

# 白细胞介素 34 在肾癌中的表达水平及其与临床病理特征的相关性研究

熊 壮 彭云鹏 陈 坦 黄小雨 徐 鑫 陈仁富

**摘要** 目的 探讨白细胞介素 34(IL-34)在肾癌患者血清及肾癌组织中的表达及其临床意义。方法 选取 2019 年 9 月~2020 年 12 月徐州医科大学附属医院泌尿外科住院的 60 例肾癌患者作为研究组,选择 54 例同时期来笔者医院体检的健康志愿者作为对照组。采用酶联免疫吸附试验(ELISA)检测肾癌患者及健康对照血清中 IL-34 的表达水平;分析肾癌患者血清中 IL-34 的表达水平与肾癌临床病理特征的关系。采用 PCR 法检测肾癌患者肿瘤组织及癌旁组织中 IL-34mRNA 的表达。通过受试者工作特征曲线(ROC)分析 IL-34 对肾癌的诊断效能。**结果** 肾癌患者血清中 IL-34 为  $174.22 \pm 49.34$  pg/ml,健康对照为  $101.73 \pm 36.23$  pg/ml 两者比较,差异有统计学意义( $P < 0.001$ )。不同肿瘤分期、淋巴结转移、分级以及肿瘤直径患者的 IL-34 水平比较,差异有统计学意义( $P < 0.001$ )。肾癌患者术后血清 IL-34 水平低于术前,差异有统计学意义( $P < 0.001$ )。不同分期肾癌组织中 IL-34mRNA 表达均高于癌旁组织,差异有统计学意义( $P < 0.001$ )。ROC 曲线分析显示血清 IL-34 为  $136.35$  pg/ml 时,预测诊断肾癌的曲线下面积为  $0.889$  (95% CI:  $0.832 \sim 0.946$ ,  $P < 0.001$ ),敏感度为 78.3%,特异性为 85.2%。**结论** IL-34 在肾癌中高表达,其表达水平与临床分期及病理分级密切相关。

**关键词** 肾癌 白细胞介素 34 临床病理特征

中图分类号 R711

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2022.04.031

Expression Level of Interleukin - 34 in Renal Cell Carcinoma and its Correlation with Clinicopathological Characteristics. XIONG

Zhuang, PENG Yunpeng, CHEN Tan, et al. Affiliated Hospital of Xuzhou Medical University, Jiangsu 221002, China

**Abstract Objective** To investigate the expression level and clinical significance of IL-34 in serum and renal cell carcinoma tissues of patients with renal cell carcinoma. **Methods** 60 patients with renal cancer hospitalized in the Department of Urology of the Affiliated Hospital of Xuzhou Medical University from September 2019 to December 2020 were selected as the study group, and 54 healthy volunteers who came to our hospital for physical examination at the same time were selected as the control group. ELISA detected the expression of serum IL-34 in both groups. To analyze the relationship between the expression level of IL-34 in serum and the clinicopathological features of renal cell carcinoma. The expression of IL-34 mRNA in tumor tissues and adjacent tissues of patients with renal cell carcinoma was detected by qPCR. The diagnostic efficacy of IL-34 in renal cell carcinoma was analyzed by receiver operating characteristic curve (ROC). **Results** the serum levels of IL-34 were  $174.22 \pm 49.34$  pg/ml in patients with renal cell carcinoma and  $101.73 \pm 36.23$  pg/ml in healthy controls ( $P < 0.001$ ). The level of IL-34 in patients with different tumor stage, lymph node metastasis, grade and tumor size was statistically significant ( $P < 0.001$ ). The level of serum IL-34 in patients with renal cell carcinoma after operation was significantly lower than that before operation ( $P < 0.001$ ). The expression of IL-34 mRNA in different stages of renal cell carcinoma was significantly higher than that in adjacent tissues ( $P < 0.001$ ). ROC curve analysis showed that when serum IL-34 was  $136.35$  pg/ml, the area under the curve for predicting the diagnosis of renal cell carcinoma was  $0.889$  (95% CI:  $0.832 \sim 0.946$ ,  $P < 0.001$ ), the sensitivity was 78.3%, and the specificity was 85.2%. **Conclusion** IL-34 is highly expressed in renal cell carcinoma, and its expression level is closely related to clinical stage and pathological grade.

**Key words** Renal cancer; Interleukin - 34; Clinicopathological features

肾细胞癌(renal cell carcinoma, RCC)是起源于肾

小管上皮的恶性肿瘤,约占肾恶性肿瘤的 80% ~ 90%<sup>[1]</sup>。局部肾癌行肾部分切除可获得较好的疗效。但依然有 30% ~ 40% 的转移和复发率<sup>[2]</sup>。研究表明,一些细胞因子的表达异常会影响到肿瘤细胞的生物学特性,进而导致肿瘤细胞的增殖和侵袭能力的改变,参与肿瘤的发生和发展<sup>[3]</sup>。白细胞介素 34(IL-

基金项目:江苏省研究生科研与实践创新计划项目(SJCX20\_0928)

作者单位:221002 徐州医科大学附属医院泌尿外科

通信作者:陈仁富,电子邮箱:2275591501@qq.com

34)是新发现的一种白细胞介素因子,能够激活和调节免疫细胞,在自身免疫性疾病及肿瘤中发挥重要作用<sup>[4,5]</sup>。大量研究已表明,IL-34在胃癌、结直肠癌、骨肉瘤、肺癌等癌症患者外周血中表达异常,并与肿瘤的进展及转移有关<sup>[6,7]</sup>。本研究旨在探究IL-34在肾癌中的表达水平,并与临床病理特征进行相关性分析,为肾癌的早期诊断和精准治疗提供新的思路和证据。

### 资料与方法

1. 一般资料:选取2019年9月~2020年12月于徐州医科大学附属医院泌尿外科择期行手术治疗的肾透明细胞癌患者60例,收集其临床资料、血液标本、肿瘤组织和癌旁组织标本。其中男性33例,女性27例,患者平均年龄 $57.37 \pm 10.02$ 岁。另取同期笔者医院健康体检的志愿者54例作为健康对照组,其中男性30例,女性24例,平均年龄 $53.39 \pm 11.95$ 岁。两组受试者的年龄、性别比较,差异均无统计学意义( $P > 0.05$ )。纳入标准:①经病理诊断为肾癌;②均为初始治疗;③术前均未行放疗、化疗及手术治疗;④临床资料完整;排除标准:①合并其他器官恶性肿瘤者;②存在全身感染性疾病者;③存在高血压、冠心病及自身免疫性疾病者;④合并其他肾脏器质性疾患者。本研究获得医院医学伦理学委员会的批准,所有受试者均签署知情同意书。

2. 酶联免疫吸附法(ELISA)检测血清中IL-34水平:使用人IL-34 ELISA试剂盒(美国ProteinTech Group)说明书操作来测定IL-34浓度。标本在室温下解冻,再次离心。设置标准孔(8个)和样品孔,每个孔加 $100\mu\text{l}$ 待测标准品或样品,在 $37^\circ\text{C}$ 孵育2h后,丢弃液体并甩干,向每个孔中加入抗生物素抗体 $100\mu\text{l}$ 在 $37^\circ\text{C}$ 孵育箱内孵育50min,洗3次,甩干,加入 $100\mu\text{l}$ 过氧化物酶标记亲和素工作液,孵育1h。弃液体,将其甩干,板洗5次,并向每个孔中添加 $90\mu\text{l}$ 的底物溶液 $37^\circ\text{C}$ 孵育20min,然后加入 $50\mu\text{l}$ 终止溶液终止反应,在450nm处检测每个孔的吸光度(A),并自动转换为浓度值。

3. 实时定量PCR(qPCR)方法检测:Trizol法提取肾癌及癌旁组织RNA,并将总RNA反转录为cDNA,并用qPCR测定肾癌及癌旁组织中IL-34mRNA表达水平。引物序列:IL-34上游引物:5'-TTGACG-CAGAATGAGGAGTG-3',下游引物:5'-CCCTCG-TAAGGCACACTGAT-3'; GAPDH上游引物:5'-

CAGGAGGCATTGCTGATGAT-3',下游引物:5'-GAAGGCTGGGGC TCATTT-3'。

4. 统计学方法:采用SPSS 19.0软件对数据进行统计分析。符合正态分布的计量资料采用均数 $\pm$ 标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,两组组间比较采用t检验,3组及3组以上组间比较采用单因素方差分析;计数资料采用百分比(%)表示,组间比较采用 $\chi^2$ 检验;采用ROC曲线分析IL-34对肾癌的预测价值,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

### 结 果

1. 两组血清IL-34水平比较:肾癌患者血清中IL-34为 $174.22 \pm 49.34\text{pg/ml}$ ,健康对照组为 $101.73 \pm 36.23\text{pg/ml}$ ,两组比较差异有统计学意义( $t = -8.859, P < 0.001$ ),详见图1。

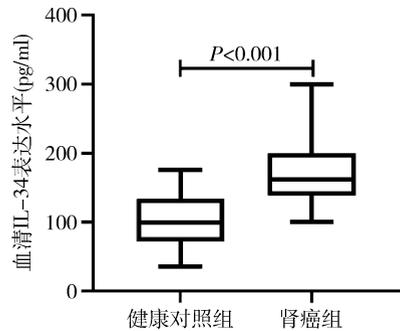


图1 肾癌患者及健康志愿者血清中IL-34的表达水平

2. 肾癌患者血清中IL-34的表达水平与肾癌临床病理特征的关系:不同肿瘤分期、淋巴结转移、分级、及肿瘤直径患者的IL-34水平比较,差异有统计学意义( $P < 0.001$ ),肾癌患者血清IL-34水平与性别、年龄无明显相关性,差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),详见表1。

3. 肾癌患者手术前后血清IL-34表达:比较48例肾癌患者术后1个月血清IL-34表达水平,发现术后患者血清IL-34水平低于术前,差异有统计学意义( $t = 9.457, P < 0.001$ ),详见图2。

4. 肾癌组织中IL-34mRNA水平:不同病理分期肾癌组织中IL-34mRNA水平均高于癌旁组织,差异有统计学意义( $P < 0.001$ ),详见图3。

5. IL-34对肾癌预测价值分析:ROC曲线分析显示,血清IL-34预测诊断肾癌的最佳截点为 $136.35\text{pg/ml}$ 时,预测诊断肾癌的曲线下面积为0.889(95% CI: 0.832~0.946,  $P < 0.001$ ),敏感度为78.3%,特异性为85.2%,详见图4。

表 1 IL-34 表达量与肾癌患者临床病理

特征之间的关系 ( $n, \bar{x} \pm s$ )

项目	n	血清 IL-34 (pg/ml)	统计值	P
性别			-0.225	0.823
男性	33	172.92 ± 49.85		
女性	27	175.82 ± 49.60		
年龄(岁)			-0.647	0.520
<60	25	169.32 ± 45.45		
≥60	35	177.73 ± 52.31		
TNM 分期			17.325	<0.001
I	33	151.08 ± 29.33		
II	14	180.16 ± 47.93		
III	10	207.81 ± 43.28		
IV	3	289.23 ± 11.09		
淋巴结转移			-5.188	<0.001
是	13	159.74 ± 37.79		
否	47	226.60 ± 51.96		
Fuhrman 分级			-5.601	<0.001
I ~ II	42	152.93 ± 30.30		
III ~ IV	18	223.92 ± 49.98		
肿瘤直径 (cm)			16.391	<0.001
<4.0	17	143.62 ± 39.65		
4.0 ~ 6.9	30	168.87 ± 34.05		
≥7.0	13	226.60 ± 51.96		

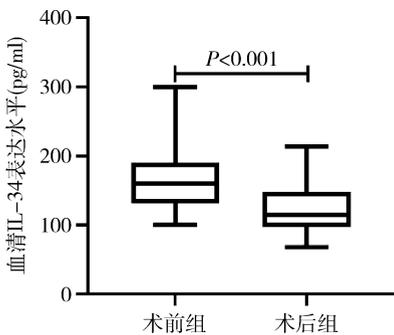


图 2 肾癌患者术前与术后血清 IL-34 的表达水平

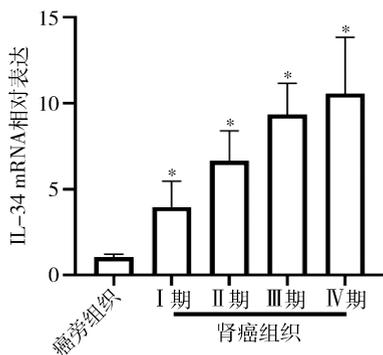


图 3 不同病理分期肾癌组织及癌旁组织中 IL-34mRNA 水平  
与癌旁组织比较, \*  $P < 0.001$

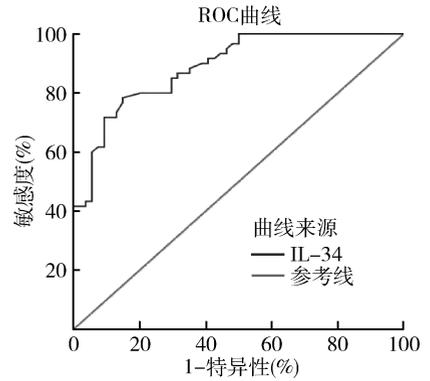


图 4 ROC 曲线结果

### 讨 论

Lin 等<sup>[8]</sup>在 2008 年发现了 IL-34,该因子广泛存在于人体的心脏、脑、肝脏、肾脏、脾脏、肺、淋巴结等器官组织中。研究表明 IL-34 在自身免疫性疾病和肿瘤疾病中发挥重要作用,且其异常表达与骨肉瘤、肺癌和乳腺癌等癌症的不良预后密切相关<sup>[9-11]</sup>。在癌症微环境中,IL-34 可以促进内皮细胞增殖以及巨噬细胞向肿瘤细胞的运输,进而发挥促癌作用<sup>[12-14]</sup>。此外,在肝细胞癌中,研究发现 IL-34 可以通过刺激肿瘤相关巨噬细胞(TAM)分化而发挥促癌作用,导致肿瘤的转移<sup>[15,16]</sup>。然而,IL-34 在泌尿系统相关肿瘤如肾癌中的报道国内外尚无,因此进一步明确 IL-34 在肾癌中的表达及其与临床病理特征的关系对于提高肾癌患者的临床治疗疗效及预后有着极其重要的临床意义。

既往研究表明,肾癌的分期与疾病的预后密切相关,本研究发现 IL-34 在肾癌患者血清中及肾癌组织中表达水平明显升高,与患者的年龄、性别无明显联系,但与患者的肿瘤分期及病理分级关系密切,提示 IL-34 的表达水平在一定程度上反映了肾癌患者的预后情况<sup>[17]</sup>。此外,本研究还通过绘制 ROC 曲线进一步分析了 IL-34 对肾癌的预测价值,同样也证实血清 IL-34 预测诊断肾癌的最佳截点为 136.35pg/ml,其曲线下面积为 0.889,敏感度为 78.3%,特异性为 85.2%,对肾癌具有很好的诊断特异性及敏感度。本研究还对肾癌组织中 IL-34 的表达进行了研究,发现不同分期的肾癌患者肾癌组织中 IL-34 的表达水平较癌旁组织明显升高,且分期越高增高越明显,更加提示 IL-34 参与肾癌的发生、发展且与患者预后密切相关。研究发现 IL-34 能通过促进巨噬细胞的聚集和新生血管的生成促进肿瘤的生长<sup>[18,19]</sup>。因此推测异常表达的 IL-34 可能通过调

节肿瘤周围的免疫细胞功能来参与肾癌的发生、发展。

另外,研究表明 IL-34 和 IL-34 受体在缺血刺激的人炎症肾脏中上调, IL-34 在移植肾中还可能介导排斥和其他形式的肾损伤<sup>[9,20]</sup>。因此,无论是在肾癌还是在肾损伤、肾移植中, IL-34 都扮演着不可忽视的作用。综合本研究结果,早期术前检测肾细胞癌患者血清 IL-34 的表达水平对于评估患者预后具有重要意义。然而本研究仍存在一定的不足,如没有对肾癌患者进行长期随访,进一步研究 IL-34 与患者生存死亡关系,且 IL-34 在肾癌中具体通过何种机制参与肿瘤的发生也亟待进一步的研究。

综上所述,本研究发现 IL-34 在肾癌患者的外周血和组织中均明显升高,血清中 IL-34 的水平与临床分期及病理分级密切相关,术后患者血清 IL-34 水平低于术前,提示 IL-34 在肾癌的发生、发展过程中发挥着重要作用。

参考文献

- 1 Arabsalmani M, Mohammadian - Hafshejani A, Ghoncheh M, *et al.* Incidence and mortality of kidney cancers, and human development index in Asia; a matter of concern[J]. *J Nephrothol*, 2017, 6 (1): 30 - 42
- 2 Mauge L, Mejean A, Fournier L, *et al.* Sunitinib prior to planned nephrectomy in metastatic renal cell carcinoma: angiogenesis biomarkers predict clinical outcome in the prospective phase II PREINSUT trial [J]. *Clin Cancer Res*, 2018, 24(22): 5534 - 5542
- 3 Owens B. Kidney cancer[J]. *Nature*, 2016, 537(7620): S97
- 4 赵方方. IL-34 在感染性疾病中的作用研究进展[J]. *海南医学*, 2020, 31(1): 102 - 105
- 5 李静, 胡艳, 王丽红, 等. 白细胞介素-34 的特点及其在肿瘤疾病中的作用[J]. *安徽医药*, 2017, 21(12): 2139 - 2141
- 6 Baghdadi M, Endo H, Tanaka Y, *et al.* Interleukin 34, from pathogenesis to clinical applications[J]. *Cytokine*, 2017, 99: 139 - 147
- 7 Baghdadi M, Endo H, Takano A, *et al.* High co-expression of IL-34 and M-CSF correlates with tumor progression and poor survival in lung cancers[J]. *Sci Rep*, 2018, 8: 418
- 8 Kobayashi T, Baghdadi M, Han N, *et al.* Prognostic value of IL-34 in colorectal cancer patients [J]. *Immunol Med*, 2019, 42(4): 169 - 175

- 9 Lin W, Xu D, Austin CD, *et al.* Function of CSF1 and IL34 in macrophage homeostasis, inflammation, and cancer[J]. *Front Immunol*, 2019, 10: 2019
- 10 Shoji H, Yoshio S, Mano Y, *et al.* Interleukin - 34 as a fibroblast - derived marker of liver fibrosis in patients with non - alcoholic fatty liver disease[J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 28814
- 11 Lelios I, Cansever D, Utz SG, *et al.* Emerging roles of IL - 34 in health and disease[J]. *J Exp Med*, 2020, 217(3): e20190290
- 12 Segaliny AI, Brion R, Mortier E, *et al.* Syndecan - 1 regulates the biological activities of interleukin - 34. *Biochim [J]. Biophys Acta*, 2015, 1853: 1010 - 1021
- 13 Baud'huin M, Renault R, Charrier C, *et al.* Interleukin - 34 is expressed by giant cell tumours of bone and plays a key role in RANKL - induced osteoclastogenesis[J]. *J Pathol*, 2010, 221(1): 77 - 86
- 14 Foucher ED, Blanchard S, Preisser L, *et al.* IL - 34 induces the differentiation of human monocytes into immunosuppressive macro - phages. antagonistic effects of GM - CSF and IFN gamma [J]. *PLoS One*, 2013, 8(2): e56045
- 15 Xu WD, Huang AF, Fu L, *et al.* Targeting IL - 34 in inflammatory autoimmune diseases [J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234 ( 12 ): 21810 - 21816
- 16 王殷秋, 曹文君. IL-34、M-CSF 与肝纤维化、肝癌的相关性研究进展[J]. *安徽医科大学学报*, 2018, 53(3): 487 - 490
- 17 Escudier B, Porta C, Schmidinger M, *et al.* Renal cell carcinoma: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up[J]. *Ann Oncol*, 2019, 30(5): 706 - 720
- 18 Greter M, Lelios I, Pelczar P, *et al.* Stroma - derived interleukin - 34 controls the development and maintenance of langerhans cells and the maintenance of microglia[J]. *Immunity*, 2012, 37(6): 1050 - 1060
- 19 Zhang P, Zhang H, Dong W, *et al.* IL - 34 is a potential biomarker for the treatment of papillary thyroid cancer[J]. *J Clin Lab Anal*, 2020, 34(8): e23335
- 20 Moon SJ, Hong YS, Ju JH, *et al.* Increased levels of interleukin 34 in serum and synovial fluid are associated with rheumatoid factor and anticyclic citrullinated peptide antibody titers in patients with rheumatoid arthritis[J]. *J Rheumatol*, 2013, 40(11): 1842 - 1849
- 21 Baek JH, Zeng R, Weinmann - Menke J, *et al.* IL - 34 mediates acute kidney injury and worsens subsequent chronic kidney disease [J]. *J Clin Invest*, 2015, 125(8): 3198 - 3214

(收稿日期: 2021 - 10 - 10)

(修回日期: 2021 - 11 - 03)

欢迎订阅

欢迎赐稿