

紫杉醇注射液对子宫癌患者血清 TNF、IL-8、TSGF 的影响*

朱小晖, 张中华, 杨艳华, 田艳红, 崔云静

(天门市第一人民医院/湖北科技学院附属医院妇产科, 湖北 天门 431700)

摘要: **目的** 探讨紫杉醇注射液对子宫癌患者血清中肿瘤坏死因子(TNF), 白细胞介素-8(IL-8)和恶性肿瘤特异生长因子(TSGF)水平的变化及其子宫组织中 TNF, IL-8 和 TSGF 蛋白表达的相关影响。**方法** 采用化学发光免疫法(CLIA)分别检测了子宫癌患者 30 例、紫杉醇注射液治疗组 30 例和健康人组 34 人血清中的 TNF, IL-8 和 TSGF 因子的含量, 采用 Western Blot 方法检测各组子宫组织中 TNFR1 蛋白表达。**结果** 子宫癌组血清中 TNF, IL-8 和 TSGF 水平明显高于健康组($P<0.01$), 同时, 子宫癌组子宫组织中 TNFR1 蛋白表达量显著高于健康组, 差异有统计学意义($P<0.01$)。而紫杉醇组血清中 TNF, IL-8 和 TSGF 水平显著低于子宫癌组, 差异有统计学意义($P<0.01$), 同时, 其子宫组织中 TNFR1 的蛋白表达量明显低于子宫癌组($P<0.01$)。**结论** 紫杉醇能显著地减少子宫癌患者血清中 IL-8、TNF 和 TSGF 的水平及其子宫组织中 TNFR1 的蛋白表达量, 为紫杉醇的临床应用提供参考。

关键词: 紫杉醇; 子宫癌; 白细胞介素-8; 肿瘤坏死因子; 恶性肿瘤生长因子

中图分类号: R737.33

文献标志码: A

文章编号: 1000-2723(2017)06-0033-04

DOI: 10.19288/j.cnki.issn.1000-2723.2017.06.009

紫杉醇是从太平洋杉、短叶红豆杉的树皮和木材中分离的。研究表明, 紫杉醇对乳腺癌、胰腺癌、结肠癌等 10 多种癌症具有治疗效果, 通过促进微管蛋白聚合抑制解聚, 保持微管蛋白稳定, 抑制细胞有丝分裂, 发挥其抗癌作用^[1]。

子宫癌是女性生殖道的常见肿瘤疾病之一, 近年来子宫癌呈低龄化、高发性等趋势^[2]。寻找合适的治疗药物成为临床急需解决的问题。本文利用 CLIA 法分别检测正常健康组、子宫癌患者组和紫杉醇治疗组 3 组病人的 3 种因子(TNF、IL-8 和 TSGF)的含量水平, 紫杉醇对子宫癌疾病中血清因子的相关影响。为紫杉醇的临床应用提供一定的参考。

1 资料和方法

1.1 一般资料

①子宫癌组 30 例, 为本院 2013 年 3 月—2014 年 3 月由肿瘤科经体征、妇科检查、B 超、手术后病理切片等证实确诊为子宫癌患者。②紫杉醇组 30 例, 随机选择子宫癌组 30 例, 在进行检查之前给予紫杉醇注射液治疗, 紫杉醇给药的剂量为 $135\sim 175\text{mg}/\text{m}^2$, 注射液加于 5%葡萄糖液 500mL 中, 应用特制的胶管及

0.22 μm 的微孔膜滤过。滴注 3h。坚持 3~4 周后视情况可再重复。③健康组 34 例, 均为本院体检中心健康体检合格的女性健康者, 妇科检查所有指标均无异常。

1.2 标本采集

采集空腹血 3mL 分离血清后置 -20°C 待检, 子宫癌组和紫杉醇组的采血时间为手术前 24h。所有标本都在采集的当天完成检测。

1.3 检测方法

采用美国雅培化学发光分析仪及配套试剂检测血清中 TNF、IL-8、和 TSGF 水平。

采用 Western Blot 方法检测 TNFR1 蛋白的表达水平: 取各组少量子宫组织, 加入适量液氮后进行研磨, 促使细胞得以裂解, 采用玻璃匀浆器研磨组织, 加入 $10\mu\text{L}/\text{ng}$ 的 PI 裂解液 (含 PMSF), 冰上孵育 30min, 4°C 离心 $12000\text{r}/\text{min}$, 离心 5min, 取上清液, 通过 BCA 蛋白定量, 定量后每组上样量为 $30\mu\text{g}$, 采用 10%SDS-PAGE 电泳分离蛋白, 利用 NC 膜湿转, 5% BSA 封闭液室温封闭 2h, 加入一抗 TNFR1 后 4°C 过夜 (鼠抗人, 1:500)。采用 TBST 洗膜, 10min/次, 洗 3

* 基金项目: 湖北省卫生厅科研重点项目(JX6B94)

收稿日期: 2017-12-03

作者简介: 朱小晖(1981-), 男, 湖北枣阳人, 主治医师, 研究方向: 妇科肿瘤治疗。

次。加入辣根过氧化物酶标记的山羊抗小鼠 IgG (1:5000) 室温孵育 1h, TBS 洗膜 3 次, 10min/次, 利用发光自显影技术, 显色, 曝光, 采用 Photoshop 5.0 检测各组蛋白表达量。

1.4 统计学方法

应用 SPSS17.0 进行数据处理。组间比较采用 t 检验, 计数材料用均值±标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示。所有数据通过统计学比较, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 3 组血清中 TNF, IL-8, 和 TSGF 含量的测定结果

子宫癌组血清中 TNF、IL-8 和 TSGF 的含量均明显高于健康组, 差异具有统计学意义 ($t = 0.328, P < 0.01; t = 0.274, P < 0.01; t = 0.531, P < 0.05$); 而紫杉醇组血清中 TNF、IL-8 和 TSGF 的含量均明显低于子宫癌组, 差异具有统计学意义 ($t = 0.541, P < 0.01; t = 0.421, P < 0.01; t = 0.253, P < 0.05$)。结果提示: 紫杉醇对降低子宫癌患者血清中 TNF、IL-8 和 TSGF 的水平有一定的作用, 见表 1。

表 1 3 组血清 TNF, IL-8, 和 TSGF 含量测定结果 ($\bar{x} \pm s$)

临床分组	n	TNF ($\mu\text{g/L}$)	IL-8 ($\mu\text{g/L}$)	TSGF $\times 10^3$ (U/L)
健康组	34	0.97 $\pm$ 0.26	320.03 $\pm$ 0.03	41.3 $\pm$ 3.7
子宫癌组	30	2.31 $\pm$ 0.34**	389.41 $\pm$ 0.05**	227.3 $\pm$ 4.3**
紫杉醇组	30	1.87 $\pm$ 0.47** Δ	338.27 $\pm$ 0.04** $\Delta\Delta$	196.3 $\pm$ 5.1** $\Delta\Delta$

注: 与健康组比较, ** $P < 0.01$; 与子宫癌组比较, $\Delta P < 0.05, \Delta\Delta P < 0.01$

2.2 2 组手术化疗前后 3 个月血清 TNF, IL-8, 和 TSGF 含量的测定结果

(1) 子宫癌组: 与手术治疗前相比, 手术治疗后血清中 TNF、IL-8 和 TSGF 的含量均有显著性降低, 差异具有统计学意义 ($t = 0.3125, **P < 0.01; t = 0.431, **P < 0.01; t = 0.275, **P < 0.01$), 见表 2。

表 2 子宫癌组手术治疗前后血清中 TNF, IL-8 和 TSGF 含量测定结果 ($\bar{x} \pm s$)

临床分组	n	TNF ($\mu\text{g/L}$)	IL-8 ($\mu\text{g/L}$)	TSGF $\times 10^3$ (U/L)
手术化疗前	30	2.31 $\pm$ 0.34	389.41 $\pm$ 0.05	227.3 $\pm$ 4.3
手术化疗后	30	1.49 $\pm$ 0.41**	281.24 $\pm$ 0.06**	175.3 $\pm$ 6.3**

注: 与手术治疗前比较, * $P < 0.05, **P < 0.01$

(2) 紫杉醇组: 与手术治疗前相比, 手术治疗后血清中 TNF、IL-8 和 TSGF 的含量均有显著性降低,

差异具有统计学意义 ($t = 0.447, **P < 0.01; t = 0.541, *P < 0.01; t = 0.473, **P < 0.01$), 见表 3。

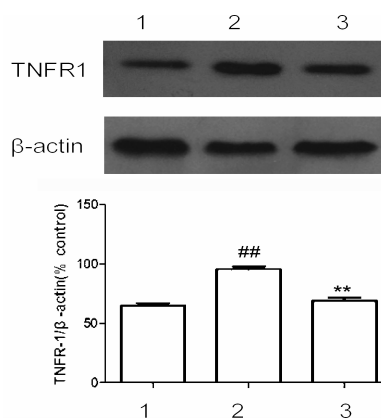
表 3 紫杉醇组手术前后血清中 TNF, IL-8, 和 TSGF 含量测定结果 ($\bar{x} \pm s$)

临床分组	n	TNF ($\mu\text{g/L}$)	IL-8 ($\mu\text{g/L}$)	TSGF $\times 10^3$ (U/L)
手术化疗前	30	1.87 $\pm$ 0.47	338.27 $\pm$ 0.04	196.3 $\pm$ 5.1
手术化疗后	30	1.48 $\pm$ 0.37 ^{###}	280.31 $\pm$ 0.03 ^{###}	173.3 $\pm$ 2.3 [#]

注: 与手术治疗前子宫癌组比较, [#] $P < 0.05, ^{###}P < 0.01$

2.3 Western Blot 法检测组织中 TNFR1 蛋白表达的水平

采用 Western Blot 法检测各组织中 TNFR1 蛋白表达水平。结果显示: 子宫癌组子宫组织中 TNFR1 蛋白含量显著高于健康对照组, 差异具有统计学意义 ($P < 0.01$)。紫杉醇组子宫组织中 TNFR1 蛋白含量显著低于子宫癌组, 差异具有统计学意义 ($P < 0.01$)。见图 1。



1: 健康组; 2: 子宫癌组; 3: 紫杉醇组

注: 与健康比较, ^{###} $P < 0.01$; 与子宫癌组比较, ^{**} $P < 0.01$

图 1 3 组子宫组织中 TNFR1 蛋白表达的水平

3 讨论

肿瘤坏死因子 (tumor necrosis factor, TNF) 是目前研究较为深入的一种抗肿瘤因子, 对肿瘤细胞有特异性的杀伤作用, 具有明显的特异性^[3]。其抗肿瘤的机制主要由以下几个方面: ① TNF 活化后可识别并结合 TNFR1, 通过 TNFR1 的活化, 介导一系列的生化反应的发生, 促进肿瘤细胞膜蛋白磷酸化, 激活溶酶体, 破坏细胞膜的完整性, 增加通透性, 最终降解细胞; 同时, TNFR1 的激活可促进线粒体氧化应激反应的发生, 诱发氧自由基的产生, 氧化细胞质膜, 损伤细胞的完整性。② 由于肿瘤组织需要较多的血液

供应维持其增殖,所以血液供应不足可减少其肿瘤组织增生。TNF 通过促进血栓的形成,减少对肿瘤组织的血液和营养的供应,进而摧毁肿瘤组织周围的血管上皮细胞,诱发肿瘤组织的坏死。③TNF 在人体免疫系统的过程中也发挥着极为重要的调控作用, TNF 可激活和刺激免疫 T 细胞及其他相关免疫细胞因子如 IL-2, INF 等,通过一系列级联放大反应,增加单核巨噬细胞和中性粒细胞的杀伤作用,诱发肿瘤组织的坏死。④TNF 也可通过调控核内肿瘤抑制基因 p53 的相关表达,发挥其抗肿瘤的活性^[4-5]。本次试验结果显示:子宫癌组血清中 TNF 的水平显著低于健康组,差异具有统计学意义($P<0.01$)。紫杉醇组的血清中 TNF 的水平显著高于子宫癌组,差异具有统计学意义($P<0.01$)。手术治疗后相比于手术治疗前,子宫癌组和紫杉醇组血清中 TNF 的水平均有明显的上升。Western Blot 检测结果显示:子宫癌组子宫组织中 TNFR1 蛋白含量显著高于健康对照组,差异具有统计学意义($P<0.01$)。紫杉醇组子宫组织中 TNFR1 蛋白含量显著低于子宫癌组,差异具有统计学意义($P<0.01$)。提示:使用紫杉醇对子宫癌患者进行治疗具有明显降低 TNFR-1 蛋白表达增加 TNF 水平的作用,且在手术治疗后仍具有增加 TNF 水平的作用。

白细胞介素-8(Interleukin, IL-8)是由单核-巨噬细胞介导产生的一种趋化性细胞因子,可诱发细胞增殖,促进局部炎症反应的发生,促进炎症细胞的增殖和细胞毒性等相关免疫应答辅助抗体的活化^[6-7]。IL-8 的作用机制是通过趋化和活化促中性粒细胞和中性粒细胞的溶酶蛋白的活性及其吞噬作用,促进其与中性粒细胞接触,介导嗜碱性粒细胞对 T 细胞的趋化作用,诱发机体局部炎症反应,发挥其杀菌的作用^[8-9]。除了炎症的相关研究外,实验表明,IL-8 在肿瘤细胞的表达中明显升高,其作用机制与诱导内皮细胞的迁移和肿瘤组织血管的增生有关,IL-8 也可通过增加胶原酶的活性,促进肿瘤细胞的侵袭力,诱发肿瘤细胞的增生^[10-11]。本次研究检测结果表明:与健康组比较,子宫癌组血清中 IL-8 水平显著地升高($P<0.01$)。与子宫癌组相比,紫杉醇组的血清中 IL-8 的水平显著性降低($P<0.01$)。手术前后,子宫癌组和紫杉醇组的 IL-8 均有显著性下降。此结果表明,紫杉醇对子宫癌诱导的 IL-8 具有明显抑制作

用,同时在手术治疗后,仍具有抑制作用^[12-14]。

肿瘤特异性生长因子(tumor specific growth factor, TSGF)是近年来发现的较为一种敏感且特性性较高的广谱肿瘤标志物,属于非细胞因子,是恶性肿瘤增殖及其周围毛细血管增生的结果^[15-16]。TSGF 用于检测对各种恶性肿瘤早期及治疗后复发的检测。与其他常见的肿瘤检测标志物不同的是, TSGF 在肿瘤形成的早期浓度就已经很高^[17-18]。本次研究检测结果显示:子宫癌组血清中 TSGF 的水平显著高于健康组,差异具有统计学意义($P<0.01$)。而紫杉醇组血清中 TSGF 的水平显著低于子宫癌组,差异具有统计学意义($P<0.01$)。手术治疗后相比手术治疗前,子宫癌组和紫杉醇组血清中 TSGF 的水平均显著降低,差异具有统计学意义(子宫癌组: $P<0.01$,紫杉醇组: $P<0.05$)。提示:紫杉醇对子宫癌诱导的 TSGF 具有明显的抑制作用,同时在手术治疗后,仍具有抑制作用^[19-20]。

综上所述, TNF, IL-8, 和 TSGF 在子宫癌组织中均有表达,与子宫癌的病理发生有着紧密的关系。TNF, IL-8, 和 TSGF 可作为子宫癌早期诊断、预测转移的指标,为其临床治疗的评估和选择提供新的靶点,开拓其诊断的治疗新途径。紫杉醇注射液可显著抑制子宫癌诱导的 IL-8、TSGF 和 TNF 的增加,为紫杉醇的临床应用提供一定的参考。

参考文献:

- [1] 章雪峰,钟小平,章冠军.多西紫杉醇联合吡柔比星膀胱灌注预防表浅性膀胱癌术后复发的效果研究[J].中国生化药物杂志, 2012, 33(5): 640-642.
- [2] Coosemans A, Vanderstraeten A, Tuyaerts S, et al. Wilms' Tumor Gene 1 (WT1) --loaded dendritic cell immunotherapy in patients with uterine tumors: a phase I/II clinical trial [J]. Anticancer Res, 2013, 33(12): 5495-5500.
- [3] Panaccione R, Ghosh S, Middleton S, et al. Combination therapy with infliximab and azathioprine is superior to monotherapy with either agent in ulcerative colitis[J]. Gastroenterology, 2014, 146(2): 392-400.
- [4] Soldini D, Gaspert A, Montani M, et al. Apoptotic enteropathy caused by antimetabolites and TNF- α antagonists [J]. J Clin Pathol, 2014, 67(7): 582-586.
- [5] Deng X, Zhang F, Wang L, et al. Airborne fine particulate matter induces multiple cell death pathways in human lung epithelial cells[J]. Apoptosis, 2014, 19(7): 1099-1112.

- [6] He F, Teng X, Gu H, et al. Interleukin -6 receptor rs7529229 T/C polymorphism is associated with left main coronary artery disease phenotype in a Chinese population [J]. *Int J Mol Sci*, 2014, 15(4): 5623-5633.
- [7] Gasch M, Goroll T, Bauer M, et al. Generation of IL-8 and IL-9 producing CD4+ T cells is affected by Th17 polarizing conditions and AHR ligands [J]. *Mediators Inflamm*, 2014: 182549.
- [8] Yang GX, Zhang RZ, Lou B, et al. Chemical constituents from *Melastoma dodecandrum* and their inhibitory activity on interleukin-8 production in HT-29 cells [J]. *Nat Prod Res*, 2014, 28(17): 1383-1387.
- [9] Hu Y, Wang JL, Tao HT, et al. Expression and significance of TSGF, CEA and AFP in patients before and after radical surgery for colon cancer [J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2013, 14(6): 3877-3380.
- [10] 王欣, 丁修冬, 李潇. 血清 TSGF 的水平与结肠癌诊断及术后疗效的关系 [J]. *标记免疫分析与临床*, 2013, 20(5): 288-299.
- [11] 陈欢欢, 王新会, 李盛, 等. TC 方案化疗联合手术对子宫内膜癌患者血清 TSGF、PRL、HE4 及炎症因子水平的影响 [J]. *海南医学院学报*, 2017, 23(5): 705-708.
- [12] 王琼, 陈华芳. 紫杉醇脂质体联合铂类化疗同步放疗治疗宫颈癌及对患者血清 TNF- α 、IL-8 的影响 [J]. *中国医药指南*, 2015, 13(7): 5-6.
- [13] 宋淑敏. 右美托咪定对老年甲状腺癌根治术患者认知功能和 TNF- α 、IL-6、IL-8 水平的影响 [J]. *临床医学*, 2016, 36(2): 3-5.
- [14] 古月娟. 紫杉醇联合顺铂治疗对卵巢癌患者血清中 TNF- α 、IL-6 和 E-cadherin 水平的影响 [J]. *卫生职业教育*, 2017, 35(22): 148-150.
- [15] 单峰, 刘曼华, 鲁晓燕. 紫杉醇联合顺铂对宫颈癌患者血清 HGF、VEGF、TNF- α 水平的影响 [J]. *中国妇幼保健*, 2016, 31(20): 4154-4157.
- [16] 贾利刚, 张媛, 田菲. 叶酸联合辛复宁对人乳头瘤病毒感染宫颈癌患者血清 CRP、HGF、IL-2、TNF- α 水平影响研究 [J]. *中国生化药物杂志*, 2015, 35(10): 96-98.
- [17] 韩敏, 李晓, 孙华, 等. 腹腔镜与开腹宫颈癌根治术对患者血清 IL-4、IL-10、TNF- α 及 IFN- γ 水平的影响 [J]. *现代生物医学进展*, 2017, 17(22): 4334-4337.
- [18] 刘杨, 陈利琴, 王文斌, 等. 乳腺癌患者血浆中 IL-6、IL-8 及 TNF- α 的表达 [J]. *贵阳医学院学报*, 2016, 41(3): 348-350.
- [19] 张立, 许婷姝, 赵军, 等. 轻重度乳腺癌患者血清 IL-6 IL-8 IL-10 与 TNF- α 水平检测与临床意义 [J]. *浙江临床医学*, 2017, 19(10): 1823-1824.
- [20] 姚瑶. 紫杉醇白蛋白联合铂类化疗方案对宫颈癌患者 TNF- α 、IL-4 及 IL-17 表达的影响 [J]. *河北医药*, 2017, 39(3): 417-419.

(编辑:徐建平)

(上接第 32 页)

- [10] 史国军, 施航, 叶兴涛, 等. 中医药联合吉非替尼治疗中晚期非小细胞肺癌随机对照试验的系统评价 [J]. *中华中医药学刊*, 2015, 29(3): 700-704.
- [11] Mok T, Wu YL, Lee JS, et al. Detection and dynamic changes of EGFR mutations from circulating tumor DNA as a predictor of survival outcomes in NSCLC patients treated with first-line intercalated erlotinib and chemotherapy [J]. *Clinical Cancer Research*, 2015, 21(2): 3196-3203.
- [12] 付陆军. 艾迪注射液联合 GP 化疗对老年晚期非小细胞肺癌的临床疗效分析 [J]. *中国医药指南*, 2012(26): 466.
- [13] Takeda M, Yamanaka T, Seto T, et al. Bevacizumab beyond disease progression after first-line treatment with bevacizumab plus chemotherapy in advanced nonsquamous non-small cell lung cancer (West Japan Oncology Group 5910L): an open-label, randomized, phase 2 trial [J]. *Cancer*, 2016, 122(7): 1050-1059.
- [14] Li DP, Li W, Feng J, et al. Adjuvant chemotherapy with sequential cytokine-induced killer (CIK) cells in stage IB non-small cell lung cancer [J]. *Oncology Research*, 2015, 22(2): 67-74.
- [15] 姜海伟, 胡晴, 和单凤, 等. 免疫相关疗效评价标准在中医药治疗晚期非小细胞肺癌的临床应用 [J]. *中国中西医结合杂志*, 2015, 35(9): 1074-1077.

(编辑:徐建平)