyBioSource,货号:MBS2516030);检测人 TNF- α 蛋白的 ELISA 试剂盒(DAKEWE,货号:DKW12-1720-096)。主要检测仪器:多功能全波段酶标仪(TECAN)。

1.3 方法

1.3.1 样本的收集及处理 收集患者及健康对照者血浆样本,患者样本由东莞市大朗医院消化科医生协助收集,均为早餐空腹抗凝外周静脉血,样本于 6 h 内送至实验室进行离心(3 000 r/min,5 min),留取上清血浆,于-80℃低温冰箱保存备用。健康对照者均来自于大朗医院体检中心,处理方法同上。

1.3.2 酶联免疫吸附试验(ELISA)检测 IL-37b 和 TNF- α 的血浆水平 取以上样品,常温解冻,混匀后,离心(3 000 r/min,5 min),取上清,加入 100 μ L 样品至 96 孔反应板中孵育,具体方法按照试剂盒操作步骤进行,终止液终止后上机检测反应孔中的吸光值(OD 值),根据标准品浓度做标准曲线,计算样品的浓度。

1.4 统计学处理 采用统计学软件 SPSS16.0 进行统计分析。两组间数据比较用 t 检验或配对 t 检验;相关性分析用 Spearman 统计分析;采用 GraphPad Prism 7.0 软件作图; $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 大肠癌患者血浆 IL-37b 水平变化情况及与血浆 TNF- α 水平的相关性 笔者同时利用 ELISA 检测了大肠癌患者($n=30$)及健康对照者($n=13$)血浆中的 IL-37b 和 TNF- α 水平,发现大肠癌患者血浆 IL-37b 水平显著高于健康对照者血浆 IL-37b 水平,差异有统计学意义($P < 0.05$);TNF- α 水平在两组间差异无统

计学意义($P>0.05$);同时笔者分析了患者中 IL-37b 水平与 TNF- α 的水平的相关性,结果显示两者呈负相关关系,差异有统计学意义($r=-0.6509, P=0.0019$),见表 1。

表 1 患者与健康对照者血浆 IL-37b 和 TNF- α 水平比较及相关性($\bar{x}\pm s$)

	大肠癌患者 ($n=30$)	健康对照者 ($n=13$)	P
IL-37b(pg/mL)	10.32 $\pm$ 8.38	3.51 $\pm$ 2.82	<0.05
TNF- α (pg/mL)	5.77 $\pm$ 2.53	5.80 $\pm$ 1.56	>0.05
r	-0.6509		0.0019

2.2 不同病理分级及临床分期中大肠癌患者血浆 IL-37b 和 TNF- α 的水平差异 结果显示,分化低的患者血浆 IL-37b 的水平显著高于中分化患者和分化高的患者,差异有统计学意义($P<0.05$);临床分期 I 期的患者血浆 IL-37b 的水平显著低于临床分期 IV 期的患者,差异有统计学意义($P<0.05$);有趣的是,低分化的患者血浆 TNF- α 水平明显低于高分化者,差异有统计学意义($P<0.05$);临床分期 II 期的患者血浆 TNF- α 水平明显高于临床分期 IV 期的患者,差异有统计学意义($P<0.05$)。结果见表 2。

表 2 不同病理分级及临床分期中大肠癌患者血浆 IL-37b 和 TNF- α 的水平差异($\bar{x}\pm s$)

患者临床分型	n	IL-37b(pg/mL)	TNF- α (pg/mL)
低分化	10	16.91 $\pm$ 7.88	2.80 $\pm$ 1.43
中分化	11	9.40 $\pm$ 7.33	5.76 $\pm$ 1.87
高分化	9	4.13 $\pm$ 4.35	6.51 $\pm$ 2.33
I 期	9	2.78 $\pm$ 2.08	7.05 $\pm$ 5.94
II 期	6	9.94 $\pm$ 8.39	5.90 $\pm$ 1.12
III 期	8	12.53 $\pm$ 9.01	13.13 $\pm$ 16.82
IV 期	7	18.89 $\pm$ 7.91	2.46 $\pm$ 1.54

表 3 治疗前后患者血浆 IL-37b 和 TNF- α 的水平比较($\bar{x}\pm s$)

治疗	n	IL-37b(pg/mL)	TNF- α (pg/mL)
术前	15	8.40 $\pm$ 5.43	5.99 $\pm$ 2.84
术后	15	4.37 $\pm$ 2.19	8.13 $\pm$ 3.48
放化疗前	24	11.67 $\pm$ 10.53	6.46 $\pm$ 7.33
放化疗后	6	10.74 $\pm$ 4.55	14.01 $\pm$ 17.20

2.3 放化疗及手术治疗对大肠癌患者血浆 IL-37b 和 TNF- α 水平的影响 结果显示,术后患者血浆 IL-37b 的水平[(4.37 $\pm$ 2.19)pg/mL]较术前[(8.40 $\pm$ 5.43)pg/mL]明显下降,差异有统计学意义($P<$

0.05),TNF- α 水平术后同时也增高,差异有统计学意义,但是其增高的丰度远没有 IL-37b 增高的丰度。而放化疗对两者的水平无影响,差异无统计学意义($P>0.05$),结果见表 3。

3 讨 论

IL-37 是一种抑炎细胞因子,在人免疫细胞中主要由固有免疫细胞产生^[6],而单核细胞和树突状细胞是人免疫细胞中 IL-37 的主要来源^[7],其对固有免疫反应发挥抑制作用^[6];在组织细胞中也有 IL-37 的表达,如肺癌细胞,IL-37 可在体外抑制肺癌细胞的侵袭与转移^[4],而 IL-37 在肝癌患者肿瘤组织中表达下调,并在体外可抑制肝癌细胞的生长,同时 IL-37 可诱导肝癌细胞的自噬和凋亡^[2]。大肠癌中 IL-37 的表达情况目前鲜有报道。有研究显示,肠上皮细胞表达 IL-37,IL-37 的表达可抑制趋化因子的分泌,从而促使免疫细胞向肠黏膜区域募集减少^[2],同时肠黏膜中的肥大细胞也可分泌 IL-37 并在黏膜免疫中发挥抑制作用^[2]。而肿瘤区域中的免疫监视作用尤为重要,特别是特异性免疫的活化和增殖以及募集到肿瘤区域中是肿瘤细胞能否被清除的关键^[8]。另外,已在其他疾病中发现 IL-37 对机体免疫功能的负向调控作用,如 IL-37 可通过抑制巨噬细胞的功能减弱机体对李斯特菌感染的宿主抵抗^[9];IL-37 可通过诱导 DC 细胞的耐受抑制抗原特异的适应性免疫功能^[2]。因此,虽然在体外显示了 IL-37 具有明显的抗肿瘤作用,但是鉴于在体内免疫系统特别是对肠黏膜免疫的影响,IL-37 在大肠癌发生、发展中的作用还有待阐明。本研究结果显示,患者血浆中 IL-37b 水平增高,其增高主要来源于哪些细胞,在本研究中并未明确,推测其来源可能是外周血中的免疫细胞,同时也可能是来源于肿瘤组织细胞。IL-37b 可直接作用于肿瘤细胞,同时也可能间接通过调节机体免疫功能,影响固有免疫和适应性免疫,从而改变肿瘤组织区域的免疫监视作用影响肿瘤的发生、发展。已有研究显示,IL-37 可通过胞外的形式抑制免疫反应,特别是抑制固有免疫反应^[2]。本研究结果显示,IL-37b 与 TNF- α 的水平呈负相关关系,TNF- α 是一种抗肿瘤因子,而已有报道显示在人 IL-37 转基因小鼠中,TNF- α 的水平是降低的^[10],证实了 IL-37 可调控 TNF- α 的分泌。因此在大肠癌患者中 IL-37b 可能是有利于肿瘤生长的细胞因子。同时笔者在不同临床分组及不同病理分级的患者中发现,当患者分化程度越低,临床 TNM 分期越高,IL-37b 水平越高,相似地也有研究者发现在肺癌患者血浆 IL-37 的水平与肿瘤的发展阶段具有相关性^[4],提示 IL-37b 与肿瘤的发生、发展具有密切相关。手术治疗后 IL-37b 水平下降,提示 IL-37b 可能与大肠癌的

预后具有密切关系,因此,大肠癌患者血浆 IL-37b 水平增高,可作为大肠癌治疗或者预后的检测指标。

4 结 论

大肠癌患者血浆 IL-37b 水平升高,其与大肠癌的发生发展密切相关,IL-37b 产生过多可能是肿瘤细胞逃逸机体免疫监视的机制之一,而检测患者血浆 IL-37b 的水平有可能成为大肠癌预后病情判定的指标。同时研究结果显示了 IL-37b 与 TNF- α 的相关性,提示 IL-37b 调控肿瘤生长的可能机制。

参考文献

- [1] CHEN W Q, ZHENG R S, ZENG H M, et al. The updated incidences and mortalities of major cancers in China, 2011[J]. Chin J Cancer, 2015, 34(3): 502-507.
- [2] 李奕, 郇升. 大肠癌肝转移治疗进展[J/CD]. 中华结直肠疾病电子杂志, 2017, 6(3): 238-242.
- [3] SMITH D E, RENSHAW B R, KETCHEM R R, et al. Four new members expand the interleukin-1 superfamily[J]. J Biol Chem, 2000, 275(2): 1169-1175.
- [4] QUIRK S, AGRAWAL D K. Immunobiology of IL-37: mechanism of action and clinical perspectives[J]. Expert Rev Clin Immunol, 2014, 10(12): 1703-1709.
- [5] JIANG M F, WANG Y, ZHANG H, et al. IL-37 inhibits invasion and metastasis in non-small cell lung cancer by suppressing the IL-6/STAT3 signaling pathway[J]. Thoracic Cancer, 2018, 9(5): 621-629.
- [6] LIU R, TANG C, SHEN A, et al. IL-37 suppresses hepatocellular carcinoma growth by converting pSmad3 signaling from JNK/pSmad3L/c-Myc oncogenic signaling to pSmad3C/P21 tumor-suppressive signaling[J]. Oncotarget, 2016, 7(51): 85079-85096.
- [7] ABULKHIR A, SAMARANI S, AMRE D, et al. A protective role of IL-37 in cancer: a new hope for cancer patients[J]. J Leukoc Biol, 2017, 101(2): 395-406.
- [8] CARINCI F, LESSIANI G, SPINAS E, et al. Mast cell and cancer with special emphasis on il-37 an anti-inflammatory and inhibitor of innate immunity: new frontiers[J]. J Biol Regul Homeost Agents, 2016, 30(4): 945-950.
- [9] SENOVILLA L, GALLUZZI L, ZITVOGEL L A. Immunosurveillance as a regulator of tissue homeostasis[J]. Trends Immunol, 2013, 34(10): 471-481.
- [10] CAVALLI G, DINARELLO C A. Suppression of inflam-

mation and acquired immunity by IL-37[J]. Immunol Rev, 2018, 281(1): 179-190.

- [11] RUDLOFF I, CHO S X, LAO J C, et al. Monocytes and dendritic cells are the primary sources of interleukin 37 in human immune cells[J]. J Leukoc Biol, 2017, 101(4): 901-911.
- [12] LI T T, ZHU D, MOU T, et al. IL-37 induces autophagy in hepatocellular carcinoma cells by inhibiting the PI3K/AKT/mTOR pathway[J]. Mol Immunol, 2017, 87: 132-140.
- [13] GUNALTAY S, GHIPOUB M, HULTGREN O, et al. Reduced IL-37 production increases spontaneous chemokine expressions in colon epithelial cells[J]. Dig Dis Sci, 2017, 62(5): 1204-1215.
- [14] CONTI P, CARAFFA A, RONCONI G, et al. Impact of mast cells in mucosal immunity of intestinal inflammation: Inhibitory effect of IL-37[J]. Eur J Pharmacol, 2018, 818(4): 294-299.
- [15] BERRAONDO P, TEIJEIRA A, MELERO I. Cancer immunosurveillance caught in the act[J]. Immunity, 2016, 44(3): 525-526.
- [16] ZHAO M M, HU Y G, SHOU J J, et al. IL-37 impairs host resistance to Listeria infection by suppressing macrophage function[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2017, 485(2): 563-568.
- [17] LUO Y C, CAI X N, LIU S C, et al. Suppression of antigen-specific adaptive immunity by IL-37 via induction of tolerogenic dendritic cells[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2014, 111(42): 15178-15183.
- [18] ZHANG J A, LIU G B, ZHENG B Y, et al. Tuberculosis-sensitized monocytes sustain immune response of interleukin-37[J]. Mol Immunol, 2016, 79(9): 14-21.
- [19] ZHU R R, SUN H T, YU K W, et al. Interleukin-37 and dendritic cells treated with interleukin-37 plus troponin I ameliorate cardiac remodeling after myocardial infarction[J]. J Am Heart Assoc, 2016, 5(12): e004406.
- [20] SCHAUER A E, KLASSERT T E, VON LACHNER C A, et al. IL-37 causes excessive inflammation and tissue damage on murine pneumococcal pneumonia[J]. J Innate Immun, 2017, 9(4): 403-418.

(收稿日期: 2018-11-02 修回日期: 2019-02-10)