

本文引文格式:卢静,邱丽芳,凌海瑞,等. IL-33/ST2 轴在 HCC 中的表达及临床相关性研究[J]. 右江民族医学院学报, 2020, 42(6): 588-591.

【论著与临床报道】

## IL-33/ST2 轴在 HCC 中的表达及临床相关性研究

卢静<sup>1</sup>, 邱丽芳<sup>1</sup>, 凌海瑞<sup>1</sup>, 白思特<sup>1</sup>, 邓益斌<sup>2</sup>, 赵立峰<sup>2</sup>, 林成<sup>2</sup>, 韦忠恒<sup>2</sup>

(1. 右江民族医学院研究生学院, 广西 百色 533000;

2. 右江民族医学院附属医院, 广西 百色 533000)

**摘要:**目的 通过测定比较分析肝细胞癌(HCC)患者外周血、癌组织及癌旁组织中的 IL-33 及 ST2 的含量变化,探讨 IL-33/ST2 轴表达与 HCC 的临床相关性。**方法** ELISA 分别测定观察组(原发性 HCC 患者)52 例与对照组(健康成年人)50 例血清中的 IL-33/ST2 的含量,化学发光法检测其 AFP 的含量,另外免疫组化法检测观察组中 40 例接受外科手术患者癌组织与癌旁组织中的 IL-33/ST2 的表达;比较分析 IL-33/ST2 在 HCC 患者血清、癌组织及癌旁组织中的表达情况,以及性别、年龄、HBV、AFP、肿瘤大小等因素的临床关联性。**结果** 观察组血清中 IL-33 的含量与对照组相比差异无统计学意义( $P > 0.05$ );观察组血清中 ST2 的水平较对照组明显升高,差异具有统计学意义( $P < 0.05$ );IL-33/ST2 轴血清表达与患者的年龄、性别、AFP 浓度、HBV 感染均无关( $P > 0.05$ )。IL-33 及 ST2 在癌组织中的阳性表达均低于癌旁组织,差异有统计学意义( $P < 0.05$ );另外,IL-33 及 ST2 在癌组织中的血管内皮可见表达,而癌旁组织的血管内皮处未见表达;癌组织及癌旁组织的炎性细胞聚集处可见 ST2 表达,未发现 IL-33 表达。**结论** HCC 患者的血清 ST2 高表达,IL-33/ST2 在 HCC 癌组织及其血管内皮中的低表达,而 ST2 只在癌及癌旁组织的炎性细胞聚集处均有表达;由此认为,IL-33/ST2 轴可能参与肝癌细胞的血管生成和微环境中的炎性反应,与 HBV 感染和 AFP 浓度无关,可进一步研究 IL-33/ST2 轴作用机制,寻找 HCC 早期筛查新的潜在标志物和治疗靶点。

**关键词:** IL-33; ST2; 肝细胞, 肿瘤; HBV; AFP

**中图分类号:** R735.7

**文献标识码:** A

**文章编号:** 1001-5817(2020)06-0588-04

doi:10.3969/j.issn.1001-5817.2020.06.011

### Expression of IL-33/ST2 axis in HCC and its clinical correlation with HCC

Lu Jing<sup>1</sup>, Qiu Lifang<sup>1</sup>, Ling Hairui<sup>1</sup>, Bai Site<sup>1</sup>, Deng Yibin<sup>2</sup>, Zhao Lifeng<sup>2</sup>, Lin Cheng<sup>2</sup>, Wei Zhongheng<sup>2</sup>

(1. Graduate School of Youjiang Medical University for Nationalities, Baise 533000, Guangxi, China;

2. Affiliated Hospital of Youjiang Medical University for Nationalities, Baise 533000, Guangxi, China)

**Abstract:** **Objective** To investigate the clinical correlation between the expression of IL-33/ST2 axis and HCC by comparing and analyzing the changes of IL-33 and ST2 levels in peripheral blood, cancer tissues and adjacent tissues of patients with hepatocellular carcinoma (HCC). **Methods** The levels of IL-33 and ST2 in the serum of 52 patients in the observation group (primary HCC patients) and of 50 cases in the control group (healthy adults) were measured by ELISA, and their levels of AFP was detected by chemiluminescence. In addition, the expressions of IL-33 and ST2 in the cancer tissues and adjacent tissues of 40 patients in the observation group who had received surgical treatment were detected by immunohistochemistry. The expressions of

**基金项目:**百色市科学研究与技术开发计划课题(20170810);右江民族医学院附属医院 2019 年度第一批高层次人才科研项目(R20196327)

**第一作者简介:**卢静(1992-),女,在读硕士研究生,主治医师,研究方向:肝癌的基础与临床研究,E-mail:1412200135@qq.com

**通讯作者简介:**韦忠恒(1968-),男,教授,主任医师,硕士研究生导师,研究方向:肝癌的基础与临床研究,E-mail:weizhongh1968@163.com

IL-33 and ST2 in the serum, cancer tissues and adjacent tissues of HCC patients were compared and analyzed, as well as their clinical correlation with gender, age, HBV, AFP, tumor size and other factors. **Results** There was no significant difference in serum IL-33 level between the observation group and the control group ( $P > 0.05$ ). The serum level of ST2 in the observation group was significantly higher than that in the control group, and the difference was statistically significant ( $P < 0.05$ ). Serum expressions of IL-33 and ST2 axis were not correlated with age, gender, AFP concentration or HBV infection ( $P > 0.05$ ). The positive expressions of IL-33 and ST2 in cancer tissues were lower than those in adjacent tissues, and the difference was statistically significant ( $P < 0.05$ ). In addition, IL-33 and ST2 were expressed in the vascular endothelium of cancer tissues, while no expression was found in the vascular endothelium of adjacent tissues. The expression of ST2 was found in the aggregation sites of inflammatory cells in the cancer tissues and adjacent tissues, but no IL-33 expression was found. **Conclusion** ST2 is highly expressed in the serum of HCC patients, while IL-33 and ST2 were low expressed in HCC cancer tissues and their vascular endothelium. However, ST2 is only expressed in the aggregation sites of inflammatory cells in cancer tissues and adjacent tissues. Therefore, IL-33 and ST2 axis may be involved in the angiogenesis of hepatocellular carcinoma cells and the inflammatory response in the microenvironment, and it is not associated with HBV infection and AFP concentration. The mechanism of IL-33 and ST2 axis can be further studied to find new potential markers and therapeutic targets for early screening of HCC.

**Key words:** IL-33; ST2; hepatocyte, tumor; HBV; AFP

肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是世界很常见的消化道恶性肿瘤,在癌症死亡中居第三位,发病主要与 HBV 感染、长期酗酒、黄曲霉毒素摄入等有关<sup>[1]</sup>,高死亡率原因主要是由于肿瘤的进展和转移,但是其肿瘤发生、发展、转移的机制至今还不为人所知。IL-33(Interleukin-33)是 IL-1 家族的一个细胞因子,具有广泛的免疫调节功能,ST2 及 IL-1 受体辅助蛋白(IL-1receptor accessory protein, IL-1RAcP)组成的二聚体是 IL-33 的受体<sup>[2]</sup>,有研究认为 IL-33/ST2 在血清中的表达与患者的年龄、性别、AFP 浓度无相关性<sup>[3]</sup>,也有研究证实 IL-33 mRNA、ST2 mRNA 在肝癌细胞中的表达含量较与癌旁细胞的表达含量低<sup>[4]</sup>,而 IL-33/ST2 表达与 HCC 临床相关性研究较少。本实验拟通过测定比较分析 HCC 患者外周血、癌组织及癌旁组织中的 IL-33 及 ST2 的含量变化,探讨 IL-33/ST2 轴表达与 HCC 的临床相关性。

## 1 材料与方法

1.1 研究对象 收集 2018 年 1 月—2018 年 12 月在右江民族医学院附属医院肝胆外科和肿瘤科住院的 52 例 HCC 患者(观察组)的外周血(其中包括外科手术治疗的 HCC 患者癌组织及癌旁组织标本),同时收集同期常规体检者 50 例(对照组)的外周血作对比。所有受检者于抽血前晚需禁食 8 h 以上,于次日清晨 6 点抽取外周静脉血,送我院检验科进行 HBV-DNA 及 AFP 定量检测。另外用真空采血管采集外周静脉血 2~3 ml 台式离心机下 10000 r/min,离心 10 min,收集并分装血清后立即储存于-80℃冰箱中备用。

1.2 纳入标准 纳入标准如下:①年龄 18~80 岁,首次确诊,且未经任何治疗;②未合并严重器质性病变或者其他恶性肿瘤;③未合并自身免疫性疾病、药物性肝炎;④未合并 HIV、梅毒、EBV 感染者;⑤无妊娠;⑥告知患者,并通过伦理委员会审批同意。

1.3 主要试剂及仪器 ①人 IL-33 ELISA 试剂盒:英国 Abcam 公司;②人 ST2 ELISA 试剂盒:英国 Abcam 公司;③Anti-IL33 抗体:美国 PROTEINTECH 公司;④Anti-ST2 抗体:英国 Abcam 公司;⑤免疫组化检测试剂盒(鼠、兔来源一抗通用):北京中杉金桥公司(货号 YZ-PV-6000)。

1.4 血清 IL-33/ST2 的检测 采用酶联免疫吸附试验测定血清中 IL-33/ST2 水平,试剂盒由英国 Abcam 公司提供,严格按照试剂盒说明书进行操作。

1.5 血清 HBV 和 AFP 的检测 血清 HBV 标志物及 AFP 水平检测由本院检验科专业技术人员严格按照试剂盒说明书和仪器操作规程进行检测。

1.6 肝癌组织及癌旁组织中 IL-33/ST2 的表达检测 两组各取 40 例进行免疫组化检测。免疫组化学法检测肝癌组织及癌旁组织中 IL-33/ST2 的表达,结果判读<sup>[5]</sup>。

1.7 统计学方法 运用 SPSS 25.0 统计学软件对全部数据进行统计学分析。本实验中计量资料符合正态分布数据采用( $\bar{x} \pm s$ )表示;两独立样本比较,选用两样本  $t$  检验;计数资料采用频数表示,不同临床资料指标间 IL-33/ST2 表达率的比较采用  $\chi^2$  检验;采用 Pearson 进行相关性分析。以  $\alpha = 0.05$  作为检验水准,  $P$

$<0.05$  表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 血清中 IL-33/ST2 在观察组与对照组中的表达

HCC 患者血清中 IL-33 浓度低于对照组,但两者之间均数比较差异无统计学意义( $P=0.138$ );HCC 患者血清中 ST2 浓度明显高于对照组,且两者之间均数比较差异有统计学意义( $P<0.001$ ),见表 1。

表 1 两组血清中 IL-33/ST2 对比结果 pg/ml

组别	n	IL-33	ST2
观察组	52	16.56±4.98	798.65±232.18
对照组	50	17.78±6.61	135.42±57.62
t		1.056	19.969
P		0.294	<0.001

注:表内计量资料数据以( $\bar{x}\pm s$ )表示。

2.2 IL-33/ST2 在血清中的含量与 HCC 患者 AFP 含量、感染 HBV 的相关性 将收集到的 52 例 HCC 患者按是否有 HBV 感染分为:阳性组 38 例,阴性组 14 例;统计分析两组之间的 IL-33/ST2 含量显示:HBV 阳性 HCC 患者与 HBV 阴性 HCC 患者血清中的 IL-33/ST2 含量差异无统计学意义( $P>0.05$ ),HCC 患者血清中 IL-33 及 ST2 的含量与血清中 AFP 的含量无相关性( $r=0.159, P=0.260; r=-0.014, P=0.922$ )。

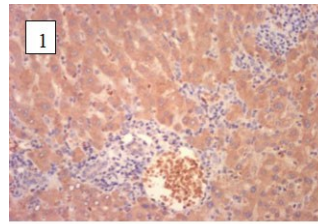
2.3 IL-33/ST2 在 HCC 组织与癌旁组织中的表达结果 IL-33 主要表达于细胞浆中;ST2 主要表达于细胞膜与细胞浆中,其中 ST2 在 HCC 组织细胞中的表达部位以细胞浆为主,ST2 在癌旁组织细胞中的表达部位以细胞膜为主;但在同一患者的标本中,HCC 组织中的血管内皮可见有 IL-33/ST2 的表达,而癌旁组织的血管内皮处未见 IL-33/ST2 的表达;HCC 组织及癌旁组织的炎性细胞聚集处未见 IL-33 的表达,但可见 ST2 表达强度较高。IL-33/ST2 在 HCC 组织中的阳性率低于与癌旁组织( $P<0.05$ ),结果见表 2。IL-33/ST2 在肝癌组织组及癌旁组织组中的免疫组化结果,见图 1~图 4。

表 2 IL-33/ST2 在 HCC 组织与癌旁

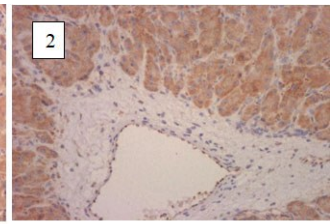
组织中的表达 pg/ml

组别	n	IL-33		ST2	
		+	-	+	-
HCC 癌组织	40	23(57.50)	17(42.50)	16(40.00)	24(60.00)
HCC 癌旁组织	40	38(95.00)	2(5.00)	26(65.00)	14(35.00)
$\chi^2$		15.531		5.013	
P		<0.001		0.025	

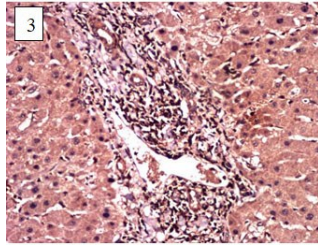
注:表内计数资料以频数(n)表示。



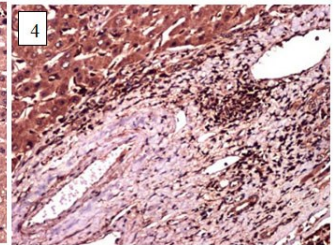
注:可见组织的血管周围有大量炎细胞浸润,血管内皮及周围炎细胞未见染色。  
图 1 癌旁组织 IL-33 染色 400 倍图



注:可见组织血管内皮染有黄色颗粒,周围炎细胞未见染色。  
图 2 癌组织 IL-33 染色 400 倍图



注:可见组织的血管周围有大量炎细胞浸润,周围炎细胞染色较深,血管内皮未见染色。  
图 3 癌旁组织 ST2 染色 400 倍图



注:可见组织血管内皮及周围炎细胞均有较深染色。  
图 4 癌组织 ST2 染色 400 倍图

2.4 IL-33/ST2 的表达水平与临床资料的比较 IL-33/ST2 的表达水平与患者的年龄、性别、肿瘤的大小、术前 AFP 浓度以及 HBV 感染比较均无统计学意义( $P>0.05$ )。见表 3。

表 3 肝癌组织中 IL-33/ST2 的表达与临床资料的比较

临床指标	n	IL-33		$\chi^2$	P	ST2		$\chi^2$	P
		+	-			+	-		
病例总数	40	23	17			16	24		
性别				0.045	0.831			0.012	0.914
男	36	21	15			15	21		
女	4	2	2			1	3		
年龄/岁				0.038	0.845			2.500	0.114
<50	24	14	10			12	12		
≥50	16	9	7			4	12		
肿瘤大小/cm				0.921	0.337			1.667	0.197
<5	20	10	10			10	10		
≥5	20	13	7			6	14		
肝硬化				<0.001	1.000			<0.001	1.000
有	33	19	14			13	20		
无	7	4	3			3	4		
HBV 感染				0.006	0.936			0.059	0.809
有	32	19	13			12	20		
无	8	4	4			4	4		
血清 AFP/(ng·ml <sup>-1</sup> )				0.273	0.601			0.156	0.693
≤20	16	10	6			7	9		
>20	24	13	11			9	15		

注:表内计数资料以(n)表示。

有研究证实 IL-33 mRNA、ST2 mRNA 在 HCC 细胞中的表达含量较与癌旁细胞的表达含量低,与非小细胞肺癌、结肠肿瘤中的表达情况相似<sup>[4]</sup>,本实验中 HCC 患者血清中 IL-33 的表达较健康人血清 IL-33 的表达水平低,与文献报道相符<sup>[6]</sup>;而 ST2 的表达在 HCC 患者血清中较健康人血清中的浓度明显升高,同时,IL-33/ST2 不管在血清还是组织中的表达与患者的年龄、性别、AFP 浓度、肿瘤直径等差异无统计学意义;通过本实验我们发现血清中 ST2 的含量变化较 IL-33 在 HCC 发生时更为早期,与文献报道的急性肝功能衰竭小鼠的模型中血清中 IL-33 蛋白水平及 ST2 蛋白水平的变化相似<sup>[7]</sup>。因此,血清中 ST2 有可能成为 HCC 早期筛查的肿瘤指标。在本实验中,IL-33/ST2 在 HCC 组织中的表达较癌旁组织中的阳性率均较低,提示 HCC 组织中 IL-33/ST2 低表达,与胃癌、胰腺癌、结肠癌的相关研究结果一致<sup>[4,8-9]</sup>,提示 IL-33/ST2 在 HCC 发生发展中可能发挥了一定的作用。另外,本实验中发现 IL-33/ST2 在癌组织中的血管内皮上有染色,而在癌旁组织中的血管内皮未见染色,提示 IL-33/ST2 可能与肝癌细胞浸润血管或者肝癌组织的血管生成有关系;有关胃癌患者血清中 IL-33 和血管内皮细胞因子 C (Vascular endothelial growth factor C, VEGF-C) 研究表明<sup>[10]</sup>,当两者均表达为阳性时,胃癌发生肝转移的机率会较高,预后相对较差,而乳腺癌患者中 IL-33 与 VEGF 也呈现高表达并呈正相关<sup>[11]</sup>。同时,我们发现 IL-33 在癌组织及癌旁组织中的淋巴细胞上均未见染色,而 ST2 在癌组织及癌旁组织中的淋巴细胞上染色较深,说明了其在肿瘤微环境中的炎症反应中可能发挥了一定作用;有研究也证明 T 淋巴细胞可以产生 IL-33 及其受体 ST2,尤其在 CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> T 细胞亚群上 ST2 在肿瘤组织中的表达较癌旁组织较高,并且在肿瘤微环境中存在着 IL-33/调节性 T 细胞(regulatory T cells, Tregs)轴,在由炎症向肿瘤的发生发展中起着重要的作用<sup>[12-13]</sup>。上述实验支持 IL-33 及其受体 ST2 与肿瘤的血管生成及转移有关,并且在肿瘤微环境中的炎症反应中起一定作用。

综上所述,HCC 患者的 ST2 血清水平较健康人明显升高,IL-33/ST2 在 HCC 癌组织中的表达均低于癌旁组织,其在癌组织中的血管内皮可见表达,而 ST2 在癌组织及癌旁组织的炎性细胞聚集处均可见表达;由此认为,IL-33 和 ST2 作为一个轴性整体参与 HCC 的血管生成和微环境中的炎症反应,与患者的年龄、性别、肿瘤的大小、术前 AFP 浓度以及是否感染 HBV

影响程度小,可进一步研究 IL-33/ST2 轴作用机制,寻找 HCC 早期筛查新的潜在标志物。

#### 参考文献:

- [1] 陈宏达,郑荣寿,王乐,等. 2019 年中国肿瘤流行病学研究进展[J]. 中华疾病控制杂志,2020,24(4):373-379.
- [2] Velickovic M, Pejnovic N, Petrovic R, et al. Expression of interleukin-33 and its receptor ST2 in periapical granulomas and radicular cysts[J]. J Oral Pathol Med, 2016, 45(1):70-76.
- [3] Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA Cancer J Clin, 2018, 68(6):394-424.
- [4] O'Donnell C, Mahmoud A, Keane J, et al. An antitumorigenic role for the IL-33 receptor, ST2L, in colon cancer[J]. Br J Cancer, 2016, 114(1):37-43.
- [5] 李璨,陆爽,吴君,等. 丹防胶囊对免疫性肝纤维化大鼠肝组织 IL-33 和 ST2 表达的影响[J]. 贵州医科大学学报, 2019, 44(4):435-440.
- [6] 沈菁,吴华,彭宁,等. Th17 细胞因子在原发性肝癌患者血清中的表达及其诊断价值[J]. 广西医科大学学报, 2017, 34(7):983-985.
- [7] Chen S, Wu L, Peng L, et al. Hepatitis B virus X protein (HBx) promotes ST2 expression by GATA2 in liver cells[J]. Mol Immunol, 2020, 123:32-39.
- [8] 夏兵祥,李凡,徐健,等. 白细胞介素-33 和血管内皮生长因子 C 在胃癌中的表达及临床意义[J]. 重庆医学, 2017, 46(15):2056-2059, 2062.
- [9] 顾小燕,吴昌平,蒋敬庭. CA19-9 和 IL-33 对胰腺癌的临床诊断价值分析[J]. 胃肠病学和肝病杂志, 2016, 25(10):1189-1192.
- [10] Gonciarz W, Krupa A, Chmiela M. Proregenerative Activity of IL-33 in Gastric Tissue Cells Undergoing Helicobacter Pylori-Induced Apoptosis[J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(5):1801.
- [11] Yang ZP, Ling DY, Xie YH, et al. The Association of Serum IL-33 and sST2 with Breast Cancer[J]. Dis Markers, 2015, 2015:516895.
- [12] Halvorsen EC, Franks SE, Wadsworth BJ, et al. IL-33 increases ST2<sup>+</sup> Tregs and promotes metastatic tumour growth in the lungs in an amphiregulin-dependent manner[J]. Oncoimmunology, 2019, 8(2):e1527497.
- [13] Ameri AH, Moradi TS, Zaalberg A, et al. IL-33/regulatory T cell axis triggers the development of a tumor-promoting immune environment in chronic inflammation[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2019, 116(7):2646-2651.

收稿日期:2020-06-21;修回日期:2020-07-30