

DOI:10.13210/j.cnki.jhmu.20170810.003

网络出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1049.R.20170810.1016.006.html> .

Th17 细胞功能与前列腺炎病程中炎症反应、细胞凋亡的相关性研究

刘悦, 刘新锋, 杨志勇

(广东省东莞市塘厦医院泌尿外科, 广东 东莞 523710)

[摘要] **目的:**探讨 Th17 细胞功能与前列腺炎病程中炎症反应、细胞凋亡的相关性。**方法:**收集本院收治的慢性前列腺炎患者 128 例,取同期在本院进行体检的健康男性 50 例作为正常对照组。对比两组研究对象外周血中 Th17 细胞比例、IL-17 含量,血清中炎症因子含量,前列腺液中凋亡基因表达量的差异。采用 Pearson 检验评估慢性前列腺炎患者外周血 Th17 细胞功能与炎症反应、细胞凋亡的相关性。**结果:**观察组外周血中 Th17 细胞的比例、IL-17 的含量高于正常对照组;血清中炎症因子 IL-1 β 、IL-2、IL-8、TNF- α 、M-CSF 的含量高于正常对照组;前列腺液中凋亡基因 BAX mRNA 表达量高于正常对照组,抗凋亡基因 BCL-2、livin、hPEBP4 mRNA 表达量低于正常对照组。经 Pearson 检验发现,慢性前列腺炎患者外周血中 Th17 细胞的比例、IL-17 的含量与血清中 IL-1 β 、IL-2、IL-8、TNF- α 、M-CSF 的含量以及前列腺液中 BAX 的 mRNA 表达量呈正相关,与前列腺液中 BCL-2、livin、hPEBP4 的 mRNA 表达量呈负相关。**结论:**慢性前列腺炎患者存在 Th17 细胞功能亢进,是导致患者全身炎症反应出现、前列腺细胞凋亡加剧的重要原因。

[关键词] 前列腺炎;Th17 细胞;炎症反应;细胞凋亡

[中图分类号] R697+.33 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-1237(2017)15-2064-03

Correlation of Th17 cell function with the inflammatory response and apoptosis in the course of prostatitis

LIU Yue, LIU Xin-feng, YANG Zhi-yong

(Department of Urinary Surgery, Dongguan Tangxia Hospital of Guangdong Province, Dongguan City, Guangdong Province, 523710)

[Foundation Project]: This study was supported by Project of Dongguan Science and Technology Bureau (201650715001064).

[Author]: LIU Yue (1982-), Male, Bachelor, Attending physician, Tel: 13412194717, E-mail: ww664717@sina.com.

Received: 2017-07-24 **Revised:** 2017-08-02

JHMC, 2017; 23(15): 2064-2066

View from specialist: It is creative, and of certain scientific and educational value.

[ABSTRACT] Objective: To study the correlation of Th17 cell function with the inflammatory response and apoptosis in the course of prostatitis. **Methods:** A total of 128 patients with chronic prostatitis who were treated in our hospital were enrolled as observation group, and 50 healthy males who received physical examination in our hospital during the same period were selected as normal control group. The differences in Th17 cell ratio and IL-17 levels in peripheral blood, inflammatory factor levels in serum, and apoptosis gene expression in prostatic fluid were compared between the two groups. Pearson test was used to assess the correlation of Th17 cell function in peripheral blood with inflammation and apoptosis in patients with chronic prostatitis. **Results:** Th17 cell ratio and IL-17 level in peripheral blood of observation group were higher than those of normal control group; inflammatory factors IL-1 β , IL-2, IL-8, TNF- α and M-CSF levels in serum were higher than those of normal control group; apoptosis gene BAX mRNA in prostatic fluid of observation group was higher than that of control group, while

[基金项目] 东莞市科技局项目(201650715001064)

[作者简介] 刘悦(1982-),男,本科,主治医师,电话:13412194717, E-mail: ww664717@sina.com.

[收稿日期] 2017-07-24 **[修回日期]** 2017-08-02 **网络出版时间:** 2017-08-10 10:16:11

anti-apoptosis genes Bcl-2, livin and hPEBP4 mRNA expressions of observation group were lower than those of normal control group. Pearson test results showed that Th17 cell ratio and IL-17 level in peripheral blood of patients with chronic prostatitis were positively correlated with IL-1 β , IL-2, IL-8, TNF- α and M-CSF levels in serum as well as BAX mRNA expression in prostatic fluid, and negatively correlated with Bcl-2, livin and hPEBP4 mRNA expression in prostatic fluid. **Conclusion:** There is Th17 cell hyperfunction in patients with chronic prostatitis, and it is an important cause of the systemic inflammatory response and prostate cell apoptosis aggravation.

[KEY WORDS] Prostatitis; Th17 cell; Inflammatory response; Apoptosis

慢性前列腺炎是中老年男性最常见的泌尿系统炎症性疾病,以尿道刺激性症状、慢性盆腔疼痛为主要表现,随病程延长患者多伴发精神心理症状^[1,2]。近年研究指出,免疫功能异常可能参与了慢性前列腺炎的发生发展,且可影响其临床治疗效果的获得。Th17 细胞是新发现的辅助性 CD4⁺ T 细胞亚群,其分泌的细胞因子 IL-17 是重要的促炎因子,参与多种炎症及恶性肿瘤性疾病的发生^[3,4],目前关于 Th17 细胞功能与慢性前列腺炎之间的相关关系研究开展不多。本次研究对比慢性前列腺炎及正常男性外周血中 Th17 细胞功能的差异,并进一步探讨 Th17 细胞功能对患者炎症反应、细胞凋亡的影响,以期明确 Th17 细胞在疾病发生发展中扮演的角色,为远期疾病治疗方案革新奠定基础。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取 2015 年 1 月~2016 年 12 月间本院收治的慢性前列腺炎患者 128 例作为观察组,取同期在本院进行体检的健康男性 50 例作为正常对照组,研究对象本人签署知情同意书。观察组年龄 48~76 岁,体重 56~82 kg;正常对照组年龄 45~78 岁,体重 59~85 kg。两组研究对象在年龄、体重分布中的差异不显著($P>0.05$),医院伦理委员会批准此研究开展。

入组标准:(1)符合慢性前列腺炎诊断标准;(2)既往无泌尿系手术史;(3)入院前未接受自主治疗。排除标准:(1)合并其他组织脏器严重感染性疾病;(2)合并泌尿系结石、肾功能不全;(3)合并恶性肿瘤性疾病。

1.2 Th17 细胞水平

入院即刻,抽取两组研究对象的空腹肘静脉血,抗凝后采用流式细胞仪测得其中 Th17 细胞比例,同时采用酶联免疫吸附法(ELISA)检测其中白介素-17(IL-17)的含量。

1.3 炎症因子

入院即刻,抽取两组研究对象的空腹肘静脉血,抗凝、低速离心后取上层血清,采用 ELISA 检测血清中白介素-1 β (IL-1 β)、白介素-2(IL-2)、白介素-8(IL-8)、肿瘤坏死因子 α (TNF- α)、巨噬细胞集落刺激因子(M-CSF)的含量。

1.4 细胞凋亡

入院即刻,取两组研究对象的前列腺液 1 mL,采用荧光定量 PCR 法检测其中凋亡基因 BAX、BCL-2、livin、hPEBP4 mRNA 的表达量。荧光定量 PCR 法检测步骤如下:Trizol 试剂裂解细胞 \rightarrow 氯仿、异丙醇沉淀总 RNA \rightarrow 清洗、干燥

RNA 沉淀 \rightarrow 紫外光吸收法测定 RNA 纯度及浓度 \rightarrow 反转录试剂盒合成样品 cDNA, \rightarrow 荧光定量 PCR 试剂盒扩增目标基因。

1.5 统计学处理

统计软件为 SPSS25.0。Th17 细胞比例属于计数资料,以百分数表示,比较采用卡方检验。IL-17、IL-1 β 、IL-2、IL-8、TNF- α 、M-CSF 含量,凋亡基因表达属于计量资料,以均数 \pm 标准差表示,比较采用成组 t 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 Th17 细胞水平

正常对照组外周血中 Th17 细胞比例(2.16 \pm 0.35)%、IL-17 含量(3.61 \pm 0.48)pg/mL;观察组患者外周血中 Th17 细胞比例(4.09 \pm 0.57)%、IL-17 含量(7.11 \pm 0.86)pg/mL。观察组患者外周血中 Th17 细胞比例、IL-17 含量均显著高于正常对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。

2.2 炎症因子

两组研究对象血清中炎症因子 IL-1 β (μ g/L)、IL-2(pg/mL)、IL-8(ng/L)、TNF- α (ng/mL)、M-CSF(μ g/L)含量的比较如下:观察组患者血清中炎症因子 IL-1 β 、IL-2、IL-8、TNF- α 、M-CSF 的含量显著高于正常对照组。两组研究对象血清中炎症因子 IL-1 β 、IL-2、IL-8、TNF- α 、M-CSF 含量的差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 1。

表 1 两组研究对象血清中炎症因子含量的比较($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	IL-1 β	IL-2	IL-8	TNF- α	M-CSF
正常对照组	50	0.79 \pm 0.09	1.54 \pm 0.18	45.28 \pm 6.14	0.92 \pm 0.14	0.68 \pm 0.09
观察组	128	2.65 \pm 0.34	2.97 \pm 0.34	179.63 \pm 22.84	1.65 \pm 0.23	3.71 \pm 0.45
<i>t</i>		7.192	8.391	20.761	5.683	7.498
<i>P</i>		<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05

2.3 细胞凋亡

观察组前列腺液中凋亡基因 BAX mRNA 表达量高于正常对照组,抗凋亡基因 BCL-2、livin、hPEBP4 mRNA 表达量低于正常对照组。两组研究对象前列腺液中凋亡基因 BAX、BCL-2、livin、hPEBP4 mRNA 表达量的差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 2。

表 2 两组研究对象前列腺液中凋亡基因表达量的比较($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	BAX	BCL-2	livin	hPEBP4
正常对照组	50	98.23 \pm 10.76	99.78 \pm 11.53	100.16 \pm 12.45	95.47 \pm 10.15
观察组	128	164.38 \pm 19.54	43.29 \pm 5.62	71.59 \pm 8.65	65.43 \pm 7.25
<i>t</i>		13.295	10.857	11.463	9.572
<i>P</i>		<0.05	<0.05	<0.05	<0.05

2.4 相关性分析

经 Pearson 检验发现,慢性前列腺炎患者外周血 Th17 细胞比例、IL-17 含量与血清炎症因子 IL-1 β 、IL-2、IL-8、TNF- α 、M-CSF 的含量呈正相关,与前列腺液中凋亡基因 BAX mRNA 的表达量呈正相关,与抗凋亡基因 BCL-2、livin、hPEBP4 mRNA 的表达量呈负相关($P < 0.05$)。

3 讨论

Th17 细胞属于新型辅助性 CD4⁺ T 细胞亚群,IL-17 为其主要效应分子,已经被证实参与多种慢性炎症及肿瘤性疾病的发生发展^[5,6]。IL-17 通过与其受体 IL-17R 结合,诱导多种促炎因子表达,直接造成局部炎症反应。同时 IL-17 参与中性粒细胞的增殖、趋化,进一步扩大炎症反应并导致全身炎症状态的出现^[7,8]。有学者推测,Th17 细胞功能异常是导致慢性前列腺炎发生及持续的重要原因,本次研究首先对比慢性前列腺炎患者、正常对照组外周血中 Th17 细胞功能参数水平差异,发现:与正常对照组比较,观察组患者外周血中 Th17 细胞比例较高、IL-17 含量较高,证实慢性前列腺炎患者确实存在 Th17 细胞功能亢进。关于 Th17 细胞功能与慢性前列腺炎病情严重程度间的相关关系研究目前开展不多,本次研究在下文中进一步阐述其与炎症反应、细胞凋亡的内在联系。

局部及全身炎症反应是慢性前列腺炎的典型表现,炎症程度与病情严重程度高度一致。慢性前列腺炎发生后,单核巨噬细胞功能被激活,导致 IL-1 β 、IL-2、IL-8 等促炎因子大量表达、分泌,诱导中性粒细胞聚集于病灶局部,进一步促进 TNF- α 、M-CSF 等炎症介质合成,加剧炎症反应程度^[9-11]。本次研究对比两组研究对象血清中上述炎症因子含量的差异,发现:与正常对照组比较,观察组患者血清中炎症因子 IL-1 β 、IL-2、IL-8、TNF- α 、M-CSF 的含量较高,证实慢性前列腺炎患者存在全身炎症反应。进一步采用 Pearson 检验评估慢性前列腺炎患者外周血中 Th17 细胞功能与炎症反应的相关关系,发现:慢性前列腺炎患者外周血中 Th17 细胞比例、IL-17 含量与炎症因子 IL-1 β 、IL-2、IL-8、TNF- α 、M-CSF 的含量呈正相关,证实 Th17 细胞功能亢进可直接促进慢性前列腺炎患者的全身炎症状态。

凋亡是由相关基因调控完成的主动性死亡过程,诸多研究证实炎症在细胞凋亡进程中扮演重要角色^[12,13]。慢性前列腺炎病理表现为局灶性前列腺导管、腺体、周围腺上皮增生、破坏甚至纤维化,期间前列腺细胞凋亡活性增加。检测前列腺凋亡相关基因表达量可直观反映病情严重程度、预测治疗结局。BAX 是典型的凋亡基因,其高表达可促进肿瘤

细胞凋亡;BCL-2、livin、hPEBP4 均是具有抑制凋亡作用的基因,其表达减少甚至缺失可导致细胞凋亡活性增加^[14,15]。本次研究对比两组患者前列腺液中上述凋亡/抗凋亡基因表达量的差异,发现:与正常对照组比较,观察组患者前列腺液中 BAX mRNA 表达量较高,BCL-2、livin、hPEBP4 mRNA 表达量较低,说明慢性前列腺炎患者存在凋亡基因高表达及凋亡抑制基因表达减少。进一步采用 Pearson 检验发现,慢性前列腺炎患者外周血中 Th17 细胞功能与前列腺细胞凋亡基因 BAX 表达量呈正相关,与凋亡抑制基因 BCL-2、livin、hPEBP4 表达量呈负相关,证实 Th17 细胞功能亢进可诱导前列腺细胞凋亡发生。

慢性前列腺炎患者外周血中 Th17 细胞功能亢进,直接参与全身炎症反应、前列腺组织凋亡的发生,有望成为远期该疾病治疗的新途径。

参考文献

- Nickel JC. Is chronic prostatitis/chronic pelvic pain syndrome an infectious disease of the prostate? [J]. *Investig Clin Urol*, 2017, 58(3): 149-151.
- Giunchi F, Jordahl K, Bollito E, et al. Interpathologist concordance in the histological diagnosis of focal prostatic atrophy lesions, acute and chronic prostatitis, PIN, and prostate cancer [J]. *Virchows Arch*, 2017, 470(6): 711-715.
- Motrich RD, Bresler ML, Sánchez LR, et al. IL-17 is not essential for inflammation and chronic pelvic pain development in an experimental model of chronic prostatitis/chronic pelvic pain syndrome[J]. *Pain*, 2016, 157(3): 585-597.
- Murphy SF, Schaeffer AJ, Done J, et al. IL17 Mediates Pelvic Pain in Experimental Autoimmune Prostatitis (EAP)[J]. *PLoS One*, 2015, 10(5): e0125623.
- Chang SH. Tumorigenic Th17 cells in oncogenic Kras-driven and inflammation-accelerated lung cancer[J]. *Oncoimmunology*, 2015, 4(1): e955704.
- He B, Wu L, Xie W, et al. The imbalance of Th17/Treg cells is involved in the progression of nonalcoholic fatty liver disease in mice[J]. *BMC Immunol*, 2017, 18(1): 33.
- Weng L, Cao X, Han L, et al. Association of increased Treg and Th17 with pathogenesis of moyamoya disease[J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 3071.
- Zhao Q, Harbour SN, Kolde R, et al. Selective Induction of Homeostatic Th17 Cells in the Murine Intestine by Cholera Toxin Interacting with the Microbiota[J]. *J Immunol*, 2017, 199(1): 312-322.
- Engelhardt PF, Seklehner S, Brustmann H, et al. Immunohistochemical expression of interleukin-2 receptor and interleukin-6 in patients with prostate cancer and benign prostatic hyperplasia: association with asymptomatic inflammatory prostatitis NIH category IV[J]. *Scand J Urol*, 2015, 49(2): 120-126.

及病情的发展密切相关。进一步分析 LN 患者外周血单个核细胞中 ICOS、OX40、CD40 的表达量与病情活动相关指标含量的相关性可知:LN 患者外周血单个核细胞中 ICOS、OX40、CD40 的 mRNA 表达量与抗 C1q 抗体、抗 ds-DNA 抗体的含量呈正相关,与 C3、C4 的含量呈负相关。这就说明 LN 患者体内协同刺激信号 ICOS/ICOSL、OX40/OX40L、CD40/CD40L 的增强能够与病情的进展密切相关。

LN 患者外周血中协同刺激信号分子 ICOS、OX40、CD40 的表达显著升高;协同刺激信号 ICOS/ICOSL、OX40/OX40L、CD40/CD40L 的增强与 Th1/Th2 的偏移、病情的活动密切相关。

参考文献

- Morawski PA, Bolland S. Expanding the B Cell-Centric View of Systemic Lupus Erythematosus [J]. *Trends Immunol*, 2017, 38(5):373-382.
- Rubtsova K, Rubtsov AV, Thurman JM, et al. B cells expressing the transcription factor T-bet drive lupus-like autoimmunity [J]. *J Clin Invest*, 2017, 127(4): 1392-1404.
- Kothari R, Digole A, Kamat S, et al. Reproductive Health in Systemic Lupus Erythematosus, An experience from Government Hospital in Western India[J]. *J Assoc Physicians India*, 2016, 64(12):16-20.
- Moroni G, Ponticelli C. Synthetic pharmacotherapy for lupus nephritis [J]. *Expert Opin Pharmacother*, 2017, 18(2):175-186.
- 邵康,张晨星,赵莉,等. ICOS/ICOSL、OX40/OX40L 及 CD40/CD40L 在系统性红斑狼疮患者外周血表达水平及其临床意义 [J]. *现代免疫学*, 2016, 36(4):299-304.
- Duarte JH. Connective tissue diseases; ICOS sustains pathogenic T-cell survival in SLE mouse model [J]. *Nat Rev Rheumatol*, 2015, 11(5):260.
- Chen JM, Guo J, Wei CD, et al. The association of CD40 polymorphisms with CD40 serum levels and risk of systemic lupus erythematosus [J]. *BMC Genet*, 2015, 16(16): 121.
- Sigdel KR, Duan L, Wang Y, et al. Serum Cytokines Th1, Th2, and Th17 Expression Profiling in Active Lupus Nephritis-IV: From a Southern Chinese Han Population [J]. *Mediators Inflamm*, 2016, 2016:4927530.
- Tshilela KA, Ikeuchi H, Matsumoto T, et al. Glomerular cytokine expression in murine lupus nephritis [J]. *Clin Exp Nephrol*, 2016, 20(1): 23-29.
- Piantoni S, Andreoli L, Scarsi M, et al. Phenotype modifications of T-cells and their shift toward a Th2 response in patients with systemic lupus erythematosus supplemented with different monthly regimens of vitamin D [J]. *Lupus*, 2015, 24(4-5): 490-498.
- Jacquemin C, Schmitt N, Contin-Bordes C, et al. OX40 Ligand Contributes to Human Lupus Pathogenesis by Promoting T Follicular Helper Response [J]. *Immunity*, 2015, 42(6): 1159-1170.
- Mittereder N, Kuta E, Bhat G, et al. Loss of Immune Tolerance Is Controlled by ICOS in Sle1 Mice [J]. *J Immunol*, 2016, 197(2): 491-503.
- Xu H, Liu J, Cui X, et al. Increased frequency of circulating follicular helper T cells in lupus patients is associated with autoantibody production in a CD40L-dependent manner [J]. *Cell Immunol*, 2015, 295(1):46-51.
- 张铭明,张锐,肖会,等. 血清抗 C1q 抗体在系统性红斑狼疮患者中的临床价值 [J]. *安徽医科大学学报*, 2017, 52(6):900-903.
- 古再丽努尔·赛来阿吉木,王梅红,米娜瓦儿·玉诺斯,等. 狼疮性肾炎患者肾组织中抗-C1q 抗体与疾病活动性的关系研究 [J]. *中国全科医学*, 2016, 19(29):3545-3548.
- 崔婵娟,柏明见,冯珍如,等. 血清抗 C1q 抗体在评价系统性红斑狼疮活动性及狼疮性肾炎病理分型中的临床意义 [J]. *中国全科医学*, 2014, 17(17): 1989-1993.
- Garabet L, Gilboe IM, Mowinckel MC, et al. Antiphospholipid Antibodies are Associated with Low Levels of Complement C3 and C4 in Patients with Systemic Lupus Erythematosus [J]. *Scand J Immunol*, 2016, 84(2):95-99.
- Castiglione R, Salemi M, Vicari LO, et al. Relationship of semen hyperviscosity with IL-6, TNF- α , IL-10 and ROS production in seminal plasma of infertile patients with prostatitis and prostatitis-vesiculitis [J]. *Andrologia*, 2014, 46(10): 1148-1155.
- Hajighorbani M, Ahmadi-Hamedani M, Shahab E, et al. Evaluation of the protective effect of pentoxifylline on carrageenan-induced chronic non-bacterial prostatitis in rats [J]. *Inflammopharmacology*, 2017, 25(3): 343-350.
- Hu Y, Niu X, Wang G, et al. Chronic prostatitis/chronic pelvic pain syndrome impairs erectile function through increased endothelial dysfunction, oxidative stress, apoptosis, and corporal fibrosis in a rat model [J]. *Andrology*, 2016, 4(6): 1209-1216.
- Jia YL, Liu X, Yan JY, et al. The alteration of inflammatory markers and apoptosis on chronic prostatitis induced by estrogen and androgen [J]. *Int Urol Nephrol*, 2015, 47(1): 39-46.
- Zhang Y, Huang H, Zhou H, et al. Activation of nuclear factor κ B pathway and downstream targets survivin and livin by SHARPIN contributes to the progression and metastasis of prostate cancer [J]. *Cancer*, 2014, 120(20): 3208-3218.
- Lee JC, Shin EA, Kim B, et al. Auraptene Induces Apoptosis via Myeloid Cell Leukemia 1-Mediated Activation of Caspases in PC3 and DU145 Prostate Cancer Cells [J]. *Phytother Res*, 2017, 31(6): 891-898.

(上接第 2066 页)