

Th17 及其细胞因子在幽门螺杆菌感染者中的表达及意义

谢敏璐, 顾国忠, 龚 芳*

(南通大学第三附属医院检验科, 江苏 无锡 214041)

[摘要] 目的:探讨 Th17 细胞及其相关细胞因子在幽门螺杆菌(*Helicobacter-pylori*, HP)感染的胃部疾病患者外周血中的变化及意义。方法:选取 48 例胃部疾病患者。根据消化内窥镜检查结果分成 3 组:消化性溃疡组 24 例,胃炎组 12 例,以及未感染 HP 组 12 例。采用流式细胞术检测患者外周血 Th17 细胞的百分率、酶联免疫吸附法(ELISA)检测患者外周血中 Th17 细胞相关细胞因子白介素(interleukin, IL)-17A、IL-21、IL-23、转化生长因子(transforming growth factor, TGF)- β 的表达。结果:消化性溃疡和胃炎患者外周血 Th17 细胞比例显著高于未感染 HP 患者($P < 0.05$);消化性溃疡和胃炎患者外周血中细胞因子(IL-17A、IL-23 和 TGF- β)显著高于未感染 HP 患者($P < 0.05$)。结论:Th17 细胞及其细胞因子的变化可能在幽门螺杆菌感染的胃部疾病发病中起重要作用。

[关键词] 幽门螺杆菌; Th17 细胞; IL-17A; IL-23; TGF- β

[中图分类号] R573.1

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-4368(2016)09-1104-03

doi: 10.7655/NYDXBNS20160916

幽门螺杆菌(*Helicobacter-pylori*, HP)是一种寄生于人体胃黏膜表面的革兰氏阴性细菌,世界卫生组织确认 HP 感染与慢性胃炎、消化性溃疡及胃癌等胃部疾病密切相关^[1]。研究表明,HP 感染率在发达国家约为 50%,在发展中国家约为 80%^[2]。机体通过效应性 T 淋巴细胞(Th1 和 Th2)的激活和分化等获得性免疫,从而导致 HP 感染^[3]。近年研究发现, Th17 细胞及其细胞因子在幽门螺杆菌感染的胃部疾病患者发病中发挥了重要作用。Th17 细胞主要分泌细胞因子白介素(interleukin, IL)-17A、IL-21,另外细胞因子 IL-23 在 Th17 细胞的致病机制中也发挥了重要作用。转化生长因子(transforming growth factor, TGF)- β 是一种促炎细胞因子,在 Th17 细胞的激发过程中也起重要作用^[4-7]。本研究的目的是通过检测 Th17 细胞及其相关细胞因子在 HP 感染的胃部疾病患者中的表达及其相互关系,从而阐述其在胃部疾病中的意义,以期给 HP 感染的胃部疾病患者的免疫治疗提供依据。

1 对象和方法

1.1 对象

2015 年 1—8 月在本院住院治疗的胃部疾病患

者 48 例,男 30 例,女 18 例,平均年龄(48.0 ± 16.0)岁。根据消化内窥镜检查结果分成 3 组:消化性溃疡组 24 例,胃炎组 12 例,未感染 HP 组 12 例。排除胃癌、消化道出血、自身免疫性疾病、急或慢性肾功能衰竭等患者,所有患者在检测前 4 周内均未使用抗炎药物以及抗副交感神经药物等。均获得所有参加研究受试者的知情同意。患者的临床资料见表 1。

表 1 受试者临床资料分类

指标	胃炎组	消化性溃疡组	未感染 HP 组	P 值
年龄(岁)	48.0 \pm 16.0	48.4 \pm 15.7	38.0 \pm 13.6	0.65
性别[n(%)]				0.31
女	6(50.0)	8(33.3)	4(33.3)	
男	6(50.0)	16(66.7)	8(66.7)	
脲酶[n(%)]				<0.001
阳性	12(100.0)	24(100.0)	0(0.0)	
阴性	0(0.0)	0(0.0)	12(100.0)	

1.2 方法

1.2.1 外周血单个核细胞的分离

清晨空腹抽取所有受试者静脉血 2 mL,以聚蔗糖-泛影葡胺液分离患者外周血单个核细胞(peripheral blood mononuclear cell, PBMC),分离后的细胞 4 $^{\circ}$ C 2 500 r/min 离心 5 min, PBS 洗涤后以 $3 \times 10^5 \sim 5 \times 10^5$ 个/孔培养于 24 孔培养板,培养液为含 10% 胎牛血清的 RPMI-1640 完全培养基,然后置 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 的培养箱中培养 72 h,收获细胞,用于后续实验。

[基金项目] 江苏省自然科学基金(BK20140125)

*通信作者 (Corresponding author), E-mail: Gongfang2004@163.com

1.2.2 IL-17A 阳性表达细胞的检测

采用流式细胞术检测细胞内 IL-17A 的表达。分离后的 PBMC 以抗 CD4-FITC 进行第 1 次染色,然后以 1 g/L 的佛波酯 (phorbol 12-myristate 13-acetate, PMA) 进行刺激,在 CO₂ 培养箱里培养 5 h,最后用 PE 标记的 IL-17 抗体进行细胞内染色。用流式细胞仪进行计数,以 Cellquest 软件分析数据,获得 IL-17A 阳性 T 细胞的百分数。

1.2.3 外周血 Th17 淋巴细胞亚群的检测

清晨空腹抽取所有受试者静脉血 2 mL,分别加 PE 标记的抗人 IL-17 抗体各 10 μL,室温避光孵育 30 min。然后再加入红细胞裂解液,振荡混匀。离心后弃上清液,用 PBS 洗涤后混匀,用流式细胞仪进行计数,获得 Th17 细胞的百分数。

1.2.4 外周血细胞因子水平检测

所有实验者清晨空腹抽取静脉血 2 mL,然后分离出血清待检。采用 ELISA 试剂盒进行细胞因子 IL-17A、IL-21、IL-23、TGF-β 的检测,严格按照试剂盒说明书进行。

1.3 统计学方法

利用 SPSS22.0 统计分析软件对样本数据进行处理,所得计量资料描述为均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$),多组间比较采用 one-way ANOVA 检验, $P \leq 0.05$ 为

差异有统计学意义。

2 结果

2.1 IL-17A 阳性表达细胞和 Th17 细胞的检测

通过细胞内染色,然后采用流式细胞术检测细胞内 IL-17A 的表达以及 Th17 细胞的比率,结果发现消化性溃疡组和胃炎组 IL-17A 阳性细胞比例和 Th17 细胞的比率均明显高于未感染 HP 组 ($P < 0.05$, 表 2)。

表 2 外周血 IL-17A 阳性细胞和 Th17 细胞比例 (%)

组别	IL-17A	Th17
消化性溃疡组(n=24)	16.02 ± 1.21*	1.76 ± 0.27*
胃炎组(n=12)	14.28 ± 1.35*	1.22 ± 0.11*
未感染 HP 组(n=12)	8.76 ± 0.87	0.63 ± 0.06

与未感染 HP 组比较, * $P < 0.05$ 。

2.2 外周血细胞因子 IL-17A、IL-21、IL-23、TGF-β 的检测

通过 ELISA 法分别检测了消化性溃疡组 24 例、胃炎组 12 例、未感染 HP 组 12 例外周血细胞因子 IL-17A、IL-21、IL-23、TGF-β 的含量,结果表明:消化性溃疡组和胃炎组 IL-17A、IL-21、IL-23、TGF-β 的含量均明显高于未感染 HP 组(表 3)。

表 3 各组外周血细胞因子表达量的比较

组别	IL-17A	IL-21	IL-23	TGF-β
消化性溃疡组(n=24)	162.59 ± 30.36*	540.13 ± 219.23*	40.64 ± 19.27*	997.65 ± 319.41*
胃炎组(n=12)	138.83 ± 29.19*	859.89 ± 337.41*	30.13 ± 10.34*	890.92 ± 308.36*
未感染 HP 组(n=12)	88.83 ± 30.34	242.33 ± 112.87	18.55 ± 8.82	258.78 ± 119.48

与未感染 HP 组比较, * $P < 0.05$ 。

3 讨论

HP 是慢性活动性胃炎、消化性溃疡的主要致病因素^[8-9],本研究发现 Th17 细胞及其相关细胞因子的活性在 HP 感染的发病中起重要作用。Th17 细胞主要分泌 IL-17,在 HP 感染的胃部疾病中发挥重要作用。国外有研究显示,Th17 细胞的持续增加可能会促进肿瘤发生。另有许多研究发现,IL-17 在抵抗 HP 感染中的作用甚至强于肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)与干扰素(interferon, IFN)-γ,在免疫防护中起重要作用^[10-12]。因而,Th17 细胞在 HP 感染的胃部疾病发病机制中发挥着重要作用,而其效应的发挥主要通过特征性细胞因子 IL-17 来完成。

在 HP 感染的胃部疾病中,许多细胞因子的相互免疫反应在其中起重要作用。TGF-β 在 Th17 细

胞以及调节性 T 细胞(Treg) 的分化过程中必不可少,诱导转录因子 RORγ/RORc 和 Foxp3 来完成调控。另外,TGF-β 联合 IL-6 在 Th17 细胞的发展中起重要作用。IL-21 是一种自分泌的细胞因子,也是一种 T 细胞衍生细胞因子,在免疫效应中起重要作用。同时,IL-21 也是 Th17 细胞的刺激因子,能够增强 Th17 细胞的产生,在 HP 感染的免疫调节中起旁分泌作用。研究发现 IL-23 能够增强 Stat3 信号通路从而导致 IL-17 在胃部合成。IL-23 在 HP 感染的胃癌发病进程中起重要作用,在 IL-23 缺陷型小鼠中几乎没有 Th17 细胞产生,IL-23 缺乏不影响 Th17 细胞的正常产生,却使其不能扩展和存活。因此 IL-23 不是 Th17 分化的必需因子,却是 Th17 细胞存活、繁殖的重要因子^[13-15]。

本研究结果显示,Th17 细胞及其相关细胞因子

IL-17、IL-21、IL-23、TGF- β 等在 *HP* 感染的胃部疾病中起重要作用,消化性溃疡和胃炎患者外周血 Th17 细胞比例显著高于未感染 *HP* 患者;消化性溃疡和胃炎患者外周血中细胞因子(IL-17A、IL-21、IL-23 和 TGF- β)显著高于未感染 *HP* 患者。综上所述,在 *HP* 感染的消化性溃疡及胃炎发病机制中,Th17 细胞及其相关细胞因子可能起一定作用,因而在临床治疗中,如能对 Th17 细胞介导的免疫耐受进行干预可能有利于患者的康复。

[参考文献]

- [1] Marshall BJ, Warren JR. Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration[J]. *Lancet*, 1984, 1(8390): 1311-1315
- [2] Frenck RJ, Clemens J. *Helicobacter* in the developing world [J]. *Microbes Infect*, 2003, 5(8): 705-713
- [3] Atherton JC, Blaser MJ. Coadaptation of *Helicobacter pylori* and humans: ancient history, modern implications [J]. *J Clin Invest*, 2009, 119(9): 2475-2487
- [4] Mueller A, Solnick JV. Inflammation, immunity, and vaccine development for *Helicobacter pylori* [J]. *Helicobacter*, 2011, 16(1, SI): 26-32
- [5] Pinchuk IV, Morris KT, Nofchissey RA, et al. Stromal cells induce Th17 during *Helicobacter pylori* infection and in the gastric tumor microenvironment [J]. *PLoS One*, 2013, 8: e53798
- [6] Vykhovanets EV, Maclellan GT, Vykhovanets OV, et al. IL-17 expression by macrophages is associated with proliferative inflammatory atrophy lesions in prostate cancer patients [J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2011, 4(6): 552-565
- [7] Fehlings M, Drobbe L, Moos V, et al. Comparative analysis of the interaction of *Helicobacter pylori* with human dendritic cells, macrophages, and monocytes [J]. *Infect Immun*, 2012, 80(8): 2724-2734
- [8] Freire De Melo F, Rocha AM, Rocha GA, et al. A regulatory instead of an IL-17 T response predominates in *Helicobacter pylori*-associated gastritis in children [J]. *Microbes Infect*, 2012, 14(4): 341-347
- [9] Carbo A, Olivares-Villagómez D, Hontecillas R, et al. Systems modeling of the role of interleukin-21 in the maintenance of effector CD4⁺ T cell responses during chronic *Helicobacter pylori* infection [J]. *MBio*, 2014, 5(4): e01214-e01243
- [10] Sonnenberg GF, Fouser LA, Artis D. Border patrol: regulation of immunity, inflammation and tissue homeostasis at barrier surfaces by IL-22 [J]. *Nat Immunol*, 2011, 12(5): 383-390
- [11] Serelli-Lee V, Ling KL, Ho C, et al. Persistent *Helicobacter pylori* specific Th17 responses in patients with past *H. pylori* infection are associated with elevated gastric mucosal IL-1 β [J]. *PLoS One*, 2012, 7(6): e39199
- [12] Peters A, Lee Y, Kuchroo VK. The many faces of Th17 cells [J]. *Curr Opin Immunol*, 2011, 23(6): 702-706
- [13] Zhuang Y, Cheng P, Liu XF, et al. A pro-inflammatory role for Th22 cells in *Helicobacter pylori*-associated gastritis [J]. *Gut*, 2015, 64(9): 1368-1378
- [14] Zhuang Y, Shi Y, Liu XF, et al. *Helicobacter pylori*-infected macrophages induce Th17 cell differentiation [J]. *Immunobiology*, 2010, 216(1/2): 200-207
- [15] Shamsdin SA, Alborzi A, Rasouli M, et al. Alterations in Th17 and the respective cytokine levels in *Helicobacter pylori*-induced stomach diseases [J]. *Helicobacter*, 2015, 20(6): 460-475

[收稿日期] 2015-10-08