

论著·临床研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2018.33.008

## 宫颈癌患者 Th1/Th2 细胞因子的表达及其预后意义\*

季菲,何艳,杨丽,丁岩,杜蓉<sup>△</sup>

(新疆医科大学第一附属医院妇科,乌鲁木齐 830054)

**[摘要]** **目的** 探讨宫颈癌患者的辅助性 T 淋巴细胞(Th)1/Th2 比例变化及其相关淋巴因子对宫颈癌细胞免疫逃避的机制,为宫颈癌的治疗提供试验依据。**方法** 选择 83 例 2015 年 6 月至 2017 年 6 月在该院诊断为宫颈癌的患者,静脉取血后分离血样的淋巴细胞,采用流式细胞术检测不同分期患者中 Th1 与 Th2 比例,采用免疫组织化学试验检测不同分期样品中白细胞介素(IL)-2、IL-4、干扰素(IFN)- $\gamma$  的阳性率和人乳头瘤病毒(HPV)亚型分布。**结果** 不同国际妇产科联盟(FIGO)分期患者 HPV 亚型分布差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。Ⅱ、Ⅲ期患者外周血中 Th1 比例与对照组相比明显下降( $P < 0.05$ )。Th2 比例在Ⅱ期和Ⅲ期患者外周血中上升幅度较大( $P < 0.05$ )。IFN- $\gamma$ 、IL-2 在Ⅲ期患者中的阳性率较对照组明显下降( $P < 0.05$ );IL-4 的阳性率与对照组相比明显上升( $P < 0.05$ );血清 IL-4、IFN- $\gamma$ 、IL-2 水平在不同 FIGO 分期患者间有明显差异( $P < 0.05$ )。**结论** 宫颈癌患者淋巴细胞比例失衡,可能与宫颈癌的病变关系密切。

**[关键词]** 宫颈肿瘤;HPV 亚型;细胞因子;淋巴细胞**[中图分类号]** R711.74 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2018)33-4229-05

## Expression and prognostic significance of Th1/Th2 cytokines in patients with cervical cancer\*

JI Fei, HE Yan, YANG Li, DING Yan, DU Rong<sup>△</sup>

(Department of Gynecology, First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi, Xinjiang 830054, China)

**[Abstract]** **Objective** To investigate the change of Th1/Th2 lymphocyte ratio and mechanism of related lymphokine on immune escape of cervical cancer cell so as to provide an experimental evidence for the treatment of cervical cancer. **Methods** Eighty-three patients with cervical cancer treated in this hospital from June 2015 to June 2017 were selected. The venous blood was collected for separating the lymphocytes. The Th1 and Th2 lymphocyte ratio in the patients with different stages detected by flow cytometry; the positive rates of IL-2, IL-4 and IFN- $\gamma$  in the sample of different stages and HPV subtype distribution were detected by immunohistochemistry(IHC) assay. **Results** The HPV subtype distribution had statistical difference among the patients with different FIGO ( $P < 0.05$ ). The peripheral blood Th1 lymphocyte ratio in the stage Ⅱ and Ⅲ patients was significantly decreased ( $P < 0.05$ ). The peripheral blood Th2 lymphocyte ratio in the patients with stage Ⅱ and Ⅲ was greatly increased ( $P < 0.05$ ). The positive rate of IFN- $\gamma$  and IL-2 in the patients with stage Ⅲ was significantly decreased compared with the control group ( $P < 0.05$ ); the positive rate of IL-4 was significantly increased compared with the control group ( $P < 0.05$ ); the levels of serum IL-4, IFN- $\gamma$  and IL-2 had significant difference among different FIGO stages ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** The lymphocytes proportion in cervical cancer patients is imbalance, which may be closely related to the pathological changes of cervical cancer.

**[Key words]** uterine cervical neoplasms; HPV subtype; cytokines; lymphocyte

宫颈癌是目前女性患者易发的恶性肿瘤。目前研究认为高危型人乳头瘤病毒(HPV)感染可促进宫颈癌病变发生,正常情况下患者具有一定的抵抗病毒感染的能力,但部分患者在 HPV 的刺激下会产生宫

颈上皮内瘤变(CIN),并可能恶化发展为宫颈癌,这表明患者的免疫功能对宫颈癌的发病有重要的调控作用<sup>[1]</sup>。患者的临床症状主要表现为经期不调、接触性出血、阴道炎<sup>[2]</sup>。因此研究宫颈癌的特异性临床症状

\* 基金项目:国家自然科学基金资助项目(81660476)。 作者简介:季菲(1984—),主治医师、讲师,在读博士,主要从事妇科肿瘤、子宫内  
膜异位症、妇科微创治疗及妇科内分泌的研究。 <sup>△</sup> 通信作者,E-mail:1595131854@qq.com。

与影响临床预后的因素对患者的治疗有重要价值。已有研究表明, T 淋巴细胞主导的细胞免疫对机体产生的肿瘤细胞有调控作用<sup>[3-4]</sup>。辅助性 T 淋巴细胞(Th)可分泌多种淋巴因子,能增强其他种类的免疫细胞活性,提升机体的整体免疫功能,可以协调细胞毒性 T 淋巴细胞对免疫反应的抑制作用<sup>[5]</sup>。本研究通过研究宫颈癌患者血清中 Th1/Th2 细胞因子与宫颈癌的临床相关性,以期对宫颈癌患者的临床治疗提供一定的指导,现将结果报道如下。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 选取 2015 年 6 月至 2017 年 6 月在本院接受治疗的 90 例宫颈癌患者,患者经术前宫颈活检证实且在术后通过病理切片分析确诊,年龄 27~61 岁,平均(42.5±9.7)岁。依据国际妇产科联盟(FIGO)分期标准<sup>[6]</sup>,其中 I、II、III 期的患者分别是 31、37、22 例,以患者的临床分期进行分组。纳入标准:(1)入选患者未经放疗及化疗治疗,均为首次在本院确诊并接受抗肿瘤治疗;(2)患者知情且签署同意书。排除标准:(1)患者在其他单位确诊并接受过抗肿瘤治疗;(2)患者合并其他重大代谢疾病,如肝功能异常、糖尿病、心血管疾病等。同时选取本院同期体检的 30 例健康女性作为对照组。

**1.2 主要试剂和仪器** 人淋巴细胞分离液购自北京索莱宝科技有限公司;抗人白细胞介素(IL)-2、IL-4 和抗人干扰素(IFN)- $\gamma$  抗体购自美国 eBioscience 公司;HPV DNA 引物购自上海生工生物公司;Accuri™C6 流式细胞仪购自美国 BD 公司;超纯水系统购自美国 MILLIPORE 公司;iMark 酶标仪购自美国伯乐公司;超低温冰箱购自日本三洋公司;光学显微镜购自德国 Leica 公司;A550 石蜡切片机购自德国 MEDITE 公司。

## 1.3 方法

**1.3.1 HPV 亚型检测** 取宫颈癌患者的宫颈上皮细胞收集液 1.2 mL,以 12 000 r/min 转速离心 5 min 后,加入细胞裂解液 120  $\mu$ L,混匀后 100  $^{\circ}$ C 10 min,按照 DNA 提取说明书分离 HPV DNA 备用。依据待检的 HPV 基因特点(HPV16、HPV18、HPV31、HPV33)设计相应的 PCR 引物,采用 PCR 扩增不同的 HPV 基因片段,按照 HPV 分型试剂盒说明书与

相应的分型探针杂交,判读宫颈癌患者感染的 HPV 亚型。

**1.3.2 流式细胞术检测宫颈癌患者外周血 Th1/Th2 细胞比例** 对宫颈癌患者空腹静脉取血 6 mL,并加入 EDTA 抗凝处理,以 1 500 r/min 离心 10 min,取上清液冷冻保存备用。将离心后的血细胞加入等体积磷酸盐缓冲液(PBS),均匀稀释后加入淋巴细胞分裂液,1 500 r/min 离心 20 min,下层为血细胞,上层主要为血浆,中层液体呈白色雾状,即为单个核细胞层(PBMC),将其置于 37  $^{\circ}$ C 含 5%  $\text{CO}_2$  培养箱培养 5 h,分别采用 IFN- $\gamma$ -APC、IL-4-PE-cy5 对其进行 Th1 细胞和 Th2 细胞表面标记,洗涤后弃上清液,用 PBS 洗涤 2 次后,PBS 200  $\mu$ L 重悬细胞,采用流式细胞仪检测。

**1.3.3 免疫组织化学试验** 组织标本采用甲醛固定后进行石蜡包埋。对石蜡标本连续切片,厚度为 4  $\mu$ m,温水展开后置于玻片上,65  $^{\circ}$ C 烤片 30 min,然后依次置于二甲苯和梯度浓度的乙醇中水化,加入抗原修复液后微波炉烘烤 15 min,加入 3%过氧化氢液阻断内源性过氧化物,最后采用二氨基联苯胺(DAB)溶液显色,最后中性树脂封片,由经验丰富的病理医师评估 IL-2、IL-4、IFN- $\gamma$  水平。

**1.3.4 酶联免疫吸附试验(ELISA)检测血清的相关淋巴因子** 按照 ELISA 试剂盒说明书处理样品,每孔 50  $\mu$ L 血清样品,将反应板在 37  $^{\circ}$ C 孵育 60 min。然后采用洗涤液清洗反应板 3 次后,加入相应酶标抗体试液 50  $\mu$ L 孵育 30 min,用洗涤液清洗后加入底物工作液 50  $\mu$ L 反应 20 min,最后加入 60  $\mu$ L 终止液,操作酶标仪读取样品的吸光度值(A 值)。

**1.4 统计学处理** 采用 SPSS19.0 软件分析数据,计量资料以  $\bar{x}\pm s$  表示,多组间比较采用单因素方差分析,两两比较采用 LSD-*t* 检验,计数资料以例数或百分率表示,组间比较采用  $\chi^2$  检验。以  $P<0.05$  为差异具有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 宫颈癌患者 HPV 亚型分布** 在诱发宫颈癌的前 4 位 HPV 亚型感染率方面,宫颈癌患者 HPV 亚型分布与对照组相比有明显差异( $P<0.05$ )。不同 FIGO 分期患者 HPV 亚型分布有明显差异( $P<0.05$ )。见表 1。

表 1 各组 HPV 亚型分布特点[n(%)]

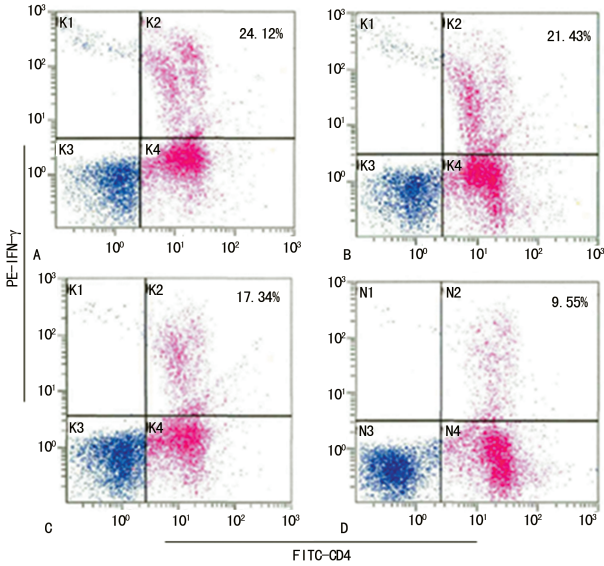
组别	n	HPV16 阳性	HPV18 阳性	HPV31 阳性	HPV33 阳性	至少一型抗体阳性
对照组	30	3(10.0)	4(13.3)	4(13.3)	6(20.0)	8(26.7)
I 期	31	7(22.6) <sup>a</sup>	17(54.8) <sup>a</sup>	21(67.7) <sup>a</sup>	9(29.1)	23(71.2) <sup>a</sup>
II 期	37	23(62.2) <sup>ab</sup>	12(32.4) <sup>ab</sup>	15(40.1) <sup>ab</sup>	11(35.5) <sup>a</sup>	36(97.3) <sup>ab</sup>
III 期	22	14(63.7) <sup>abc</sup>	15(68.2) <sup>abc</sup>	13(59.1) <sup>abc</sup>	8(36.4) <sup>a</sup>	21(95.5) <sup>ab</sup>

<sup>a</sup>:  $P<0.05$ ,与对照组比较;<sup>b</sup>:  $P<0.05$ ,与 I 期比较;<sup>c</sup>:  $P<0.05$ ,与 II 期比较

表 2 各组外周血中 Th1、Th2 细胞的比例( $\bar{x}\pm s, \%$ )

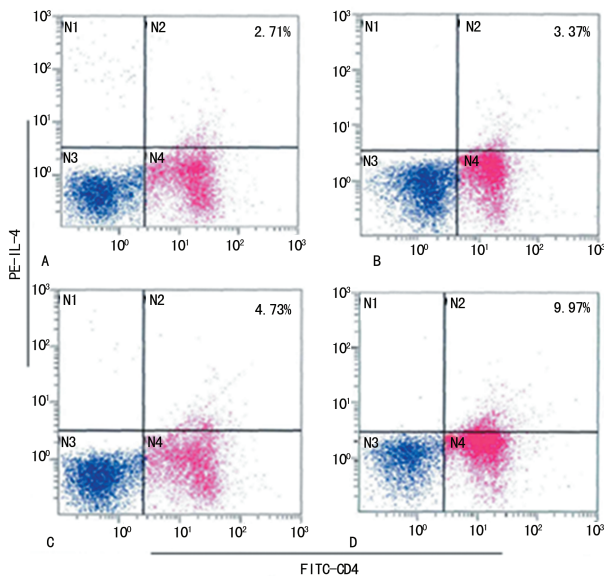
组别	n	Th1 细胞	Th2 细胞
对照组	30	24.12±4.52	2.71±0.51
I 期	31	21.43±2.13	3.37±0.76
II 期	37	17.34±3.27 <sup>ab</sup>	4.73±1.42 <sup>ab</sup>
III 期	22	9.55±2.42 <sup>abc</sup>	9.97±1.86 <sup>abc</sup>

<sup>a</sup>:  $P < 0.05$ , 与对照组比较; <sup>b</sup>:  $P < 0.05$ , 与 I 期比较; <sup>c</sup>:  $P < 0.05$ , 与 II 期比较



A: 对照组; B: I 期; C: II 期; D: III 期; 其中分析时采用 CD4<sup>+</sup> 细胞设门, FITC-CD4<sup>+</sup> 和 PE-IFN- $\gamma$  双阳性细胞即 Th1 细胞表示。A、B、C 和 D 图中第 1 象限百分数表示对照组、I 期、II 期、III 期患者外周血中 Th1 细胞的频率

图 1 Th1 细胞在各组外周血比例的代表流式图



A: 对照组; B: I 期; C: II 期; D: III 期; 其中分析时采用 CD4<sup>+</sup> 细胞设门, FITC-CD4<sup>+</sup> 和 PE-IL-4 双阳性细胞即 Th2 细胞表示。A、B、C 和 D 图中第 1 象限百分数表示对照组、I 期、II 期、III 期患者外周血中 Th2 细胞的频率

图 2 Th2 细胞在各组外周血比例的代表流式图

2.2 患者外周血中 Th1、Th2 细胞比例 Th1 与 Th2 细胞比例在 I 期、II 期和 III 期患者间比较均差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。其中 Th1 细胞在 I 期患者中比例较高 ( $P < 0.05$ )。Th2 细胞比例在 III 期患者中比例较高 ( $P < 0.05$ )。见表 2, 图 1、2。

2.3 免疫组织化学方法检测组织标本中免疫因子的表达 IFN- $\gamma$ 、IL-2 在 III 期患者中的阳性率为 31.8%、36.7%, 较对照组下降较大 ( $P < 0.05$ ); III 期患者 IL-4 的阳性率为 72.7%, 与对照组相比上升较大 ( $P < 0.05$ ), 见表 3、图 3。

表 3 各组标本组织中 IFN- $\gamma$ 、IL-2、IL-4 的表达水平检测 [ $n(\%)$ ]

组别	n	IFN- $\gamma$ 阳性	IL-2 阳性	IL-4 阳性
对照组	30	23(76.7)	14(63.6)	13(43.3)
I 期	31	18(58.1)	22(59.4)	17(54.8)
II 期	37	16(42.3)	15(48.3)	24(64.8)
III 期	22	7(31.8) <sup>a</sup>	11(36.7) <sup>a</sup>	16(72.7) <sup>a</sup>
$\chi^2$		18.535	17.451	13.632
P		0.022	0.028	0.033

<sup>a</sup>:  $P < 0.05$ , 与对照组比较

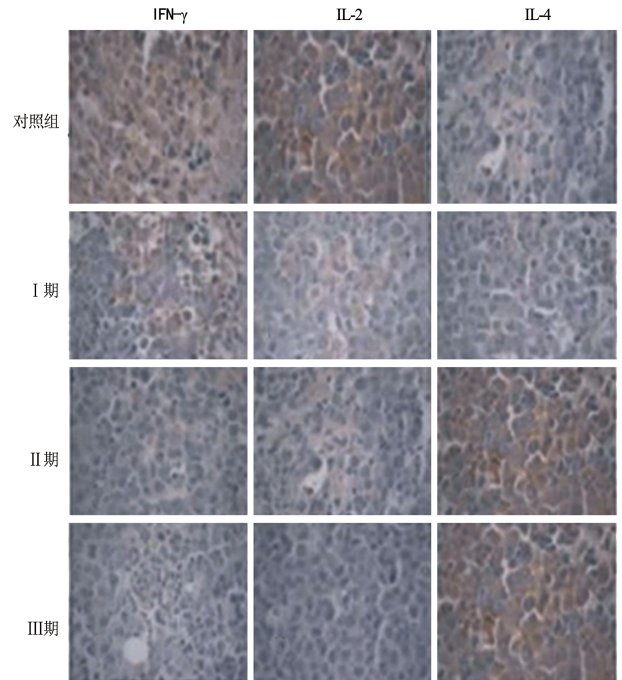


图 3 各组标本中 IFN- $\gamma$ 、IL-2、IL-4 表达的典型代表图 ( $\times 200$ )

2.4 不同 FIGO 分期患者中各免疫因子表达水平的比较 III 期患者 IL-4 水平高于 I 期和 II 期患者 ( $P < 0.05$ ); II 期患者 IFN- $\gamma$ 、IL-2 水平低于 I 期患者 ( $P < 0.05$ )。不同 FIGO 分期患者 IFN- $\gamma$ 、IL-2 水平均低于对照组 ( $P < 0.05$ ), IL-4 水平均高于对照组 ( $P < 0.05$ )。见表 4。

表 4 ELISA 检测各组血清中 IFN- $\gamma$ 、IL-2、IL-4 的表达水平( $\bar{x} \pm s$ , pg/mL)

组别	n	IFN- $\gamma$	IL-2	IL-4
对照组	30	58.36 $\pm$ 12.47	46.27 $\pm$ 0.32	17.38 $\pm$ 3.59
I 期	31	48.72 $\pm$ 6.49 <sup>ab</sup>	37.43 $\pm$ 6.72 <sup>ab</sup>	20.35 $\pm$ 4.68 <sup>ab</sup>
II 期	37	41.53 $\pm$ 9.73 <sup>abc</sup>	31.74 $\pm$ 7.54 <sup>abc</sup>	26.86 $\pm$ 5.61 <sup>ab</sup>
III 期	22	34.63 $\pm$ 6.57 <sup>a</sup>	20.35 $\pm$ 4.68 <sup>a</sup>	43.26 $\pm$ 6.35 <sup>a</sup>
F		31.751	28.476	19.743
P		0.022	0.028	0.033

<sup>a</sup>:  $P < 0.05$ , 与对照组比较; <sup>b</sup>:  $P < 0.05$ , 与 III 期比较; <sup>c</sup>:  $P < 0.05$ , 与 I 期比较

### 3 讨 论

宫颈癌发病机制较为复杂, 主要是患者的遗传背景和外界生活环境等因素在特定条件下诱发的。Th 是可以合成多种免疫因子的淋巴细胞, 近年来越来越多的研究关注 Th 在人体免疫系统发挥的功能。免疫因子在体内可以发挥多种细胞学功能, 如促进相关的淋巴细胞分化和成熟<sup>[7]</sup>。同时各类免疫因子在体内可相互调节和制约, 有效稳定体内免疫功能。有研究发现 Th2 细胞亚群细胞因子水平上升, 可干扰体内的细胞免疫功能, 使肿瘤细胞发生免疫逃逸。Th1 细胞亚群分泌 IFN- $\gamma$  和 IL-2, 可有效刺激细胞免疫活力, 当 Th1 功能较强时, 机体的细胞免疫可有效抑制肿瘤细胞的活力<sup>[8]</sup>。Th2 主要分泌 IL-4 等细胞因子, 可参与体液免疫反应, 体内分泌较多的 Th2 细胞因子后, 细胞免疫的抗肿瘤能力受到削弱, Th1/Th2 失衡可使肿瘤细胞发生逃避免疫监视, 诱发患者病情恶化, 通过检测 Th1/Th2 细胞因子分泌水平, 可分析 Th1/Th2 细胞亚群功能状态<sup>[9]</sup>。因此, 探讨宫颈癌患者相关淋巴细胞免疫活性的变化可为宫颈癌的治疗夯实理论基础。

目前临床研究表明, HPV 感染和宫颈癌病变密切相关<sup>[10]</sup>。PENG 等<sup>[10]</sup>发现, 宫颈癌组患者高危型 HPV 感染率可达 85.45%, HPV 干扰淋巴细胞的正常功能, 刺激宫颈上皮细胞的异常增殖。HAN-PRASERTPONG 等<sup>[11]</sup>研究发现在胃肠道肿瘤患者不同 Th 细胞比例的变化与癌基因相关的特异转录因子表达有密切关系, 进而参与调控肿瘤信号通路。孟建华<sup>[12]</sup>通过流式细胞术, 检测了 103 例宫颈癌患者外周血中的 Th1/Th2 比例, 发现分化等级较高的宫颈癌患者 Th1 比例下降, Th2 比例上升。本研究发现, Th1 细胞比例在 I 期宫颈癌患者中较高, Th2 细胞比例在 III 期宫颈癌患者中较高, 这与以往研究一致<sup>[13-14]</sup>。通过免疫组织化学试验发现 IFN- $\gamma$ 、IL-2 在 III 期患者中的阳性率分别为 31.8%、36.7%, 较对照

组下降明显, 患者肿瘤分级上升, IFN- $\gamma$ 、IL-2 阳性率逐步下降, IL-4 阳性率逐步上升。BREBI 等<sup>[15]</sup>在研究宫颈癌前病变和宫颈癌组织中 IFN- $\gamma$ 、IL-2 等淋巴因子表达水平变化时, 发现其与患者病程变长和临床分期升高呈负相关, 这与本研究一致。张晓姗等<sup>[16]</sup>发现 Th1 可合成并分泌 IFN- $\gamma$ 、IL-2 等细胞因子, 可促使免疫功能紊乱, 削弱免疫系统对癌细胞的杀伤能力; Th2 可合成分泌 IL-4 因子, 促使 Th1/Th2 细胞因子分泌失衡, 引起宫颈上皮细胞分裂周期失控, 与本研究结果一致。梁毓等<sup>[17]</sup>在胃癌患者的外周血中检测到 IFN- $\gamma$ 、IL-2 等细胞因子水平的降低, IFN-4 水平的上升, 刺激患者 NK 细胞水平下降, 从而削弱患者的免疫功能, 促进肿瘤细胞生长。有研究表明, IFN- $\gamma$ 、IL-2 可调控促癌基因的异常表达, 加速癌细胞的增殖<sup>[18]</sup>。本研究通过 ELISA 发现 III 期宫颈癌患者血清中 IL-4 水平高于 I 期和 II 期患者 ( $P < 0.05$ ); III 期患者 IFN- $\gamma$ 、IL-2 水平低于 I 期和 II 期患者 ( $P < 0.05$ )。已有研究发现患有肺癌、乳腺癌或胃癌等肿瘤的患者 Th1/Th2 比例异常, 引起其分泌的免疫因子水平有较大的变化, 对肿瘤细胞的生长有较大的刺激作用, 可增强其免疫逃避的功能, 这表明 Th1、Th2 分泌的细胞因子与肿瘤异常生长有内在联系, 这与本研究一致<sup>[19]</sup>。本研究的数据表明, Th1/Th2 细胞因子可反映患者的免疫功能状态, 有助于患者的临床诊断。同时需研究 Th1/Th2 细胞因子影响肿瘤细胞免疫逃避的具体机制, 为相关抗肿瘤药物开发提供试验支持。

综上所述, 宫颈癌患者 Th1/Th2 比例异常, Th1 分泌的 IFN- $\gamma$ 、IL-2 水平下降, Th2 分泌的 IL-4 水平上升, 与宫颈癌的病变关系密切, 为进一步研究打下基础。

### 参考文献

- [1] LI X, ZHOU Q, TAO L, et al. MicroRNA-106a promotes cell migration and invasion by targeting tissue inhibitor of matrix metalloproteinase 2 in cervical cancer[J]. *Oncol Rep*, 2017, 38(3): 1774-1782.
- [2] XU S, TANG Y Y, YU Y X, et al. Novel composite drug delivery system as a novel radio sensitizer for the local treatment of cervical carcinoma[J]. *Drug Deliv*, 2017, 24(1): 1139-1147.
- [3] TABATABAEI M, WALLACE G Q, CAETANO F A, et al. Controlled positioning of analytes and cells on a plasmonic platform for glycan sensing using surface enhanced Raman spectroscopy[J]. *Chem Sci*, 2016, 7(1): 575-582.
- [4] 徐继业, 徐克友. 非小细胞肺癌血清 Th1/Th2 细胞因子表达与化疗疗效的相关性[J]. *中国医药指南*, 2017, 16(14): 130-131.

- [5] 陈海林,徐文生,徐红,等. Th1 和 Th2 细胞因子在子宫内膜癌患者中的表达及临床意义[J]. 广西医科大学学报, 2017,34(5):736-739.
- [6] ZOU Y, LIU F Y, WU J, et al. Mutational analysis of the RAS/RAF/MEK/ERK signaling pathway in 260 Han Chinese patients with cervical carcinoma[J]. *Oncol Lett*, 2017,14(2):2427-2431.
- [7] VEGUNTA S, FILES J A, WASSON M N. Screening women at high risk for cervical cancer: special groups of women who require more frequent screening[J]. *Mayo Clin Proc*, 2017,92(8):1272-1277.
- [8] 苏兰,秦爱兰,冯婷婷,等. 自身免疫性肝病患者外周血 Th1/Th2 细胞的表达及其与肝功能的相关性研究 [J]. 现代生物医学进展, 2017,17(3):476-480.
- [9] WAKAYAMA A, KUDAKA W, NAKASONE T, et al. Secondary uterine carcinosarcoma after concurrent chemoradiotherapy for cervical cancer: case reports[J]. *Gynecol Oncol Rep*, 2017,21:81-83.
- [10] PENG Y, WANG X, FENG H, et al. Is oral contraceptive use associated with an increased risk of cervical cancer? An evidence-based meta-analysis[J]. *J Obstet Gynaecol Res*, 2017,43(5):913-922.
- [11] HANPRASERTPONG J, GEATER A, JIAMSSET I, et al. Fear of cancer recurrence and its predictors among cervical cancer survivors[J]. *J Gynecol Oncol*, 2017,28(6):e72.
- [12] 孟建华. 参芪扶正注射液联合三参芪口服液对宫颈癌术后放疗患者细胞免疫功能的影响[J]. 现代中西医结合杂
- 志, 2017,26(5):477-480.
- [13] PHUTHONG S, SETTHEETHAM-ISHIDA W, NATPHOPSUK S, et al. Haplotype analysis of MDR1 and risk for cervical cancer in northeastern thailand[J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2017,18(7):1815-1819.
- [14] GELE A A, QURESHI S A, KOUR P, et al. Barriers and facilitators to cervical cancer screening among Pakistani and Somali immigrant women in Oslo: a qualitative study [J]. *Int J Womens Health*, 2017,9:487-496.
- [15] BREBI P, ILI C G, ANDANA A, et al. Frequency of Human papillomavirus in women attending cervical cancer screening program in Chile [J]. *BMC Cancer*, 2017, 17(1):518.
- [16] 张晓娜,邓卫平. 腹腔镜下子宫肌瘤剔除术对患者体内免疫功能及氧化应激水平的影响[J]. 中国妇幼保健, 2017, 32(19):4854-4857.
- [17] 梁毓,李颖,兰永连. 不孕原因对窗口期子宫内膜 Th1/Th2 细胞因子的影响[J]. 中国优生与遗传杂志, 2016,24(6):60-62.
- [18] 吴献青,方小玲,聂妹芳,等. IL-1 $\beta$  或 TNF- $\alpha$  干预的子宫蜕膜细胞对母胎界面 Th1/Th2 及 Th17/Treg 平衡的影响[J]. 中南大学学报(医学版), 2017,42(1):66-71.
- [19] LIANG Y, LIU J, LIU T, et al. Anti-c-Met antibody bioconjugated with hollow gold nanospheres as a novel nanomaterial for targeted radiation ablation of human cervical cancer cell[J]. *Oncol Lett*, 2017,14(2):2254-2260.

(收稿日期:2018-03-22 修回日期:2018-07-12)

(上接第 4228 页)

- [12] LI Y, XIANG G M, LIU L L, et al. Assessment of endogenous reference gene suitability for serum exosomal microRNA expression analysis in liver carcinoma resection studies[J]. *Mol Med Rep*, 2015,12(3):4683-4691.
- [13] SUNG Y K, HWANG S Y, PARK M K, et al. Glypican-3 is overexpressed in human hepatocellular carcinoma[J]. *Cancer Sci*, 2003,94(3):259-262.
- [14] LUDWIG A K, GIEBEL B. Exosomes: small vesicles participating in intercellular communication [J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2012,44(1):11-15.
- [15] TKACH M, THÉRY C. Communication by extracellular vesicles: where we are and where we need to go[J]. *Cell*, 2016,164(6):1226-1232.
- [16] SHRIVASTAVA S, DEVHARE P, SUJIJANTARAT N A, et al. Knockdown of autophagy inhibits infectious hepatitis C virus release by the exosomal pathway[J]. *J Virol*, 2016,90(3):1387-1396.
- [17] CONIGLIARO A, COSTA V, LO DICO A, et al. CD90<sup>+</sup> liver cancer cells modulate endothelial cell phenotype through the release of exosomes containing H19 lncRNA [J]. *Mol Cancer*, 2015,14:155.
- [18] CAPURRO M I, XIANG Y Y, LOBE C, et al. Glypican-3 promotes the growth of hepatocellular carcinoma by stimulating canonical Wnt signaling[J]. *Cancer Res*, 2005,65(14):6245-6254.
- [19] 韩娇艳,朱方强,徐祥,等. 川芎嗪通过 Akt 信号通路影响前列腺癌 PC3 细胞的增殖和凋亡[J]. 第三军医大学学报, 2013,35(2):105-108.
- [20] CAO J, MIAO Q, ZHANG J, et al. Inhibitory effect of tetramethylpyrazine on hepatocellular carcinoma: possible role of apoptosis and cell cycle arrest[J]. *J Biol Regul Homeost Agents*, 2015,29(2):297-306.

(收稿日期:2018-03-22 修回日期:2018-05-14)