

# 宫颈上皮内病变患者人乳头状瘤病毒感染与Th17细胞、Treg细胞及相关细胞因子表达的相关性

焦桢<sup>1</sup> 付娟娟<sup>2</sup> 王琳<sup>1</sup>

**【摘要】目的** 探讨宫颈上皮内病变(CIN)患者人乳头状瘤病毒(HPV)感染与Th17细胞、Treg细胞及相关细胞因子表达的相关性。**方法** 选择2017年2月至2018年9月于新疆维吾尔自治区人民医院就诊的CIN患者共140例进行回顾性分析,根据是否感染HPV分为感染组(86例)和非感染组(54例),采用免疫组织化学方法比较两组患者T细胞CD3、CD4及CD8水平以及Treg和Th17的表达水平,采用流式细胞术比较两组患者的外周血T细胞亚群含量(CD3<sup>+</sup>T细胞、CD4<sup>+</sup>T细胞、CD8<sup>+</sup>T细胞的百分比)、Treg细胞和Th17细胞百分含量(CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg、CD8<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>CD127<sup>-</sup>Treg、CD4<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup>Treg、CD8<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup>Treg和CD4<sup>+</sup>IL17<sup>+</sup>Th17以及Th17/Treg比值)以及相关细胞因子[肿瘤坏死因子(TGF)- $\beta$ 、白细胞介素(IL)-10、IL-17和干扰素(IFN)- $\gamma$ ]含量的差异,应用多因素Logistic回归模型分析CIN患者感染HPV的危险因素。**结果** 免疫组织化学结果显示,两组患者CIN组织中T细胞CD3、CD4和CD8的表达水平差异无统计学意义,感染组患者CIN组织中T细胞抗-FOX3(Treg)和Th17表达水平显著高于非感染组。流式细胞术检测结果显示两组患者CD3<sup>+</sup>T细胞、CD4<sup>+</sup>T细胞、CD8<sup>+</sup>T细胞百分比差异无统计学意义( $t = 0.870、1.509、0.236; P = 0.385、0.133、0.813$ ),感染组患者CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg、CD8<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>CD127<sup>-</sup>Treg、CD4<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup>Treg、CD8<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup>Treg、CD4<sup>+</sup>IL17<sup>+</sup>Th17以及Th17/Treg比值均显著高于非感染组( $P$ 均 $< 0.05$ )。感染组患者外周血TGF- $\beta$ 、IL-10和IL-17均高于非感染组( $t = -11.601、-42.251、-40.31, P$ 均 $< 0.001$ ),而IFN- $\gamma$ 低于非感染组( $t = 10.316, P < 0.001$ )。多因素Logistic回归分析显示,CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg( $OR = 3.673, P = 0.031$ )、CD4<sup>+</sup>IL17<sup>+</sup>Th17( $OR = 1.974, P = 0.021$ )和Th17/Treg( $OR = 3.585, P = 0.024$ )均为CIN患者感染HPV的危险因素,IFN- $\gamma$ ( $OR = 0.612, P = 0.028$ )为CIN患者感染HPV的保护因素。**结论** CIN患者HPV感染与Treg细胞、Th17细胞及IFN- $\gamma$ 因子存在相关性,HPV感染的CIN患者Treg和Th17细胞增高,IFN- $\gamma$ 降低。

**【关键词】** 宫颈上皮内病变; 人乳头状瘤病毒; Th17细胞; Treg细胞; 细胞因子

**Correlation of human papillomavirus infection among Th17 cell, Treg cell and related cytokines in patients with cervical intraepithelial neoplasia** Jiao Zhen<sup>1</sup>, Fu Juanjuan<sup>2</sup>, Wang Lin<sup>1</sup>. <sup>1</sup>Department of Gynecology,

<sup>2</sup>Department of Pathology, Xinjiang Autonomous Region People's Hospital, Urumqi 830000, China

Corresponding author: Wang Lin, Email: zjnbdf@163.com

**【Abstract】Objective** To investigate the correlation of human papillomavirus (HPV) infection with Th17 cell, Treg cell and related cytokines in patients with cervical intraepithelial neoplasia (CIN). **Methods** Total of 140 patients with CIN in Xinjiang Autonomous Region People's Hospital from June 2017 and May 2018 were selected and divided into infection group (86 cases) and non-infection group (54 cases), according to whether with HPV infection. The expression of CD3, CD4 and CD8 were detected by immunohistochemistry methods. The T cells and T cell subsets (the percentage of CD3<sup>+</sup>T cell, CD4<sup>+</sup>T cell and CD8<sup>+</sup>T cell), the percentage of Treg cell and Th17 cell (CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg, CD8<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>CD127<sup>-</sup>Treg, CD4<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup>Treg, CD8<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup>Treg, CD4<sup>+</sup>IL17<sup>+</sup>Th17 and

DOI: 10.3877/cma.j.issn.1674-1358.2019.04.004

基金项目: 新疆维吾尔自治区自然科学基金(No. 2017D01C124)

作者单位: 830000 乌鲁木齐市, 新疆维吾尔自治区人民医院妇科<sup>1</sup>、病理科<sup>2</sup>

通信作者: 王琳, Email: zjnbdf@163.com

Th17/Treg) and related cytokines [transforming growth factor- $\beta$  (TGF- $\beta$ ), IL-10, IL-17 and interferon (IFN)- $\gamma$ ] in the peripheral blood were compared between the two groups. The risk factors of HPV infection in CIN patients analyzed by multivariate Logistic regression model. **Results** No significant difference were found in the expression of CD3, CD4 and CD8 between the two groups. No significant difference were found in CD3<sup>+</sup> T cell, CD4<sup>+</sup> T cell and CD8<sup>+</sup> T cell ( $t = 0.870, 1.509, 0.236; P = 0.385, 0.133, 0.813$ ). The level of CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> Treg, CD8<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>CD127<sup>-</sup>Treg, CD4<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup> Treg, CD8<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup> Treg, CD4<sup>+</sup>IL17<sup>+</sup> Th17 and Th17/Treg in infection group were significantly higher than those of non-infection group (all  $P < 0.05$ ). The levels of TGF- $\beta$ , IL-10 and IL-17 were significantly higher in infection group than those of non-infection group ( $t = -11.601, -42.251, -40.31; all P < 0.001$ ); but the level of IFN- $\gamma$  was significantly lower in infection group than that of non-infection group ( $t = 10.316, P < 0.001$ ). Multivariate Logistic regression models showed that CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> Treg ( $OR = 3.673, P = 0.031$ ), CD4<sup>+</sup>IL17<sup>+</sup> Th17 ( $OR = 1.974, P = 0.021$ ) and Th17/Treg ( $OR = 3.585, P = 0.024$ ) were all risk factors for HPV infection for patients with CIN. IFN- $\gamma$  was a protective factor for HPV infection for patients with CIN ( $OR = 2.812, P = 0.028$ ). **Conclusions** There were correlation between HPV infection and Th17 cell, Treg cell and IFN- $\gamma$  of CIN patients. CIN patients with HPV infection had increased Th17 cell and Treg cell and decreased IFN- $\gamma$ .

**【Key words】** Cervical intraepithelial neoplasia; Human papillomavirus; Th17 cell; Treg cell; Cytokine

宫颈上皮内病变 (cervical intraepithelial neoplasia, CIN) 是女性常见的宫颈癌前病变, 其发生发展与人乳头状瘤病毒 (human papillomavirus, HPV) 密切相关。伴有HPV感染, 尤其是高危型HPV感染的CIN患者, 宫颈癌发病率大大增加<sup>[1]</sup>。目前针对CIN的主要治疗方式为锥切手术治疗, 针对HPV本身的药物、物理治疗等疗效通常不佳, 同时因术前宫颈活检标本局限、肉眼评估病变范围存在差异、局部出现微浸润等要素, 导致不同程度的手术切缘不净, 影响患者后续治疗及康复进程<sup>[2]</sup>。随着肿瘤免疫学和分子生物学的迅速发展, 免疫及生物治疗在人类各系统肿瘤中起到重要作用。Treg和Th17细胞是CD4<sup>+</sup> T细胞分化而来的一组T细胞亚型, 这两类细胞均可以使机体出现免疫耐受, 与病毒和肿瘤的免疫逃逸有重要关系<sup>[3]</sup>。国外研究发现, Th17和Treg细胞以及两类细胞分泌的细胞因子在宫颈癌HPV感染者中有差异, 通过恢复Th17和Treg细胞稳态及抑制其分泌的细胞因子变化, 可作为有效治疗此类肿瘤的新手段<sup>[4-5]</sup>, 但上述标记物在HPV感染的CIN患者中的变化报道较少, 为此, 本文对140例CIN患者进行前瞻性研究, 旨在探讨HPV感染的CIN患者Th17和Treg细胞及相关细胞因子的变化, 为CIN患者治疗寻找更有效的治疗方法, 现报道如下。

## 资料与方法

### 一、研究对象

选择2017年2月至2018年9月于新疆自治区人

民医院就诊的140例CIN患者, 其中CIN I级患者43例, CIN II级患者57例, CIN III级患者40例。根据是否感染HPV分为感染组 (86例) 和非感染组 (54例)。本研究设计已由新疆维吾尔自治区人民医院伦理学委员会审核 (批件编号: XJS2017020809), 并与患者本人或其家属签署知情同意书。

**诊断标准:** 入组患者均符合《WHO子宫颈肿瘤组织学分类 2014》<sup>[6]</sup>中CIN的诊断标准, 即子宫颈鳞状上皮出现非典型增生且未突破基底膜。

**纳入标准:** ①患者年龄为18~65岁; ②无宫颈急性感染性病变; ③无宫颈原发及继发肿瘤性病变; ④一般情况尚可, 能耐受实验室相关检查; ⑤首发病例, 无前期治疗干扰; ⑥依从性强, 能完整完成实验所需各种检查。

**排除标准:** ①合并严重心血管、肾、脑、造血系统等相关疾病; ②免疫功能相关指标低下; ③凝血功能指标异常; ④严重过敏体质; ⑤孕妇及哺乳期女性。

### 二、仪器设备与试剂

免疫组织化学所用一抗为抗-CD3 (ab16669)、抗-CD4 (ab133616)、抗-CD8 (ab4055)、抗-Th17 (ab169809) 和抗-FOX3 (Treg) (ab20034) 均购自Abcam公司 (Cambridge, MA, USA); 二抗为通用型IgG抗体-辣根过氧化物酶 (horse radish peroxidase, HRP) 多聚体。流式细胞分析仪 (Attune NxT型) 购自美国赛默飞公司, 异硫氰酸荧光素 (fluorescein isothiocyanate, FITC) 抗-CD25 (IM0130), 藻红蛋白 (phycoerythrin, PE) -

抗-CD127 (B25330), (PE-cy5)-抗-CD4 (B25330), 别藻蓝素 (allophycocyanin, APC)-抗-CD3 (A07750), (PE-Cy7)-抗-CD8 (IM0398), 抗-PE-叉头家族蛋白 (Forkhead family protein 3, Foxp3) (A07750) 和同型对照抗体均购自美国Beckman公司, PE-labeled IL-17A 单克隆抗体 (No. ebio64DEC17) 购自美国eBioscience公司。多功能酶标仪 (SpectraMax iD5型) 购自美国Molecular Devices公司, 转化生长因子 $\beta$  (transforming growth factor- $\beta$ , TGF- $\beta$ ) 检测试剂盒 (ML-0014)、IL-10检测试剂盒 (ML-0056)、IL-17检测试剂盒 (ML-0031) 和干扰素 (interferon, IFN)- $\gamma$  检测试剂盒 (ML-0316) 购自上海酶联生物科技有限公司。

### 三、方法

1. HPV检测: 入组患者性生活禁止2 d后, 将HPV专用采样棉签放置于宫颈口1 min后置于试管中4 °C保存, 采用杂交捕获二代法进行检测, 试剂盒为凯杰公司高危型HPV核酸检测试剂盒, 严格按照试剂盒说明书进行操作, HPV载量RLU/CO, > 1为阳性,  $\leq$  1为阴性。

2. 观察指标: 比较两组患者宫颈组织及外周血T细胞亚群含量、Treg细胞和Th17细胞含量以及外周血中相关细胞因子含量的差异。

(1) 外周血T细胞亚群含量: 采用免疫组织化学方法比较两组患者CIN组织周围T细胞中CD3、CD4和CD8水平。采用流式细胞仪监测外周血CD3<sup>+</sup>T细胞、CD4<sup>+</sup>T细胞、CD8<sup>+</sup>T细胞的百分比及CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>。

(2) Treg细胞和Th17细胞含量: 采用免疫组织化学方法比较两组患者CIN组织周围T细胞亚型Treg和Th17的表达水平, 采用流式细胞术监测外周血CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg、CD8<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>CD127<sup>-</sup>Treg、CD4<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup>Treg、CD8<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup>Treg、CD4<sup>+</sup>IL17<sup>+</sup>Th17以及Th17/Treg。

(3) 细胞因子: 采用ELISA法检测两组患者外周血TGF- $\beta$ 、IL-10、IL-17和IFN- $\gamma$ 。

3. 检测方法: 所用外周血待测样本: 所有患者均抽取静脉血5 ml, 经高速冷冻离心机3 000 r/min离心15 min (离心半径r = 10 cm), 分离血清置于-70 °C冰箱冷冻待用。

免疫组织化学染色情况由2名副主任或以上病理医师分别评估。着色肿瘤细胞 $\geq$  1%定义为阳

性。染色强度分级如下: 0 = 无染色; 1 = 轻度 ( $\leq$  20%的肿瘤细胞出现微弱或中等阳性); 2 = 中度 (> 20%肿瘤细胞出现微弱或中等阳性); 3 = 高度 ( $\geq$  70%肿瘤细胞出现中等或完全阳性)。

细胞因子ELISA检测操作严格按照试剂盒的说明书进行。

### 四、统计学处理

数据处理应用SPSS 23.0软件, 计量资料 (年龄、BMI、孕次及两组患者外周血T细胞亚群含量及Treg和Th17细胞含量和外周血相关因子含量中的各指标均呈正态分布, 以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用t检验; 计数资料 (并发症和既往史中各指标) 采用例 (%) 表示, 组间差异采用Pearson  $\chi^2$  检验。应用多因素Logistic回归分析CIN患者感染HPV的相关危险因素和保护因素, 以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

## 结 果

### 一、入组患者的一般资料

两组患者的一般资料差异无统计学意义 ( $P$ 均> 0.05), 详见表1。

### 二、两组患者外周血T细胞亚群含量及Treg和Th17细胞含量

流式细胞检测结果显示, 两组患者CD3<sup>+</sup>T细胞、CD4<sup>+</sup>T细胞、CD8<sup>+</sup>T细胞百分比差异无统计学意义 ( $P$ 均> 0.05)。CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg、CD8<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>CD127<sup>-</sup>Treg、CD4<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup>Treg、CD8<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup>Treg和CD4<sup>+</sup>IL17<sup>+</sup>Th17以及Th17/Treg均显著高于非感染组, 差异均有统计学意义 ( $P$ 均< 0.05), 见表2。

### 三、两组患者外周血相关因子含量

感染组患者外周血TGF- $\beta$ 、IL-10和IL-17均高于非感染组, IFN- $\gamma$ 低于非感染组, 差异均有统计学意义 ( $P$ 均< 0.05), 见表3。

### 四、CIN患者感染HPV的多因素Logistic回归分析

将CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg、CD8<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>CD127<sup>-</sup>Treg、CD4<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup>Treg、CD8<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup>Treg、CD4<sup>+</sup>IL17<sup>+</sup>Th17、Th17/Treg以及TGF- $\beta$ 、IFN- $\gamma$ 、IL-10和IL-17共10项存在统计学差异的指标赋值, 多因素Logistic回归分析显示, CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg ( $OR = 3.673$ 、 $P = 0.031$ )、CD4<sup>+</sup>IL17<sup>+</sup>Th17 ( $OR = 1.974$ 、

表1 感染组和非感染组患者的一般资料

一般资料	非感染组 (54例)	感染组 (86例)	统计量	P值
年龄 ( $\bar{x} \pm s$ , 岁)	45.26 $\pm$ 5.32	44.75 $\pm$ 5.34	$t = 0.550$	0.582
BMI ( $\bar{x} \pm s$ , kg/m <sup>2</sup> )	21.42 $\pm$ 2.63	21.79 $\pm$ 2.19	$t = -0.899$	0.369
孕次 ( $\bar{x} \pm s$ , 次)	1.45 $\pm$ 0.56	1.51 $\pm$ 0.58	$t = -0.603$	0.547
并发症 [例 (%)]				
急性感染	0 (0.00)	0 (0.00)	$\chi^2 = 0.044$	0.833
慢性感染	6 (11.11)	8 (9.30)	$\chi^2 = 0.003$	0.953
高血压	4 (7.40)	7 (8.14)	$\chi^2 = 0.027$	0.868
糖尿病	4 (7.41)	8 (9.30)	$\chi^2 = 0.006$	0.936
心血管疾病	6 (11.11)	9 (10.46)	$\chi^2 = 0.025$	0.872
其他系统肿瘤	2 (3.70)	4 (4.65)	$\chi^2 = 0.025$	0.873
既往史 [例 (%)]				
吸烟史	1 (1.85)	3 (3.49)	$\chi^2 = 0.001$	0.964
饮酒史	7 (12.96)	13 (15.11)	$\chi^2 = 0.011$	0.915
宫颈手术史	5 (9.26)	8 (9.30)	$\chi^2 = 0.084$	0.771

表2 两组患者外周血 T 细胞亚群含量及 Treg 和 Th17 细胞含量 ( $\bar{x} \pm s$ , %)

组别	例数	CD3 <sup>+</sup> T	CD4 <sup>+</sup> T	CD8 <sup>+</sup> T	CD4 <sup>+</sup> CD25 <sup>+</sup>	CD8 <sup>+</sup> CD25 <sup>+</sup> CD127 <sup>-</sup> Treg
感染组	86	53.11 $\pm$ 13.34	43.23 $\pm$ 9.89	30.35 $\pm$ 8.34	13.11 $\pm$ 2.34	2.55 $\pm$ 1.34
非感染组	54	55.23 $\pm$ 14.56	45.56 $\pm$ 8.21	30.69 $\pm$ 8.23	6.23 $\pm$ 2.56	1.69 $\pm$ 1.23
$t$ 值		0.870	1.509	0.236	-15.991	-1.621
$P$ 值		0.385	0.133	0.813	< 0.001	< 0.001

  

组别	例数	CD4 <sup>+</sup> Foxp3 <sup>+</sup> Treg	CD8 <sup>+</sup> CD25 <sup>+</sup> Foxp3 <sup>+</sup> Treg	CD4 <sup>+</sup> IL17 <sup>+</sup> Th17	Th17/Treg
感染组	86	6.33 $\pm$ 1.36	0.75 $\pm$ 0.21	3.35 $\pm$ 1.38	0.25 $\pm$ 0.11
非感染组	54	2.67 $\pm$ 1.41	0.29 $\pm$ 0.12	0.97 $\pm$ 0.61	0.12 $\pm$ 0.06
$t$ 值		-15.154	-16.492	-13.985	-9.036
$P$ 值		< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001

表3 两组患者外周血相关因子含量 ( $\bar{x} \pm s$ , pg/ml)

组别	例数	TGF- $\beta$	IFN- $\gamma$	IL-10	IL-17
感染组	86	45 781.67 $\pm$ 14 276.12	8.24 $\pm$ 4.12	121.71 $\pm$ 17.86	176.81 $\pm$ 19.45
非感染组	54	22 360.45 $\pm$ 9 612.87	15.23 $\pm$ 3.76	24.67 $\pm$ 9.23	61.54 $\pm$ 17.35
$t$ 值		-11.601	10.316	-42.251	-40.310
$P$ 值		< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001

表4 CIN 患者感染 HPV 的多因素 Logistic 回归分析

影响因素	B值	标准误	Wald值	P值	OR值	95%CI
CD4 <sup>+</sup> CD25 <sup>+</sup> Treg	1.687	0.356	3.151	0.031	3.673	1.723~5.198
CD8 <sup>+</sup> CD25 <sup>+</sup> CD127 <sup>-</sup> Treg	0.823	0.326	1.147	0.204	2.798	1.238~3.887
CD4 <sup>+</sup> Foxp3 <sup>+</sup> Treg	0.587	0.387	2.334	0.078	2.145	1.291~2.764
CD8 <sup>+</sup> CD25 <sup>+</sup> Foxp3 <sup>+</sup> Treg	0.675	0.397	1.786	0.141	2.359	1.526~3.823
CD4 <sup>+</sup> IL17 <sup>+</sup> Th17	0.478	0.256	4.125	0.021	1.974	0.511~2.864
Th17/Treg	1.568	0.364	3.908	0.024	3.585	1.986~5.348
TGF- $\beta$	0.603	0.319	2.472	0.094	2.163	1.349~3.187
IFN- $\gamma$	-0.888	0.179	3.232	0.028	0.612	0.752~3.242
IL-10	0.503	0.253	2.965	0.064	1.108	0.675~1.921
IL-17	0.240	0.287	2.276	0.087	1.272	0.845~1.812

$P=0.021$ )和Th17/Treg ( $OR=3.585$ 、 $P=0.024$ )为CIN患者感染HPV的危险因素,IFN- $\gamma$ 为CIN患者感染HPV的保护因素( $OR=0.612$ 、 $P=0.028$ )。

## 讨 论

HPV感染为CIN的重要病因,感染HPV的CIN患者,尤其是高危型HPV常导致高级别CIN,即异常增生的宫颈上皮细胞超过总上皮细胞的三分之一,该类患者发展为宫颈癌的可能性较大<sup>[7]</sup>。大部分情况下,HPV感染具有自限性,机体可通过体液免疫和细胞免疫将HPV清除,由此可见免疫调控在宫颈CIN和宫颈癌的发生发展中扮演重要角色<sup>[8]</sup>。因针对HPV感染的CIN药物治疗存在局限性,目前对于低级别CIN(异常增生的宫颈上皮细胞低于总上皮细胞的三分之一)主要以观察随诊为主,高级别CIN则依赖手术治疗<sup>[9]</sup>。如果能够发现HPV感染型CIN的免疫学特点,通过免疫方法治疗该类CIN,则能够很大程度上弥补当前CIN治疗的局限性,减少不必要的手术创伤。

Treg细胞和Th17细胞为两种免疫细胞,两者均为CD4<sup>+</sup> T细胞的亚细胞群,这两类细胞通过分泌相关细胞因子发挥免疫调节作用<sup>[10]</sup>。其中,Treg细胞是一类免疫抑制细胞,可分泌TGF- $\beta$ 、IL-10、IL-17和Foxp3等多种细胞因子,主要维持机体的免疫耐受和免疫平衡,对自身免疫性疾病的发生有较好的抑制作用<sup>[11]</sup>。Th17细胞可分泌IL-10,IL-10是一种免疫抑制因子,在机体免疫过程中发挥较强的负性免疫调节作用,与Treg细胞协同参与自身免疫性疾病的预防及调节<sup>[12]</sup>。研究发现,在宫颈癌等诸多系统肿瘤中存在Treg细胞和Th17细胞数量异常,提示这两种细胞及其比例平衡的稳态是抑制肿瘤形成及进展的重要因素<sup>[13-14]</sup>。

本研究发现,HPV感染的CIN患者Treg细胞和Th17细胞水平均显著增高。在HPV感染所致CIN中,不同类型的Treg细胞协同发生针对HPV的免疫耐受作用<sup>[15-16]</sup>,同时抑制其他免疫细胞的抗HPV和抗肿瘤形成作用,如Foxp3引入Treg细胞中可形成Foxp3<sup>+</sup> Treg细胞,Foxp3<sup>+</sup> Treg细胞可阻止CD8<sup>+</sup> T细胞的抗肿瘤机制<sup>[17]</sup>,从而破坏机体免疫系统的正常免疫防御功能,加速HPV感染后CIN的恶化和肿瘤演化。Jayra等<sup>[18]</sup>和Huang等<sup>[19]</sup>分别发现在消化道、妇科等肿瘤中均存在CD127<sup>+/+</sup>-Treg细胞和Foxp3<sup>+</sup>

Treg细胞上调,与本研究结果一致。Th17细胞与Treg细胞在很多肿瘤发生与进展中存在一致性变化;研究发现在肿瘤形成过程中,Treg细胞会分泌细胞因子IL-17,该因子可使Treg细胞向Th17细胞转化,导致Th17细胞相应增加,两者协同作用放大机体对诱变成分的免疫抑制机制,加速病变的恶性转化<sup>[20]</sup>。同时,Th17/Treg值取决于病变的恶性程度,在恶性病变进展较快的组织中,Treg细胞向Th17细胞的转化速度较快,Th17/Treg值较高<sup>[21]</sup>。与Saini等<sup>[3]</sup>报道一致。同时,多因素Logistic回归分析显示,Treg细胞和Th17细胞增高可提示CIN患者感染HPV的可能性增加,进一步证明这些免疫细胞的免疫抑制作用是机体无法抵抗HPV侵袭的重要因素。

此外,本研究中感染组患者IFN- $\gamma$ 水平显著低于非感染组,提示HPV感染的CIN患者中IFN- $\gamma$ 含量降低。IFN- $\gamma$ 是一种免疫杀伤因子,由CTL细胞和NK细胞分泌,在感染、肿瘤等病变中可增加机体的免疫活性<sup>[22]</sup>。Treg细胞通过抑制CTL细胞和NK细胞的活性降低IFN- $\gamma$ 分泌,从而减弱IFN- $\gamma$ 的正向免疫调节作用<sup>[23]</sup>。多因素Logistic回归分析显示,IFN- $\gamma$ 可提示CIN患者感染HPV的可能性较小,可见提高IFN- $\gamma$ 含量及增强IFN- $\gamma$ 活性能够有效抵御HPV感染。实际上导致宫颈感染及CIN的病原体还有沙眼衣原体等,但HPV是目前监控CIN的主要指标,故本研究主要探讨HPV感染状态下CIN的相关病理变化。

综上,CIN患者HPV感染状态与Treg细胞、Th17细胞及IFN- $\gamma$ 因子存在相关性,HPV感染的CIN患者Treg细胞和Th17细胞水平增高,IFN- $\gamma$ 水平降低。

## 参 考 文 献

- [1] Vorobjova T, Ress K, Luts K, et al. The impact of langerin (CD207)<sup>+</sup> dendritic cells and FOXP3<sup>+</sup> Treg cells in the small bowel mucosa of children with celiac disease and atopic dermatitis in comparison to children with functional gastrointestinal disorders[J]. *APMIS*,2016,124(8):689-696.
- [2] Jung MK, Kwak JE, Shin EC. IL-17A-producing Foxp3<sup>+</sup> regulatory T cells and human diseases[J]. *Immune Netw*,2017,17(5):276-286.
- [3] Saini C, Siddiqui A, Ramesh V, et al. Leprosy reactions show increased Th17 cell activity and reduced FOXP3<sup>+</sup> Tregs with concomitant decrease in TGF- $\beta$  and increase in IL-6[J]. *PLoS Negl Trop Dis*,2016,10(4): 592-594.
- [4] Que Y, Xiao W, Guan YX, et al. PD-L1 expression is associated with FOXP3<sup>+</sup> regulatory T-cell infiltration of soft tissue sarcoma and poor

- patient prognosis[J]. *J Cancer*,2017,8(11):2018-2025.
- [5] Kim YU, Kim BS, Lim H, et al. Enforced expression of CXCR5 drives T follicular regulatory-like features in Foxp3<sup>+</sup> T cells[J]. *Biomol Ther(Seoul)*,2017,25(2):130-139.
- [6] 许春伟, 张博, 薛卫成. WHO(2014)子宫颈肿瘤组织学分类[J]. *临床与实验病理学杂志*,2014,30(11):1324-1326.
- [7] Becker W, Nagarkatti M, Nagarkatti PS. miR-466a targeting of TGF- $\beta$ 2 contributes to Foxp3<sup>+</sup> regulatory T cell differentiation in a murine model of allogeneic transplantation[J]. *Front Immunol*,2018,9(4):688-693.
- [8] 李一冰, 姚秀华. 调节性T细胞对宫颈上皮内瘤变 I 级患者预后的影响[J]. *齐齐哈尔医学院学报*2016,34(9):35-36.
- [9] Tan YJ, Xie CX, Zhang H, et al. The clinical significance of regulatory T cells, IFN- $\gamma$  and IL-4 in patients of cervical cancer[J]. *Lab Med Clin*,2016,22(6)356-357.
- [10] Network CGA. Integrated genomic and molecular characterization of cervical cancer[J]. *Nature*,2017,543(5):378-384.
- [11] Xue JS, Wang YL, Chen C, et al. Effects of Th17 cells and IL-17 in the progression of cervical carcinogenesis with high-risk human papillomavirus infection[J]. *Cancer Med*,2018,7(2): 297-306.
- [12] Tsikouras P, Zervoudis S, Manav B, et al. Cervical cancer: screening, diagnosis and staging[J]. *J Buon*,2016,21(2):320-325.
- [13] Kessler TA. Cervical cancer: Prevention and early detection[J]. *Semin Oncol Nurs*,2017,33(2):172-174.
- [14] Huang C, Zhou L, Chang X, et al. B7-H3, B7-H4, Foxp3 and IL-2 expression in cervical cancer: Associations with patient outcome and clinical significance[J]. *Oncol Rep*,2016,35(4):2183-2187.
- [15] Hui F, Dong S, Zhong Y, et al. Up-regulated microRNA-155 expression is associated with poor prognosis in cervical cancer patients[J]. *Biomed Pharmacother*,2016,83(5):64-69.
- [16] Shen CJ, Cheng YM, Wang CL. LncRNA PVT1 epigenetically silences miR-195 and modulates EMT and chemoresistance in cervical cancer cells[J]. *J Drug Target*,2017,25(7):637-641.
- [17] Enerly E, Bonde J, Schee K, et al. Self-sampling for human papillomavirus testing among non-attenders increases attendance to the norwegian cervical cancer screening programme[J]. *PLoS One*,2016,11(4):78-79.
- [18] Jayra J, Thales Allyrio A, Josélio M, et al. Th17 response in patients with cervical cancer[J]. *Oncology Letters*,201816(5):6215-6227.
- [19] Huang J, Wang L, Dahiya S, et al. Histone/protein deacetylase 11 targeting promotes Foxp3<sup>+</sup> Treg function[J]. *Sci Rep*,2017,7(1):8626-8629.
- [20] Avielronen S, Rubinek T, Zadok O, et al. Klotho expression in cervical cancer: differential expression in adenocarcinoma and squamous cell carcinoma[J]. *J Clin Pathol*,2016,69(1):53-57.
- [21] He Y, Lin J, Ding Y, et al. A systematic study on dysregulated microRNAs in cervical cancer development[J]. *Int J Cancer*,2016,138(6):1312-1327.
- [22] Novalamperti E, Fanelli G, Becker PD, et al. IL-10-produced by human transitional B-cells down-regulates CD86 expression on B-cells leading to inhibition of CD4<sup>+</sup> T-cell responses[J]. *Sci Rep*,2016,6(2):44-45.
- [23] Esterházy D, Loschko J, London M, et al. Classical dendritic cells are required for dietary antigen-mediated induction of peripheral Treg cells and tolerance[J]. *Nat Immunol*,2016,17(5):545-546.

(收稿日期: 2019-01-06)

(本文编辑: 孙荣华)

焦楨, 付娟娟, 王琳. 宫颈上皮内病变患者人乳头状瘤病毒感染与 Th17 细胞、Treg 细胞及相关细胞因子表达的相关性[J/CD]. *中华实验和临床感染病杂志 (电子版)*, 2019,13(4):281-286.