

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2017.15.007

文章编号: 1005-8982(2017)15-0034-04

临床研究·论著

## 白细胞介素 17 及 23 在慢性放射性 肠炎中的表达及临床意义\*

吴长亮,姚莉,蔡福庆,彭鹏,黄杰安

(广西医科大学第二附属医院 消化内科,广西 南宁 530021)

**摘要:目的** 检测白细胞介素 17(IL-17)和白细胞介素 23(IL-23)在慢性放射性肠炎患者肠黏膜组织中的表达,并分析其表达与疾病的关系。**方法** 纳入 31 例慢性放射性肠炎为研究对象,选取健康对照 30 例。对病情的评估采取临床症状和内镜下表现结合的形式。用免疫组织化学法测定 IL-17 及 IL-23 的蛋白表达,并分析其与临床特征的关系。**结果** 慢性放射性肠炎中 IL-17 及 IL-23 的阳性表达高于正常肠黏膜组织(均  $P=0.000$ )。IL-17 及 IL-23 在慢性放射性肠炎患者肠黏膜中的表达与症状积分及内镜评分呈正相关(均  $P=0.000$ )。慢性放射性肠炎患者肠黏膜中 IL-17 与 IL-23 的表达相关( $r=0.731, P=0.000$ )。**结论** IL-17 及 IL-23 在慢性放射性肠炎组织中高表达,且与疾病严重程度呈正相关,提示 IL-17/IL-23 免疫轴可能参与慢性放射性肠炎的发生、发展。

**关键词:** 慢性放射性肠炎;白细胞介素 17;白细胞介素 23

**中图分类号:** R516.1

**文献标识码:** A

## Expression of IL-17 and IL-23 in chronic radiation colitis\*

Chang-liang Wu, Li Yao, Fu-qing Cai, Peng Peng, Jie-an Huang

(Department of Gastroenterology, the Second Affiliated Hospital of Guangxi  
Medical University, Nanning, Guangxi 530021, China)

**Abstract: Objective** To investigate the expression of the IL-17 and IL-23 in chronic radiation proctitis (CRP). **Methods** Immunohistochemistry was used to detect the expression of IL-17 and IL-23 in 31 CRP patients and 30 normal colonic mucosal tissues. **Results** The positive expression of IL-17 and IL-23 in CRP was higher than that in normal colonic mucosal tissues ( $P=0.000$ ). The expression of IL-17 and IL-23 in CRP significantly correlated with the parameters of symptoms and endoscopic scores ( $P=0.000$ ). There was a significant correlation between the expression of IL-17 and IL-23 in the intestinal mucosa of patients with CRP ( $r_s=0.731, P=0.000$ ). **Conclusions** IL-17/IL-23 axis may play an important role in the development and progression of CRP.

**Keywords:** chronic radiation proctitis; interleukin 17; interleukin 23

放射性肠炎是腹盆腔恶性肿瘤放射治疗引起的常见并发症,根据起病的缓急和病程的长短,一般为急性和慢性。急性放射性肠炎多出现在放疗期间,病情较轻,多数可自愈。但仍有部分可进一步发展,持续 $\geq 3$ 个月的称为慢性放射性肠炎。慢性放射性

肠炎临床上以反复发作的腹痛、腹泻、便血及里急后重等为特点,内镜主要表现为慢性溃疡、出血、穿孔、肠梗阻及瘘管形成,病情常迁延不愈,严重影响患者的生活质量<sup>[1]</sup>。目前,慢性放射性肠炎的发病机制尚未完全明确,可能与放射剂量大小、肠道屏障破坏、

收稿日期:2017-02-28

\* 基金项目:广西卫生厅自筹课题(No: Z2013100)

[通信作者] 黄杰安, E-mail: jieanh@163.com

肠壁血管损伤及菌群失调等因素相关<sup>[9]</sup>。近年来,随着对放射性损伤的深入研究,人们逐渐认识到其发病机制与免疫细胞因子存在密切关系<sup>[9]</sup>。白细胞介素 17(interleukin-17, IL-17)及白细胞介素 23(interleukin-23, IL-23)免疫轴是近年来研究的热点,其在多种自身免疫性疾病包括炎症性肠病及肠道慢性炎症中有重要作用<sup>[4]</sup>。本课题旨在通过测定 IL-17/IL-23 免疫轴中的重要生物分子 IL-17 及 IL-23 在慢性放射性肠炎组织中的表达,初步探讨 IL-17/IL-23 免疫轴对慢性放射性肠炎发生、发展的作用。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

选取 2011 年 1 月 -2015 年 1 月本院诊断为慢性放射性肠炎的患者 31 例纳入研究。所有患者均经病理证实。诊断标准参考中华人民共和国国家职业卫生标准《放射性直肠炎诊断标准》GBZ111-2002。纳入标准:①有明确的腹盆腔恶性肿瘤放射治疗病史;②于放射治疗结束 3 个月以后出现以结肠受累为主的放射性肠炎的相关症状,或症状持续≥3 个月;③经病理检查排除肿瘤局部转移或复发;④既往无结直肠炎病史。31 例慢性放射性结肠炎均为女性宫颈癌患者,年龄 38~72 岁,平均(48.8±8.41)岁,未行手术治疗,所有患者接受放射治疗(外照射+后

装),同步予顺铂[cis-Dichlorodiammineplatinum(II), DDP]及 5-氟尿嘧啶化疗,均为放疗结束后 3~10 个月发病的患者。以正常肠黏膜组织 30 例作为对照组。本研究通过广西医科大学第二附属医院伦理委员会批准,患者均签署知情同意书。

### 1.2 方法

**1.2.1 慢性放射性肠炎病情评估标准** 对病情的评估采取临床症状和内镜下表现相结合的形式。临床症状参照 SOMA (subjective objective management analysis)进行评定(见表 1);目前对放射性肠炎的内镜下病变评估尚无标准的方法,本实验采用 5 个常见的内镜下病变:毛细血管扩张、黏膜潮红水肿、溃疡、狭窄及坏死相结合的评分系统来评估内镜下病变。见表 2。

表 1 慢性放射性肠炎症状的 SOMA 评分标准

分值	血便	疼痛	大便次数 / (次/d)	里急后重
1	不明显	偶尔出现的轻微疼痛	2~4	偶尔出现
2	偶尔出现, > 2 次/周	经常出现的中度疼痛	4~8	经常出现
3	经常出现	持续的强烈疼痛	>8	持续出现可忍受
4	难以控制	顽固的剧烈疼痛	不受控制	持续出现不可忍受

注:无上述各项症状则为 0 分

表 2 慢性放射性肠炎内镜分级标准

评分	毛细血管扩张	黏膜潮红水肿	溃疡	狭窄	坏死
1	单一的	单一的	浅表溃疡 <1 cm <sup>2</sup>	Φ >2/3 正常值	少量
2	多处非融合	多处非融合	浅表溃疡 >1 cm <sup>2</sup>	Φ : 1/3 ~ 2/3 正常值	多处非融合
3	多处相互融合	多处相互融合	深溃疡	Φ <1/3 正常值	多处相互融合
4	多处相互融合	多处相互融合	穿孔/瘘口	Φ <1/3 正常值	多处相互融合

注:无上述各项表现则为 0 分;Φ 为管腔直径

**1.2.2 免疫组织化学染色** IL-17 及 IL-23 抗体(购自英国 Abcam 公司),即用型免疫组织化学试剂盒及 DAB 酶底物显色剂(购自北京中杉金桥生物技术有限公司),常规脱蜡、水化,以 0.01 mol/L 柠檬酸高压修复 5 min,3%过氧化氢 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 室温孵育 5~10 min, 正常山羊血清封闭 10 min 后,滴加一抗(IL-17 和 IL-23 P19 浓度均为 1:400),孵育过夜,余步骤严格遵照免疫组织化学试剂盒说明书进行。DAB 显色,苏木素复染,中性树胶封片。阳性对照由试剂公司提供,用 PBS 代替一抗作为阴性对照。以胞质中出现明显的黄色或黄褐色颗粒视为免疫组织

化学染色阳性,综合染色强度及阳性细胞数量进行半定量分析。根据免疫阳性细胞染色程度(A):①无染色为 0 分;②细胞膜或质内见淡黄色颗粒,高于背景为 1 分;③较多棕黄色颗粒为 2 分;④大量棕黄色颗粒为 3 分。每片随机观察 5 个视野,计数 500 数(B):①阳性细胞数 <5%为 0 分;②5%~25%为 1 分;③25%~50%为 2 分;④>50%为 3 分。A 与 B 相加为其最后得分:①0 分判为“-”;②1~2 分判为“+”;③3~4 分判为“++”;④5~6 分判为“+++”。以“++”和“+++”定义为阳性表达,“-”和“+”定义为阴性表达<sup>[9]</sup>。

### 1.3 统计学方法

数据分析采用 SPSS 22.0 统计软件, 计量资料以均数  $\pm$  标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 计数资料用个数 (%) 表示。率的比较用  $\chi^2$  检验。IL-17 及 IL-23 P19 表达程度与临床症状和内镜评分的比较做秩和检验 ( $H$  检验), 相关分析用 Pearson 法或 Spearman 法,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

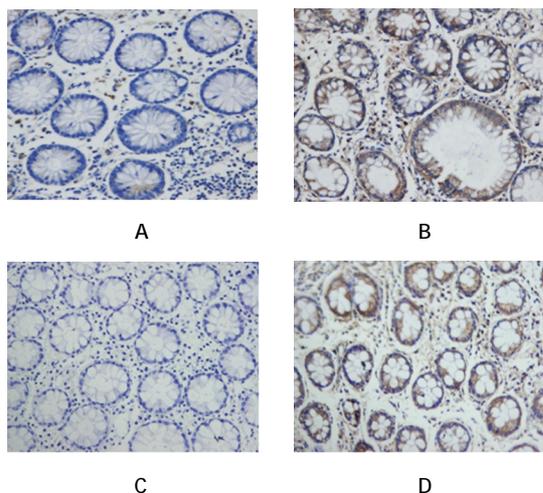
## 2 结果

### 2.1 IL-17 及 IL-23 在肠黏膜中的表达

IL-17 及 IL-23 主要表达于胞质 (见附图)。IL-17 及 IL-23 在慢性放射性肠炎中的阳性率均高于正常肠黏膜 (均  $P = 0.000$ )。见表 3。

### 2.2 IL-17 及 IL-23 的表达与慢性放射性肠炎患者临床特征的关系

对不同疾病严重程度和 IL-17 及 IL-23 不同表达等级进行秩和检验, 发现 IL-17 及 IL-23 在不同的



A: 正常肠黏膜组织中 IL-17 的表达; B: 慢性放射性肠炎中 IL-17 表达; C: 正常肠黏膜组织 IL-23 的表达; D: 慢性放射性肠炎中 IL-23 表达

附图 IL-17 和 IL-23 在正常肠黏膜、慢性放射性肠炎结肠黏膜组织中的表达 (SP  $\times$  200)

表 3 慢性放射性肠炎组织与正常肠黏膜组织 IL-17 及 IL-23 阳性表达率的比较 例 (%)

组别	IL-17		IL-23	
	阴性	阳性	阴性	阳性
慢性放射性肠炎	6(19.35)	25(80.65)	9(29.03)	22(70.97)
正常肠黏膜	24(80.00)	6(20.00)	25(83.33)	5(16.67)
$\chi^2$ 值	22.443		18.221	
$P$ 值	0.000		0.000	

注: 阳性包括 +、++ 和 +++

疾病严重程度分级中的表达水平有差异 (见表 4)。进一步进行 Spearman 相关分析发现, IL-17 及 IL-23 在慢性放射性肠炎中的表达水平与临床症状积分、内镜表现呈正相关。随着临床症状的加重, IL-17 及 IL-23 的表达强度等级越高。见表 5。

### 2.3 慢性放射性肠炎中 IL-17 与 IL-23 表达的相关性

通过相关分析, 慢性放射性肠炎中 IL-17 与 IL-23 表达呈正相关。见表 6。

表 4 不同临床特征 IL-17 及 IL-23 P19 表达等级的比较

表达等级	症状总积分 / ( $\bar{x} \pm s$ )	$H$ 值	$P$ 值	内镜总积分 / ( $\bar{x} \pm s$ )	$H$ 值	$P$ 值
IL-17						
-/+	2.00 $\pm$ 0.75			3.00 $\pm$ 1.17		
++	6.00 $\pm$ 1.55	23.412	0.000	5.00 $\pm$ 2.79	18.103	0.000
+++	11.50 $\pm$ 2.73			10.50 $\pm$ 3.11		
IL-23						
-/+	2.00 $\pm$ 2.15			3.00 $\pm$ 2.09		
++	7.00 $\pm$ 2.45	16.581	0.000	6.50 $\pm$ 3.05	13.292	0.000
+++	11.50 $\pm$ 3.10			11.00 $\pm$ 3.81		

表 5 IL-17 及 IL-23 P19 的表达与临床特征的相关性

组别	IL-17		IL-23	
	$r$ 值	$P$ 值	$r$ 值	$P$ 值
症状总积分	0.881	0.000	0.731	0.000
内镜总积分	0.776	0.000	0.657	0.000

表 6 慢性放射性肠炎中 IL-17 与 IL-23 表达的相关性

IL-17	IL-23			$r$ 值	$P$ 值
	-/+	++	+++		
-/+	4	2	0	0.732	0.000
++	5	7	1		
+++	0	3	9		

## 3 讨论

目前, 尚未有明确的治疗放射性肠炎的指南, 临床上多采用内科解痉、止痛、止血、抗感染及对症支持治疗, 但效果不尽理想<sup>[6-7]</sup>。虽然大部分的急性放射性肠炎有自愈性, 但仍然有部分患者持续发展成为症状复杂而顽固的慢性放射性肠炎, 给患者带来巨大的痛苦。研究慢性放射性肠炎的发病机制及防治对策, 是临床亟需解决的重要问题。随着对放射性损伤的深入研究, 人们逐渐认识到其发病机制与免疫细胞因子存在密切关系<sup>[8-10]</sup>。IL-17/IL-23 免疫轴在多种

自身免疫性疾病、肠道慢性炎症、肿瘤及移植排斥中发挥重要作用<sup>[11-12]</sup>,近年来,IL-17/IL-23 免疫轴已成为放射损伤免疫学研究的热点。王洁等以放射性肺炎大鼠为研究对象,利用流式细胞术检测大鼠外周血辅助性 T 细胞 17(helper T cell 17,Th17)细胞数的变化以及免疫组织化学法检测 Th17 在肺组织的表达。发现放射性肺炎大鼠全血中 Th17 细胞逐渐上升,在放射性肺炎组织中,Th17 细胞数量增多,提示 Th17 细胞可能参与大鼠放射性肺炎形成过程。有课题组进一步以 148 例实施放疗的胸部肿瘤患者为研究对象,采用流式细胞术检测放疗前、放疗期间及放疗后第 4 周研究对象外周血中 Th17 细胞水平并分析其与临床特征的关系。结果发现,发生放射性肺炎患者的 Th17 细胞水平高于未发生放射性肺炎的患者<sup>[13-14]</sup>。目前,针对 IL-17/IL-23 免疫轴与放射性肠炎关系的相关研究较少。

本实验探讨 IL-17/IL-23 免疫轴是否在放射性肠黏膜损伤过程中发挥重要作用。实验结果显示 IL-17 及 IL-23 在慢性放射性结肠炎患者肠黏膜组织中高表达,而在正常肠黏膜组织中低表达,提示慢性放射性肠炎肠黏膜组织中可能有 IL-17 及 IL-23 细胞的浸润。进一步分析 IL-17 和 IL-23 的表达与疾病炎症程度的关系,结果显示临床症状越严重、肠黏膜受损越大的患者,IL-17 及 IL-23 蛋白表达的程度越高。说明肠黏膜 IL-17 及 IL-23 的表达水平与慢性放射性肠炎的严重程度密切相关,两者可能促进放射性肠炎的慢性化及病情进展。在本实验中,IL-17 与 IL-23 的表达呈正相关,其可能的机制是 IL-23 通过刺激促使 Th17 释放大量 IL-17,两者在慢性放射性肠炎的发病机制中起积极作用。

本课题着眼于慢性放射性肠炎的发生、发展机制,研究发现 IL-17 及 IL-23 在慢性放射性肠炎患者中高表达,提示慢性放射性肠炎患者的促炎因子和抗炎因子的动态平衡遭到破坏,促炎因子的上调可能是放射性肠炎发生、发展和慢性化的重要因素。对于 IL-17 及 IL-23 表达增加的慢性放射性肠炎,调控 IL-17/IL-23 免疫轴的应答,阻断其致炎过程,是否也有希望成为未来研发新药物的炎症靶标? 这需

要更深入的研究。

#### 参 考 文 献:

- [1] MENDENHALL W M, MCKIBBEN B T, HOPPE B S, et al. Management of radiation proctitis[J]. *Am J Clin Oncol*, 2014, 37(5): 517-523.
- [2] 李荣富,孙涛. 放射性肠炎发生机制的研究进展[J]. *医学综述*, 2011, 17(2): 257-259.
- [3] INDARAM A V K, VISVALINGAM V, LOCKE M, et al. Mucosal cytokine production in radiation-induced proctosigmoiditis compared with inflammatory bowel disease[J]. *American Journal of Gastroenterology*, 2000, 95(5): 1221-1225.
- [4] GREMY O, BENDERITTER M, LINARD C. Acute and persisting Th2-like immune response after fractionated colorectal  $\gamma$ -irradiation[J]. *World Journal of Gastroenterology*, 2008, 14(46): 7075.
- [5] LIU S Q, SU Y J, QIN M B, et al. Sphingosine kinase 1 promotes tumor progression and confers malignancy, phenotypes of colon cancer by regulating the focal adhesion kinase pathway and, adhesion molecules [J]. *International Journal of Oncology*, 2013, 42(2): 617-626.
- [6] KIM K, MCBRIDE W H. Modifying radiation damage[J]. *Current Drug Targets*, 2010, 11(11): 1352-1365.
- [7] VANNESTE B G L, VOORDE L V D, RIDDER R J D, et al. Chronic radiation proctitis: tricks to prevent and treat [J]. *International Journal of Colorectal Disease*, 2015, 30(10): 1293-1303.
- [8] 顾阳春,张照辉,梁莉,等. 放射性肠炎发生的分子机制[J]. *中华放射医学与防护杂志*, 2013, 33(2): 211-214.
- [9] HALLEMEIER C L, IOTT M J, MARTENSON J A, et al. A pilot study examining circulating interleukin-6 and transforming growth factor- $\beta$  levels during pelvic radiation therapy [J]. *American Journal of Clinical Oncology*, 2013, 36(4): 344.
- [10] TAKEUCHI H, KIMURA T, OKAMOTO K, et al. A mechanism for abnormal angiogenesis in human radiation proctitis: analysis of expression profile for angiogenic factors[J]. *Journal of Gastroenterology*, 2012, 47(1): 56-64.
- [11] 宫原,陈世雄. Th17 细胞生物学效应的临床研究进展[J]. *热带医学杂志*, 2013, 13(9): 1166-1168.
- [12] CROME S Q, WANG A Y, LEVINGS M K. Translational mini-review series on Th17 cells: function and regulation of human T helper 17 cells in health and disease[J]. *Clinical & Experimental Immunology*, 2010, 159(159): 109-119.
- [13] 王洁,邵根宝,龚爱华,等. Th17/Treg 失衡与大鼠放射性肺炎的关系[J]. *江苏医药*, 2014, 40(8): 879-881.
- [14] 王燕,王洁,时亚伟,等. Th17/Treg 比值对放射性肺炎的预测价值[J]. *江苏医药*, 2015, 41(17): 2039-2041.