

· 论 著 ·

分析血清 IL-34 水平与幽门螺杆菌感染相关性胃疾病的关系*

周红菊, 杨 扬, 向 瑜[△]

(重庆医科大学附属第一医院检验科, 重庆 400016)

摘 要:目的 检测胃癌、慢性胃炎患者血清中白细胞介素-34(IL-34)水平,探讨 IL-34 在幽门螺杆菌感染相关性胃疾病中的表达情况,以确定 IL-34 能否作为幽门螺杆菌感染相关性胃疾病的血清学标志物。方法 从 270 例患有胃部疾病的住院患者中筛选出 39 例胃癌患者和 21 例慢性胃炎患者,采用酶联免疫吸附试验测定患者血清中 IL-34 水平,比较胃癌组、慢性胃炎组与 40 例体检健康者 IL-34 水平的表达差异。应用幽门螺杆菌抗体检测试剂盒检测上述患者和健康对照者幽门螺杆菌的感染情况。分析胃癌组和慢性胃炎组中 IL-34 与甲胎蛋白(AFP)、癌胚抗原(CEA)、糖类抗原 19-9(CA19-9)的相关性。结果 胃癌组 IL-34 的表达水平为 6.57 (3.86~9.71)pg/mL,慢性胃炎组 IL-34 的表达水平为 12.71(2.89~19.42)pg/mL,与健康对照组比较,血清 IL-34 水平均升高,差异具有统计学意义($U=465, P<0.01$; $U=203, P<0.01$)。39 例胃癌患者中,幽门螺杆菌阳性 12 例(30.77%),21 例慢性胃炎组中,幽门螺杆菌阳性 5 例(20.81%)。在胃癌患者中,幽门螺杆菌阴性组 IL-34 的表达水平为 7.29(5.07~9.71) pg/mL,与健康对照组比较,有所升高,差异具有统计学意义($U=294, P<0.01$)。在慢性胃炎患者中,幽门螺杆菌阴性组 IL-34 的表达水平为 13.60(2.80~19.41) pg/mL,与健康对照组比较,有所升高,差异具有统计学意义($U=157, P<0.05$)。结论 血清 IL-34 水平在胃癌、慢性胃炎中表达增高,可以作为幽门螺杆菌感染阴性的胃癌、慢性胃炎的血清学标志物。

关键词:白细胞介素-34; 胃癌; 慢性胃炎; 幽门螺杆菌

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2020.11.013

中图法分类号:R573

文章编号:1673-4130(2020)11-1333-04

文献标识码:A

Analysis of the relationship between serum IL-34 level and Helicobacter pylori related gastric diseases*

ZHOU Hongju, YANG Yang, XIANG Yu[△]

(Department of Clinical Laboratory, the First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China)

Abstract: Objective To detect the level of interleukin-34 (IL-34) in the serum of patients with gastric cancer and chronic gastritis, and to explore the expression of IL-34 in Helicobacter pylori infection related gastric diseases, so as to determine whether IL-34 can be used as a serological marker of Helicobacter pylori infection related gastric diseases. **Methods** A total of 39 patients with gastric cancer and 21 patients with chronic gastritis were selected from 270 patients with gastric diseases. The level of IL-34 in serum of patients was measured by enzyme-linked immunosorbent assay, and the expression difference of IL-34 in gastric cancer group, chronic gastritis group and healthy control group was compared. Helicobacter pylori antibody detection kit was used to detect the infection of Helicobacter pylori in the above patients and healthy controls. The correlation between IL-34 and alpha-fetoprotein (AFP), carcinoembryonic antigen (CEA), and glycoprotein antigen (CA19-9) in gastric cancer group and chronic gastritis group was analyzed. **Results** The expression level of IL-34 in gastric cancer group was 6.57 (3.86—9.71) pg/mL, and the expression level of IL-34 in chronic gastritis group was 12.71 (2.89—19.42) pg/mL. Compared with healthy control group, the IL-34 level increased, and the difference was statistically significant ($U=465, P<0.01$; $U=203, P<0.01$). Of the 39 patients with gastric cancer, 12 were positive for Helicobacter pylori infection (positive rate was 30.77%), and 5 were positive for Helicobacter pylori infection in 21 chronic gastritis groups (positive rate was 20.81%). In gastric cancer patients, the expression level of IL-34 in the Helicobacter pylori infection group was 7.29

* 基金项目:重庆市科学技术委员会基础研究与前沿探索基金项目(cstc2018jcyjAX0748)。

作者简介:周红菊,女,技师,主要从事分子生物学方面的研究。 [△] 通信作者, E-mail:8051226@163.com。

本文引用格式:周红菊,杨扬,向瑜.分析血清 IL-34 水平与幽门螺杆菌感染相关性胃疾病的关系[J].国际检验医学杂志,2020,41(11):

(5.07—9.71) pg/mL, which was increased compared with the healthy control group, and the difference was statistically significant ($U=294, P<0.01$). In patients with chronic gastritis, the expression level of IL-34 in the *Helicobacter pylori* negative group was 13.60 (2.80—19.41) pg/mL, which was increased compared with the healthy control group, and the difference was statistically significant ($U=157, P<0.05$). **Conclusion** The expression of IL-34 is increased in gastric cancer and chronic gastritis, which can be used as a serological marker of gastric cancer and chronic gastritis.

Key words: interleukin-34; gastric cancer; chronic gastritis; *helicobacter pylori*

慢性胃炎是指由不同病因所引起的发生在胃黏膜上的慢性炎症性病变,若治疗不及时,可导致胃黏膜的肠上皮化生、萎缩、异型增生和癌变,发展成为胃溃疡甚至是胃癌。全球有超过一半的人曾患有慢性胃炎^[1]。据全球癌症最新数据统计,恶性肿瘤发病率中胃癌高居第 5 位,其病死率居恶性肿瘤病死率第 3 位^[2]。慢性胃炎和胃癌作为严重影响人类健康的疾病越来越受到关注。幽门螺杆菌(HP)是引起人类慢性活动性胃炎、消化性溃疡的重要致病因素,是世界上感染率极高的一种病原菌。HP 感染后,浸润到胃黏膜上的中性粒细胞、单核细胞产生炎症细胞因子,如白细胞介素-1(IL-1)、肿瘤坏死因子 α (TNF- α)等,是造成胃黏膜损伤的重要因素^[3-4]。IL-34 作为一个新的细胞因子,在免疫和炎症反应中发挥重要作用,参与多种疾病的发生、发展和预后。目前尚无文献报道 IL-34 在胃疾病中的水平变化,以及是否在 HP 感染进程中发挥作用。本研究旨在探讨 IL-34 在幽门螺杆菌相关性胃疾病中的表达情况,以确定 IL-34 能否作为 HP 感染相关性胃疾病的血清学标志物。

1 资料与方法

1.1 一般资料 纳入 2018 年 10 月至 2019 年 5 月重庆医科大学附属第一医院(下称本院)新入院的患有胃部疾病的患者共 270 例,在经过分析筛选后共收集胃癌 39 例,慢性胃炎 21 例,所有胃癌、慢性胃炎患者均符合以下条件:(1)胃镜和组织病理学确诊为慢性胃炎或者胃癌;(2)排除合并有自身免疫性疾病、感染、其他肿瘤等疾病的病例;(3)排除纳入研究前已经进行过胃癌根治术或者放化疗的病例;(4)排除就诊前 4 周出现过急性感染或者重大刺激的病例。40 例健康对照者来自同时期本院体检中心的健康人群。本研究经本院伦理委员会论证通过,患者或家属签署知情同意后实施。

1.2 方法

1.2.1 血清 IL-34 水平检测 所有待检查的患者抽取静脉血 4 mL,离心后留取血清,标本置于 -80°C 保存待检。应用双抗体夹心酶联免疫吸附试验试剂盒(R&D Systems, USA)检测血清 IL-34 水平,操作条件和步骤严格按照说明书进行:(1)准备试剂、标准品、样品,取出反应条;(2)每孔加 100 μL 稀释剂 RD1-77;(3)每孔加 50 μL 样品或者标准品,震荡混匀,室温下孵育 2 h;(4)每孔加 400 μL 洗液,清洗

4 次;(5)加 200 μL 酶结合物,震荡混匀,室温下孵育 2 h;(6)重复第 4 步;(7)加 200 μL 底物混合物,避光放置 30 min;(8)加 50 μL 终止液, Tecan 酶标仪(Tecan 奥地利有限公司)比色(测定波长 450 nm,参比波长 620 nm);(9)通过标准曲线计算得出患者血清 IL-34 水平。

1.2.2 HP 感染检测 采用幽门螺杆菌检测试剂盒(胶体金法,北京康美天鸿生物科技有限公司),定性检测患者和健康对照者血清中幽门螺杆菌抗体存在的情况,以明确区分住院患者是否感染了幽门螺杆菌。操作严格按照说明书进行:(1)待试剂盒复温后取出测试板;(2)在测试板样品孔中加 4 滴血清;(3)15~20 min 内观察结果;(4)对照线和测试线都出现红色判定为阳性,即患者血清中存在幽门螺杆菌抗体,判断患者幽门螺杆菌感染阳性。

1.2.3 肿瘤标志物检测 采用双抗体夹心电化学发光技术,运用 Cobas 8000 e602 全自动电化学发光分析仪对胃癌患者和慢性胃炎患者血清中肿瘤标志物甲胎蛋白(AFP)、癌胚抗原(CEA)、糖类抗原 19-9(CA19-9)进行定量检测,参考区间:AFP:0.6~5.0 ng/mL、CEA:0.2~10.0 ng/mL、CA19-9:0~27.0 U/mL。操作条件和步骤严格按照仪器说明书进行。

1.3 统计学处理 所有数据资料采用 SPSS20.0 软件进行统计分析。计量资料数据不符合正态分布,结果以中位数(四分位数)[$M(P_{25} \sim P_{75})$]进行统计学描述,组间比较采用曼-惠特尼 U 检验(Mann-Whitney U test),相关性分析采用 Spearman 秩相关分析,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般临床特征描述 39 例胃癌患者、21 例慢性胃炎患者和 40 例健康对照者的一般临床特征描述见表 1。在 39 例胃癌患者中,幽门螺杆菌感染阳性的患者 12 例(30.77%),幽门螺杆菌阴性的患者 27 例。21 例慢性胃炎组中,幽门螺杆菌感染阳性的患者 5 例(20.81%),幽门螺杆菌阴性患者 16 例。40 例健康对照者幽门螺杆菌检测均为阴性。

2.2 胃癌、慢性胃炎组对照组血清 IL-34 表达水平比较 胃癌组 IL-34 的表达水平为 6.57(3.86~9.71) pg/mL,与健康对照组比较,明显升高,差异具有统计学意义($U=465, P<0.01$)。慢性胃炎组 IL-34 的表达水平为 12.71(2.89~19.42) pg/mL,与健康对照组

比较,彩虹显升高,差异具有统计学意义($U=203$, $P<0.01$)。胃癌组和慢性胃炎组比较,IL-34 表达水平差异无统计学意义($P>0.05$)。见表 2。

表 1 胃癌、胃炎患者与健康对照组一般临床资料比较

项目	年龄(岁)	性别[n(%)]		HP 感染[n(%)]		IL-34(pg/mL)	AFP(ng/mL)	CEA(ng/mL)	CA19-9(U/mL)
		男	女	阳性	阴性				
胃癌组	57(52~65)	25(64.10)	14(35.90)	12(30.77)	27(69.23)	6.57(3.86~9.71)	3.20(2.30~3.90)	2.40(1.40~5.20)	10.73(5.10~35.40)
慢性胃炎组	54(45~66)	10(47.60)	11(52.40)	5(20.81)	16(79.19)	12.71(2.89~19.42)	2.40(1.03~3.30)	1.46(1.18~2.70)	10.90(7.4~21.35)
对照组	33(29~38)	21(52.50)	19(47.50)	0(0.00)	40(100.00)	3.07(0.00~6.64)	—	—	—

注:—表示无数据。

表 2 胃癌、慢性胃炎和健康组 IL-34 表达水平比较[M($P_{25} \sim P_{75}$)]

组别	n	IL-34	U 检验(U/P)
胃癌组	39	6.57(3.86~9.71)	465/0.002
慢性胃炎组	21	12.71(2.89~19.42)	203/0.001
对照组	40	3.07(0.00~6.64)	—

注:—表示无数据。

2.3 胃癌、慢性胃炎组 IL-34 表达的水平比较 在 39 例胃癌患者中,HP 阴性组 IL-34 的表达水平为 7.29(5.07~9.71) pg/mL,与健康对照组比较,明显升高,差异具有统计学意义($U=294$, $P<0.01$)。在慢性胃炎患者中,HP 阴性组 IL-34 的表达水平为 13.60(2.80~19.41) pg/mL,与健康对照组比较,明显升高,差异具有统计学意义($U=157$, $P<0.05$)。胃癌和慢性胃炎患者中 HP 阳性组 IL-34 的水平分别与健康对照组比较,差异均无统计学意义($P>0.05$)。见表 3。

表 3 胃癌、慢性胃炎组 IL-34 表达水平比较[M($P_{25} \sim P_{75}$)]

组别	HP(+)	HP(—)
胃癌组	4.69(1.73~10.54)	7.29(5.07~9.71)
慢性胃炎组	11.29(2.72~16.10)	13.60(2.80~19.41)

2.4 肿瘤标志物 AFP、CEA、CA19-9 在胃癌和慢性胃炎组中的水平比较 AFP 在胃癌组的表达水平为 3.20(2.30~3.90)ng/mL,在慢性胃炎组的表达水平为 2.40(1.02~3.30)ng/mL,二者比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。CEA 在胃癌组的表达水平为 2.40(1.40~5.20)ng/mL,在慢性胃炎组的表达水平为 1.46(1.18~2.70)ng/mL,二者比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。CA19-9 在胃癌组的表达水平为 10.73(5.10~35.40)U/mL,在慢性胃炎组的表达水平为 10.90(7.40~21.35)U/mL,二者比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。见表 4。

表 4 AFP、CEA、CA19-9 在胃癌、慢性胃炎组中的水平比较[M($P_{25} \sim P_{75}$)]

项目	AFP(ng/mL)	CEA(ng/mL)	CA19-9(U/mL)
胃癌组	3.20(2.30~3.90)	2.40(1.40~5.20)	10.73(5.10~35.40)
慢性胃炎组	2.40(1.02~3.30)	1.46(1.18~2.70)	10.90(7.40~21.35)

2.5 胃癌、慢性胃炎组血清 IL-34 与肿瘤标志物 AFP、CEA、CA19-9 的相关性分析 由 Spearman 秩相关分析可知,21 例慢性胃炎患者中 IL-34 和肿瘤标志物 AFP($r=0.124$, $P=0.594$)、CEA($r=0.235$, $P=0.306$)、CA19-9($r=0.014$, $P=0.953$)均无相关性。39 例胃癌患者中 IL-34 和肿瘤标志物 AFP($r=-0.069$, $P=0.678$)、CEA($r=-0.166$, $P=0.312$)、CA19-9($r=0.069$, $P=0.678$)均无相关性。

3 讨论

慢性胃炎是发生在胃黏膜上的慢性炎性病变,其发病率在各种胃病中居首位。目前,慢性胃炎仍然是最常见的感染性疾病之一,因其可发展成为胃溃疡或者胃癌,仍受到研究者们的关注。胃癌是起源于胃黏膜上皮细胞恶性增殖所致的肿瘤,在我国各种恶性肿瘤中发病率居前列。据全球癌症最新数据统计,恶性肿瘤发病率中胃癌高居第 5 位,其病死率居恶性肿瘤病死率第 3 位,而且胃癌患者 5 年内的生存率低于 30.00%^[5-7]。随着诊断技术的不断进步,胃疾病的诊断也变得越来越精确。胃镜检查可对胃内的病变和情况做初步的判断,病理学的检查可用于确诊胃内的恶性病变,但二者均具有滞后性,无法及时发现早期胃部恶性病变的患者。而胃疾病,尤其是胃癌,其疗效的好坏以及远期生存率的高低主要取决于发现时所处的疾病病程。在这种情况下,可用于早期辅助诊断胃癌诊断的生物学标志物就具有非常重要意义。目前在研究的人类表皮生长因子受体 2、上皮钙黏素、肝细胞生长因子受体、微 RNA 均为热门胃癌生物学标志物^[7-10]。本研究也旨在发现可用于早期辅助诊断胃癌的生物学标志物。

幽门螺杆菌是由 WARREN 和 MARSHALL 于 1983 年从慢性胃炎和消化性溃疡患者胃黏膜中分离出来的一种弯曲样杆菌,是慢性胃炎和消化性溃疡的主要病因,超过 80.00% 的携带者并不会出现症状。HP 在胃部的存活和繁殖依靠多种病理因子,如 VacA、NapA、CGT、GGT 等,同时可以操控多种细胞外免疫受体,如 integrin-β₂(CD18)、EGFR、CD74 等,引发胃部的进一步病变^[11]。IL-34 是于 2008 年新发现的细胞因子,主要表达于人体的巨噬细胞、成纤维细胞、小神经胶质细胞和 M-CSF 共同作为 CSF-1 的配

体。据研究发现,IL-34 参与单核巨噬细胞的存活和分化,后者能产生多种细胞因子如 IL-6、TNF 等。已有研究报道血清 IL-34 能预测非病毒性肝癌的生存率^[12],IL-34mRNA 在不同乳腺癌型别中表达有差异^[13],但 IL-34 与 HP 相关性胃疾病的关系尚少有无相关报道。

本研究发现,胃癌组 IL-34 的表达水平为 6.57 (3.86~9.71) pg/mL,慢性胃炎组 IL-34 的表达水平为 12.71(2.89~19.42) pg/mL,与健康对照组比较,血清 IL-34 水平均升高,差异均有统计学意义($U=465, P<0.01$; $U=203, P<0.01$)。有文献报道,IL-34 在应激细胞中的 mRNA 和蛋白水平上调,这种诱导主要受 NF- κ B 调节^[14]。NF- κ B 是一组转录因子(RelA、RelB、c-Rel、NF- κ B1、NF- κ B2)的集合,可调节一大类靶基因如免疫相关受体、细胞因子、促炎因子等的表达。胃部炎症会引起巨噬细胞、中性粒细胞、淋巴细胞等的浸润,同时分泌一些促炎因子,如 IL-6、IL-10、IL-11、IL-32 等。高水平的促炎因子会刺激细胞内激酶的磷酸化,诱导转录因子如 NF- κ B、AP-1 等表达,因此 IL-34 在胃癌和慢性胃炎中水平升高,尤其在慢性胃炎中升高更为明显。

在胃癌患者中,HP 阴性组 IL-34 的表达水平为 7.29(5.07~9.71) pg/mL 与健康对照组比较,明显升高,差异具有统计学意义($U=294, P<0.01$)。在慢性胃炎患者中,HP 阴性组 IL-34 的表达水平为 13.60(2.80~19.41) pg/mL,与健康对照组比较,明显升高,差异具有统计学意义($U=157, P<0.05$)。胃癌和慢性胃炎患者中 HP 阳性组 IL-34 的水平分别与健康对照组比较,差异均无统计学意义($P>0.05$)。这说明 IL-34 在幽门螺杆菌阴性的胃癌和慢性胃炎患者体内表达更为活跃。有文献报道,HP 分为 I 型和 II 型,前者与后者相比可产生细胞毒素,毒性比较强。I 型 HP 菌株携带有约 40 kb 的特殊基因片段,即 cag 致病岛(cagPAI),只存在于致病力强的菌株上。而 HP 携带 cagPAI 的菌株比 cagPAI 阴性的菌株具有更强激活 NF- κ B 途径的能力,因此,cagPAI 也被确认为 NF- κ B 的重要诱导因子^[15]。本研究中并未对幽门螺旋杆菌阳性的患者进行 cagPAI 的检测,就无法确认研究中所检测到的慢性胃炎和胃癌患者中感染的 HP 菌株是否携带 cagPAI。根据本研究结果推测,纳入实验的胃癌和慢性胃炎的患者可能感染的是 cagPAI 阴性的 HP 菌株,导致其无法激活 NF- κ B 通道,进而影响 IL-34 的表达水平。

4 结 论

因此,血清 IL-34 可以作为幽门螺杆菌感染阴性的胃癌、慢性胃炎的血清学标志物。

参考文献

[1] ZULFIQAR M,SHETTY A,SHETTY V,et al. Compu-

ted tomography imaging of Non-Neoplastic and neoplastic benign gastric disease[J]. Curr Probl Diagn Radiol,2019, 48(1):75-96.

[2] 莫丽蓉,杨金芳,李雪,等. 胃癌生物学标志物的相关研究进展[J]. 医学综述,2019,25(7):1327-1331.

[3] KUMAR S,DHIMAN M. Inflammasome activation and regulation during Helicobacter pylori pathogenesis [J]. Microb Pathog,2018,10(125):468-474.

[4] KUHARA A,OKUMURA M,KIMATA T,et al. Temperature sensing by an olfactory neuron in a circuit controlling behavior of C-elegans[J]. Science,2008,320(5877):803-807.

[5] WANG Y M,COLONNA M. Interleukin-34, a cytokine crucial for the differentiation and maintenance of tissue resident macrophages and langerhans cells[J]. Eur J Immunol,2014,44(6):1575-1581.

[6] GUILLONNEAU C,BEZIE S,ANEGON I. Immunoregulatory properties of the cytokine IL-34[J]. Cell Mol Life Sci,2017,74(14):2569-2586.

[7] 王红旭,赖晓霁. 血清 IL-34 水平与 SLE 疾病活动度关系的研究[J]. 中国免疫学杂志,2017,33(8):1232-1235.

[8] HWANG S J,CHOI B,KANG S S,et al. Interleukin-34 produced by human fibroblast-like synovial cells in rheumatoid arthritis supports osteoclastogenesis[J]. Arthritis Res Ther,2012,14(1):R14.

[9] LI Z L,JIN D Q,WU Y B,et al. Increased serum interleukin-34 in patients with coronary artery disease[J]. J Int Med Res,2012,40(5):1866-1870.

[10] WANG B,XU W M,TAN M L,et al. Integrative genomic analyses of a novel cytokine,interleukin-34 and its potential role in cancer prediction[J]. Int J Mol Med,2015, 35(1):92-102.

[11] BLASER N,BACKERT S,PACHATHUNDIKANDI S K. Immune cell signaling by helicobacter pylori: impact on gastric pathology[J]. Adv Exp Med Biol,2019,1149: 77-106.

[12] NODA Y,KAWAGUCHI T,KORENAGA M, et al. High serum interleukin-34 level is a predictor of poor prognosis in patients with non-viral hepatocellular carcinoma[J]. Hepatol Res,2019,49(9):1046-1053.

[13] ZINS K,HELLER G,MAYERHOFER M,et al. Differential prognostic impact of interleukin-34 mRNA expression and infiltrating immune cell composition in intrinsic breast cancer subtypes[J]. Oncotarget,2018,9(33):23126-23148.

[14] BAGHDADI M,ENDO H,TANAKA Y,et al. Interleukin 34,from pathogenesis to clinical applications[J]. Cytokine,2017,9(99):139-147.

[15] SOKOLOVA O,NAUMANN M. NF-kappa B signaling in gastric cancer[J]. Toxins (Basel),2017,9(4):119.

(收稿日期:2019-08-17 修回日期:2019-12-27)