

细胞间粘附分子-1测定在肝细胞肝癌诊治中的意义

Diagnostic and Therapeutic Significances of Detecting of Intercellular Adhesion Molecule-1 in Hepatocellular Carcinoma

徐 静

梅铭惠

Xu Jing

Mei Minghui

(桂林医学院肝胆外科 桂林市乐群路56号 541001)

(Department of Hepato-Biliary Surgery, Guilin Medical College 56 Lequnlu, Guilin, 541001)

摘要 近年关于细胞间粘附分子-1(ICAM-1)与肝细胞肝癌(HCC)的研究表明,80%~96% HCC组织中 ICAM-1的表达呈阳性,而血清中 ICAM-1与组织 ICAM-1的表达吻合率为87%;体外实验证实血清 ICAM-1来源于肿瘤细胞表面脱落的 ICAM-1;由于血清 ICAM-1来源及结构的特点,可干扰机体免疫系统对肿瘤的监控,使病情迅速发展;临床上观察到血清 ICAM-1水平与 HCC病情的恶化程度成正比。上述研究结果提示:测定血清 ICAM-1水平,有可能成为 HCC早期诊断的血清标记物;血清 ICAM-1水平可作为 HCC预后和疗效判断的指标,对提高 HCC诊治水平具有重要意义。

关键词 细胞间粘附分子 肝细胞肝癌

Abstract The studies on the relationship between intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) and hepatocellular carcinoma (HCC) have recently been shown that expression of ICAM-1 was positive in 80% to 96% HCC cell surface. The identical expression rate of surface and serum ICAM-1 in HCC was 87%; the study in *ex-vivo* demonstrated that serum ICAM-1 was shedded from the HCC tumor itself. We concluded the followings: measurement of serum levels of ICAM-1 may be a useful serum marker for early diagnosing HCC; the changes of serum ICAM-1 level may be a valuable indicator for predicting prognosis and monitoring clinical course of patients with HCC, which are of great significance in improving the results of diagnosing and treating HCC.

Key words intercellular adhesion molecule, hepatocellular carcinoma

中图法分类号 R 735.7

肝细胞肝癌(HCC)的早期诊断,疗效及预后判断等仍是 HCC研究中的重要内容,直接关系到治疗方法的合理选择和患者的远期生存率。进入80年代后期,细胞间粘附分子-1(ICAM-1)在一些恶性肿瘤中的过度表达(如黑色素瘤,卵巢癌,小细胞肺癌,胃癌及结肠癌等)成为人们研究其与肿瘤浸润和转移,机体免疫功能调节以及肿瘤诊断等方面关系的热点^[1~7]。随着这一研究的不断深入,人们开始对 ICAM-1在肝脏疾病,尤其是 HCC中的表达进行了探讨^[8~12]。临床与实验的初步研究表明, ICAM-1在 HCC中可以两种形式表达,即组织中细胞膜表面 ICAM-1 (surface membrane ICAM-1, smI-

CAM-1)和血清中循环 ICAM-1 (circulating ICAM-1, cICAM-1),其中后者在肿瘤细胞株培养上清液中又称可溶性 ICAM-1 (soluble ICAM-1, sICAM-1)特别是 cICAM-1的水平与患者一些临床表现、生化检验指标、治疗效果及预后密切相关^[13,14]。因此,进一步研究与探讨 ICAM-1的测定与 HCC的关系,是 HCC诊治中一个有深远意义的课题。本文综合介绍近年有关 ICAM-1的结构与功能, ICAM-1与 HCC诊断,疗效观察和预后估计等方面的研究现状及前景。

1 ICAM-1的结构、分布与功能

ICAM-1属免疫球蛋白(Ig)超家族成员,是分子量为80~110KD的跨膜蛋白,含有5个椭圆体,以非成对形式存在的同源结构区,是淋巴细胞功能相关抗原

-1 (LFA-1) 的配体。分布于多种细胞的表面,如骨髓淋巴细胞,肝窦上皮细胞,脐静脉上皮细胞,表皮成纤维上皮细胞,肾上皮细胞等。其表达对炎性细胞因子如 IL-1, IFN- γ , TNF- α 的诱导高度敏感^[15,16]。近年来,正常人血清中还发现了 cICAM-1^[17,18],其正常值为 100 ng/mL~200 ng/mL^[17],这一类型的 cICAM-1 几乎包含了 smICAM-1 所有膜结合分子的细胞外结构区,因而具有与 LFA-1 结合的能力。现已证明免疫球蛋白超家族成员的主要功能是参与细胞的识别与粘附,ICAM-1 是白细胞积聚和 LFA-1 依赖 T 细胞活化不可缺少的分子,对机体免疫功能的调节具有重要意义^[19]。

2 HCC 的早期诊断与 ICAM-1

应用免疫组织化学法分析 HCC 细胞膜表面 ICAM-1 表达的结果显示,80%~96.2% 癌细胞膜表面 ICAM-1 染色为阳性,其表现形式呈蜂窝样 (honeycomblike)^[10-12,19]。而癌旁正常肝细胞 ICAM-1 的表达为阴性。这一研究说明与其他恶性肿瘤一样,HCC 细胞 smICAM-1 的表达阳性极率极高,被认为是肝细胞恶变的结果,其表达水平与 HCC 的分化程度有关^[20]。更具有临床意义的研究是, Momosaki 等应用免疫组织化学和酶联免疫吸附测定技术 (ELISA) 同时测定 HCC 肿瘤细胞株细胞 smICAM-1 和细胞株培养上清液中 sICAM-1 的表达,结果发现两种形式 ICAM-1 的表达有较好一致性^[10]。其表达吻合率 (同时阳性或阴性) 为 87.5% (7/8),且 sICAM-1 的阳性高于 smICAM-1。另一研究也认为 sICAM-1 的浓度与 smICAM-1 的表达一般来说密切相关^[11]。HCC 细胞株 ICAM-1 表达相关性的初步研究提示,测定血清中 cICAM-1 有可能成为早期诊断 HCC 的一个标志物。尤其是 AFP 呈阴性的 HCC 患者。因为临床研究表明,HCC 病人 cICAM-1 与 AFP 的表达不一致^[9,11,14]。Falletti 等在 HCC 和非肿瘤性慢性肝病病人 AFP 测定与常规肝功能和 ICAM-1 测定的相关分析中,结果显示 cICAM-1 的表达与 AFP 相关系数最高 ($r = 0.430, P < 0.001$),多变量分析则发现 cICAM-1 是 AFP 最强的独立的预测因素。因此他们认为 cICAM-1 是肝细胞炎症损伤与发生恶变之间的一个环节^[21]。Adams Shimizu Hyodo^[8,9,11] 等人的临床观察均证实,与正常人、慢性肝炎和肝硬化患者相比,HCC 患者血清中 cICAM-1 的浓度明显升高,三组报告 HCC 患者 cICAM-1 的平均值分别是 759, 77 和 630 ng/mL。进一步的分析发现 cICAM-1 水平的高低与肿瘤大小,病理分化程度,血清总胆

红素和患者生存期密切相关^[9,12,14],当肿瘤大小为 100 cm³ 时 cICAM-1 水平要更高。其相关性要比患者血清中淋巴细胞功能相关抗原-3 (sLFA-3) 与上述指标的相关程度高。

3 cICAM-1 的来源

HCC 中血清 cICAM-1 的准确来源并不清楚。已知炎性细胞因子可刺激和向上调节 (upregulate) sICAM-1 和 smICAM-1 的表达,然而一些作者指出,HCC 血清 cICAM-1 来源于 HCC 细胞自身,即 smICAM-1 自肿瘤细胞表面脱落入血中,并非炎性细胞刺激的结果^[10,11,22]。其根据是:(1)由原先 ICAM-1 表达为阴性的正常组织细胞株衍生而来的肿瘤细胞 ICAM-1 的表达转为阳性^[10];(2)正常鼠肝细胞经炎性细胞因子刺激后,其 smICAM-1 表达呈阳性但其细胞株培养上清液中并无 sICAM-1,不管是否使用炎性细胞因子刺激^[22,23];(3)体外实验证实,尽管没有用任何炎性细胞因子,HCC 细胞株上清液可测到 sICAM-1^[10,11,22]。上述研究结果支持这样一种概念,即 HCC 病人高水平 cICAM-1 归结于肿瘤细胞自身。因此, Momosaki, Shimizu 等认为 HCC 病人血清 cICAM-1 水平的升高实质是肝细胞恶变的结果,并非慢性炎症性肝病的缘故,血清 cICAM-1 来自持续脱落于 HCC 细胞膜表面的 smICAM-1^[10,11]。用血清脱落 cICAM-1 量 = 实际 cICAM-1 基础 cICAM-1 (非癌性肝病水平) 公式作为测定 HCC 患者血清中脱落于 HCC 细胞 cICAM-1 的量,Hyodo 等认为 cICAM-1 的水平高低与肿瘤的大小密切相关^[12]。以上有关 cICAM-1 来源的初步研究提示,测定 cICAM-1 有可能成为 HCC 诊断的血清标记物之一,尤其是对 AFP 阴性的患者。有关于此的进一步研究无疑具有重要的临床价值。

4 ICAM-1 与 HCC 预后及疗效判断

肿瘤的生物特性宿主的免疫功能是决定肿瘤病人预后的两个关键因素。临床观察发现^[4,9,11] cICAM-1 水平的高低与病人的临床表现 (如肿瘤大小,数目,临床分期),生化检查指标 (总胆红素,血清 AST, γ 球蛋白,凝血酶元时间,凝血绿滞留率试验等),肿瘤分化程度和门静脉受侵犯的程度等相关。肿瘤体积愈大,临床分期愈晚,肝功能损害愈严重,患者 cICAM-1 的水平也愈高,说明血清高水平 cICAM-1 是 HCC 病情进展的一个标志^[14]。分析 cICAM-1 水平与 HCC 生存期间的关系, Shimizu 等发现^[11],行 TAE 治疗的 HCC 患者血清 cICAM-1 水平 < 1000

ng/mL者,其生存期明显长于 cICAM-1 > 1000 ng/mL者 ($p = 0.0005$),肿瘤中度分化的患者, cICAM-1 < 1000 ng/mL者生存期也明显长于 > 1000 ng/mL者 ($p = 0.02$) Hamazaki^[14]等人也观察到 III-IV 期 HCC 患者 cICAM-1 的水平明显高于 I 期患者,有肝内转移者明显高于无肝内转移者。这提示对 HCC 来说, cICAM-1 水平可作为预后判断的标志。换言之, cICAM-1 的水平越高,患者的预后越差。他们进一步指出,至少有两种现象支持这一观点: (1) 在黑色素瘤 smICAM-1 表达程度与肿瘤转移关系的研究中发现,当 smICAM-1 表达增强时,肿瘤转移的潜在性也加大,而且转移灶 smICAM-1 的表达强于原发灶^[23,24],两者 smICAM-1 表达的阳性率分别为 89% 和 69%^[25]。说明 ICAM-1 的表达与肿瘤的生物特性密切相关^[11]; (2) 血清高浓度 cICAM-1 可抑制宿主的免疫反应。体外实验证明 50 ng/mL 和 1000 ng/mL 重组 sICAM-1 蛋白可分别强烈抑制非 MHC 限制和 T 细胞介导的细胞毒性作用^[1,26]。这与 cICAM-1 的结构和功能有关。为进一步了解 sICAM-1 的结构和功能, Rothlein 等用对 ICAM-1 D1, D2, D4 和 D5 区特定的单克隆抗体 (mAb) 测定与 sICAM-1 的结合,结果发现 sICAM-1 保留了 ICAM-1 几乎所有的膜结构特点,而采用抗 D5 区 mAb CA 固定 sICAM-1 后测定 mAb-sICAM-1 复合物能否激活依赖 LFA-1 结合的 SKW-3 细胞,结果进一步证实 sICAM-1 保留了所有与 LFA-1 结合所必需的结构。因此,事实上 cICAM-1 仍是 LFA-1 的配体。这一研究初步揭示了 ICAM-1 与机体免疫功能和肿瘤转归的内在联系。由于 cICAM-1 的上述结构功能特点,当其与 LFA-1 结合后,可以阻断效应白细胞对靶细胞的有效识别,即 LFA-1 与肿瘤细胞 smICAM-1 的结合。体外实验表明, LFA-1 抗体可抑制淋巴细胞的粘附和迁移功能^[27],由此,人们推测 cICAM-1 在体内可起到与 LFA-1 抗体类似的作用^[8]。当 cICAM-1 与宿主免疫监测系统的白细胞结合后,打断了免疫系统对新生长肿瘤细胞的清除,中断了激活静止 CD4⁺ 和 CD8⁺ T 淋巴细胞所必需的信号^[28],随着肿瘤的不断生长与肿块的增大,脱落于肿瘤细胞的 cICAM-1 不断进入周围组织和血液循环,形成了一个保护肿瘤免遭机体免疫系统攻击的防御环境^[9],最终导致了病情的迅速恶化和不良预后。HCC 中肿瘤浸润淋巴细胞含量较少这一事实也支持上述的推测。为此人们认为 cICAM-1 水平的测定是估计 HCC 病情和预后的参考指标^[9]。临床上还发现 cICAM-1 水平的变化与疗效有关,Hyodo Shimizu 等报告经 TAE 治疗的 HCC 患者其原先高水平的 AFP

和 cICAM-1 在治疗后随病情的缓解而下降,且下降的程度与患者的远期生存期成正比^[9,11], Marui Hamazaki 等人报告 HCC 病人用干扰素治疗病情缓解后或行肝肿瘤切除后,血清 cICAM-1 的水平也明显下降^[13,14]。反之,改变不明显。进一步证实了 cICAM-1 测定在 HCC 病人预后及疗效判断中的价值。

5 展望

现阶段 ICAM-1 与 HCC 的研究在以下几方面已初见端倪:

(1) ICAM-1 在 HCC 组织和血清中均有过度表达,两者的表达吻合率为 87%; 血清 cICAM-1 来源于 HCC 细胞表面脱落的 ICAM-1。基于以上事实,可以预测,测定 cICAM-1 有可能成为 HCC 诊断的敏感的血清标志物,尤其是 AFP 阴性的 HCC。

(2) cICAM-1 为 LFA-1 的配体,在体内起到 LFA-1 抗体类似的作用,从而干扰了宿主免疫功能。因此,对 cICAM-1 来源结构与功能的进一步研究将有助于了解其在调节宿主免疫功能,肿瘤的生长与浸润等机制中的作用,进而找到防止其对宿主免疫功能干扰的对策和为临床准确估计预后提供依据。

(3) 临床初步观察证明, cICAM-1 的改变与疗效相关,因此 cICAM-1 水平的测定可能成为合理选择 HCC 治疗方法和评价疗效的客观指标,进一步提高 HCC 的外科疗效。

致谢

本文得到同济医科大学戴植本教授审校,在此谨表谢忱!

参考文献

- 1 Becker JC et al. Shedding of ICAM-1 from human melanoma cell lines induced by IFN- γ and tumor necrosis factor- α . Functional consequences on cell-mediated cytotoxicity. *J Immunology*, 1991, 147: 4398.
- 2 Temponi M et al. Profile of intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) synthesized by human melanoma cell lines. *Semin in Oncol*, 1988, 15: 595.
- 3 Natali P et al. Differential expression of intercellular adhesion molecule-1 in primary and metastatic melanoma lesions. *Cancer Res*, 1990, 50: 1271.
- 4 Tsujisaki K et al. Detection of circulating intercellular adhesion molecule-1 antigen in malignant diseases. *Clin Exp Immunol*. 1991, 85: 3.
- 5 Koyama S et al. Expression of intercellular adhesion molecule-1 during the development of invasion and/or metastasis of gastric carcinoma. *J Cancer Res Clin On-*

- ool, 1992, 118: 609.
- 6 Tomita Y et al. Expression of intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) on renal-cell cancer: possible significance in human immune response. *Int J Cancer*, 1990, 46: 1001.
 - 7 Zoehrens G et al. Intercellular adhesion molecule-1 concentration in sera of patients with acute and chronic liver disease: relationship to disease activity and cirrhosis. *Hepatology*, 1993, 18: 798.
 - 8 Adams D. H et al. Detecting of circulating intercellular adhesion molecule-1 in chronic liver diseases. *Hepatology*, 1992, 16: 810.
 - 9 Hyodo I et al. Detection of circulating intercellular adhesion molecule-1 in hepatocellular carcinoma. *Int J Cancer*, 1993, 55: 775.
 - 10 Momosaki S et al. Expression of intercellular adhesion molecule-1 in human hepatocellular carcinoma. *Hepatology*, 1995, 22: 1708.
 - 11 Shimizu Y et al. Serum concentration of intercellular adhesion molecule-1 in patients with hepatocellular carcinoma is a marker of the disease progression and prognosis. *Hepatology*, 1995, 22: 525.
 - 12 Hyodo I et al. Intercellular adhesion molecule-1 release from human hepatocellular carcinoma. *Cancer Detect Prev*, 1996, 20: 308.
 - 13 Marui A et al. Serum levels of soluble intercellular adhesion molecule-1 and soluble vascular cell adhesion molecule-1 in liver diseases and their changes by treatment with interferon. *J Int Med Res*, 1996, 24: 258.
 - 14 Hamazaki K et al. Serum levels of circulating intercellular adhesion molecule-1 in hepatocellular carcinoma. *Hepato-gastroenterology*, 1996, 43: 229.
 - 15 Dustin M L et al. Induction by IL-1 and interferon- γ tissue distribution, biochemistry and function of a natural adherence molecule (ICAM-1). *J Immunol*, 1986, 137: 245.
 - 16 Wertheimer S J et al. Intercellular adhesion molecule-1 gene expression in human endothelial cells. *J Biol Chem*, 1992, 267: 12030.
 - 17 Rothlein R et al. A form of circulating ICAM-1 in human serum. *J Immunol*, 1991, 147: 378815.
 - 18 Seth R et al. Circulating ICAM-1 isoforms: diagnostic prospects for inflammatory and immune disorders. *Lancet*, 1991, 338: 83.
 - 19 Torri A et al. Expression of intercellular adhesion molecule-1 in human hepatocellular carcinoma. *J Surg Oncol*, 1993, 53: 239.
 - 20 Ihara A et al. Expression of epithelial cadherin and alpha and beta catenins in nontumoral livers and hepatocellular carcinoma. *Hepatology*, 1996, 23: 1441.
 - 21 Falletti E et al. Circulating intercellular adhesion molecule-1 predicts non-specific elevation of alpha-fetoprotein. *J Cancer Res Clin Oncol*, 1996, 122: 366.
 - 22 Shimizu Y et al. Modulation by cytokines on the surface expression and shedding of ICAM-1 in human liver cancer cell lines. *Int Hepatol Commun*, 1994, 2: 56.
 - 23 Morita M et al. Inflammatory cytokines upregulate intercellular adhesion molecule-1 expression on primary cultured mouse hepatocytes and T-lymphocyte adhesion. *Hepatology*, 1994, 19: 426.
 - 24 Johnson J P et al. De novo expression of intercellular adhesion molecule-1 in melanoma correlates with increased risk of metastasis. *Proc Natl Acad Sci*, 1989, 86: 641.
 - 25 Kageshita T et al. Clinical relevance of ICAM-1 expression in primary lesion and serum of patients with malignant melanoma. *Cancer Res*, 1993, 53: 4927.
 - 26 Becker J C et al. Soluble intercellular adhesion molecule-1 inhibits MHC-restricted specific T cell/tumor interaction. *J Immunol*, 1993, 151: 7224.
 - 27 Oppenheimer-Marks N et al. Differential utilization of ICAM-1 and VCAM-1 during the adhesion and transendothelial migration of human T lymphocytes. *J Immunol*, 1991, 147: 2913.
 - 28 Fodazione A et al. Human hepatoma cells expression MHC antigens display accessory cell function: dependence on LFA-1/ICAM-1 interaction. *Immunology*, 1994, 82: 215.

(责任编辑: 莫鼎新)