

## ◇ 临床医学研究 ◇

## 结直肠癌中 ICAM-1 和 VCAM-1 的表达和临床意义

吴 勇, 刘 弋

**摘要** 目的 检测细胞间黏附分子-1 (ICAM-1) 和血管细胞黏附分子-1 (VCAM-1) 在结直肠癌 (CRC) 组织和外周血中的表达, 探讨 ICAM-1 和 VCAM-1 在 CRC 发生、转移中的作用和临床意义。方法 应用免疫组织化学法 (SP 法) 测定 78 例 CRC 原发病灶及癌旁正常组织、42 例结直肠腺瘤组织中 ICAM-1 和 VCAM-1 的表达, 用 ELISA 法检测 78 例 CRC 患者和 40 例健康者血清 ICAM-1 和 VCAM-1 的含量。结果 CRC 原发病灶组织中 ICAM-1 和 VCAM-1 的表达明显高于结直肠腺瘤组织和癌旁正常组织, 差异有统计学意义 ( $P < 0.01$ ); CRC 组血清 ICAM-1 和 VCAM-1 含量明显高于正常对照组 ( $P < 0.01$ ); 组织中 ICAM-1 和 VCAM-1 的表达与性别、年龄、肿瘤部位及组织学分型无关 ( $P > 0.05$ ), 但与淋巴结转移及 Dukes 分期有相关性 ( $P < 0.01$ )。结论 ICAM-1 和 VCAM-1 在 CRC 原发病灶组织和外周血中均呈高表达, 且随着肿瘤浸润转移的发展而增加, 其可能对肿瘤的进展、恶性程度的判断及发生机制具有重要意义。

**关键词** 结直肠癌; 细胞间黏附分子-1; 血管细胞黏附分子-1; 免疫组织化学法; ELISA

**中图分类号** R 735.3

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2015)08-1124-04

结直肠癌 (colorectal cancer, CRC) 是我国最常见的恶性肿瘤之一, 近年来, 其发病率呈逐年增高的趋势, 虽已进行广泛的研究, 但其发生与发展的机制尚不明确, 且行手术时多已存在转移灶, 因此行根治性手术之后, 部分患者出现复发, 很多学者正在寻找一些客观的生物指标, 用于 CRC 的早期诊断及预测患者侵袭转移情况。黏附分子 (cell adhesion molecules, CAMs) 是介导细胞与细胞或细胞与基质之间相互接触和结合的一类大分子, 其中, 细胞间黏附分子-1 (intercellular adhesion molecule-1, ICAM-1) 和血管细胞黏附分子 (vascular cell adhesion molecule-1, VCAM-1) 是属于免疫球蛋白超家族的黏附分子, 这两种分子不仅在细胞免疫介导机制尤其是抗原提呈和识别、淋巴细胞细胞毒作用中起重要作用, 而且与肿瘤的一些生物学行为如侵袭转移等均有一定联系<sup>[1]</sup>。该研究应用免疫组化和 ELISA 法对 CRC 患者组织和血清中 ICAM-1 和 VCAM-1 进行测定, 探讨 ICAM-1 和 VCAM-1 在 CRC 发生、发展的不同阶段的作用, 为 CRC 的诊断、治疗及预后判断提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 病例资料 收集安徽医科大学第一附属医院

2015-03-31 接收

基金项目: 安徽省国际科技合作计划 (编号: 1303063016)

作者单位: 安徽医科大学第一附属医院普通外科二病区, 合肥 230022

作者简介: 吴 勇, 男, 硕士研究生;

刘 弋, 男, 教授, 主任医师, 硕士生导师, 责任作者, E-mail: yiliu@medmail.com.cn

and investigate the potential molecular mechanism. **Methods** We conducted vivo studies in C57BL/6J mice fed with ethanol Lieber-DeCarli liquid diet and treated with RSV (10, 30, 100 mg/kg) and GSH (200 mg/kg). **Results** The results showed that RSV (30 or 100 mg/kg) treatment significantly attenuated hepatic steatosis with lowering activities of serum alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST) and levels of hepatic triglyceride (TG), increasing superoxide dismutase (SOD) activities, decreasing malondialdehyde (MDA) content, although the levels of serum TG were not changed significantly. Immunohistochemistry analysis and HE staining showed that RSV suppressed the expression of adipose differentiation-related protein (ADRP) and reduced hepatic lipid accumulation. Western blot analysis showed that RSV stimulated AMP-activated protein kinase (AMPK) activity and inhibited lipin1 expression. **Conclusion** RSV has protective effects on alcoholic fatty liver, and the potential mechanism might be involved in activation of AMPK-lipin1 signaling and its antioxidant roles.

**Key words** resveratrol; alcoholic fatty liver; AMPK; lipin1

普通外科二病区 2013 年 4 月 ~ 2014 年 3 月 78 例 CRC 准备手术者术前空腹血清、术后肿瘤组织及癌旁正常组织标本,手术切除后均经病理证实为腺癌, CRC 患者中,男 53 例,女 25 例;年龄 34 ~ 78 岁,中位年龄 63 岁;结肠癌 47 例,直肠癌 31 例;高中分化 51 例,低分化 27 例;Dukes 分期: A/B 期 30 例, C/D 期 48 例;所有患者术前未接受放疗、化疗、生物治疗及免疫治疗;癌旁组织取自同一病人距离肿瘤边缘 5 cm 以上组织,病理证实均为正常结直肠组织。42 例纤维结肠镜切除的结直肠腺瘤标本,男 28 例,女 14 例;年龄 28 ~ 54 岁,中位年龄 42 岁;其中管状腺瘤 20 例,绒毛状腺瘤 14 例,混合性腺瘤 8 例。40 例正常病例均系我院同期体检者,血常规、胸透等正常,既往无心、肝、肺、肾等相关疾病。

**1.2 主要试剂** 鼠抗人 ICAM-1 单克隆抗体、鼠抗人 VCAM-1 单克隆抗体、SP 免疫组化染色试剂盒均购自安徽安科生物工程有限公司, ICAM-1 和 VCAM-1 ELISA 试剂盒购自北京中杉金桥生物技术有限公司。

**1.3 主要仪器** ELISA 检测仪、Nikon eclipse E800 光学显微镜(日本 Nikon 公司); JD801 形态学图像分析仪(江苏捷达科技发展有限公司)。

#### 1.4 实验方法

**1.4.1 免疫组化法及其判断标准** 所有标本经 10% 福尔马林固定,石蜡包埋,连续切片约 4  $\mu\text{m}$  厚,操作步骤严格按照试剂盒说明书进行;选用 ICAM-1 及 VCAM-1 的典型阳性病例作为阳性对照,阴性对照以 PBS 缓冲液替代一抗。采用半定量法,光镜下分析排除非特异性染色,阳性细胞染色部位主要位于细胞膜和细胞质,呈棕褐色颗粒,以细胞着色多少划分: < 5% 为阴性, 5% ~ 25% 为弱阳性, 26% ~ 50% 为阳性,  $\geq 51\%$  强阳性;将阴性和弱阳性归为低表达(-),阳性和强阳性归为高表达(+).

**1.4.2 血清 ICAM-1 和 VCAM-1 浓度测定** 清晨空腹采静脉血 3 000 r/min 离心 10 min,于 -20  $^{\circ}\text{C}$  低温冰箱中保存待测,相关实验步骤严格按照说明书操作。通过 ELISA 法检测血清 ICAM-1 和 VCAM-1 水平,通过酶标仪测定吸光度值,绘制标准曲线,计算各样本血清浓度。

**1.5 统计学处理** 采用 SPSS 13.0 统计软件进行分析,计量资料采用  $\bar{x} \pm s$  表示,采用独立样本  $t$  检验进行比较;计数资料采用  $\chi^2$  检验,同时计算列联系数;直线相关分析相关性。

## 2 结果

**2.1 各组组织中 ICAM-1 和 VCAM-1 的表达** 免疫组化显示 ICAM-1 的阳性表达以细胞膜为主,细胞质中也有表达。ICAM-1 在癌旁正常组织和腺瘤组织中低表达,而在 CRC 组织中高表达,且差异均有统计学意义( $P < 0.01$ ); VCAM-1 为细胞膜着色,部分也可呈胞质着色,其在 CRC 组表达明显高于癌旁正常组及腺瘤组,差异有统计学意义( $P < 0.01$ )。见表 1、图 1。

表 1 ICAM-1 和 VCAM-1 在不同组织中的表达情况( $n$ )

组别	$n$	ICAM-1(+)	$\chi^2$ 值	$P$ 值	VCAM-1(+)	$\chi^2$ 值	$P$ 值
癌旁正常	78	15	30.64*	<0.001	11	64.48*	<0.001
腺瘤	42	14	9.52*	0.002	20	11.64*	0.001
CRC	78	49			61		

\* 表示与 CRC 组比较

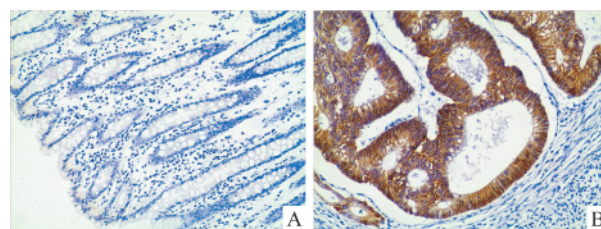


图 1 癌旁正常组织和 CRC 组织中 ICAM-1 的表达 SP  $\times 100$

A: 癌旁正常组织; B: 癌组织

**2.2 各组血清中 ICAM-1 和 VCAM-1 测定** CRC 组血清中 ICAM-1 浓度为  $(356.6 \pm 44.3) \mu\text{g/L}$ ,明显高于正常组  $(237.7 \pm 34.5) \mu\text{g/L}$ ,差异有统计学意义( $t = 14.86$ ,  $P < 0.01$ ); CRC 组血清 VCAM-1 浓度为  $(898.6 \pm 51.2) \mu\text{g/L}$ ,明显高于正常组  $(457.3 \pm 35.7) \mu\text{g/L}$ ,差异有统计学意义( $t = 48.64$ ,  $P < 0.01$ )。

**2.3 CRC 组织中 ICAM-1 和 VCAM-1 水平与各临床病理特征之间的关系** CRC 组织中 ICAM-1 及 VCAM-1 的表达与性别、年龄、组织学分型及肿瘤部位无关,而与 Dukes 分期和淋巴结转移密切相关;有淋巴结转移者及 Dukes C/D 期的 CRC 组织中 ICAM-1 和 VCAM-1 表达明显高于无转移及 Dukes A/B 期者,差异有统计学意义( $P < 0.01$ );随着分化程度的降低,组织中 ICAM-1 和 VCAM-1 表达越高,但差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。见表 2。

**2.4 组织与血清中 ICAM-1 及 VCAM-1 水平的相关性分析** 78 例 CRC 组织中 ICAM-1 和 VCAM-1 共高表达 43 例,共低表达 11 例, ICAM-1 高表达而

VCAM-1 低表达 6 例, ICAM-1 低表达而 VCAM-1 高表达 18 例。经  $\chi^2$  分析同时计算列联系数, CRC 组织中 ICAM-1 和 VCAM-1 的表达呈正相关 ( $\chi^2 = 7.052$ ,  $r = 0.301$ ,  $P < 0.01$ ); CRC 血清中 ICAM-1 和 VCAM-1 水平呈正相关关系 ( $r = 0.461$ ,  $P < 0.01$ )。

表 2 ICAM-1 和 VCAM-1 的表达与 CRC 临床病理参数的关系 (n)

组别	n	ICAM-1(+)	$\chi^2$ 值	P 值	VCAM-1(+)	$\chi^2$ 值	P 值
性别							
男	53	34	0.13	0.718	41	0.07	0.791
女	25	15			20		
年龄(岁)							
≤55	28	16	0.6	0.439	20	1.18	0.277
>55	50	33			41		
分化程度							
高中	51	30	1.01	0.315	38	1.18	0.277
低	27	19			23		
肿瘤部位							
结肠	47	30	0.05	0.823	36	0.18	0.671
直肠	31	19			25		
Dukes 分期							
A/B 期	30	13	7.93	0.005	18	9.47	0.002
C/D 期	48	36			43		
淋巴结转移							
有	43	33	7.95	0.005	39	7.27	0.007
无	35	16			22		

### 3 讨论

ICAM-1 为一种介导细胞间或细胞与细胞外基质相互作用的单链跨膜糖蛋白,其广泛表达于单核细胞、淋巴细胞、血管内皮细胞和肿瘤细胞表面<sup>[2]</sup>,其以淋巴细胞功能相关抗原-1 (lymphocyte function associated antigen-1, LFA-1) 为配体<sup>[3]</sup>。VCAM-1 也是一种跨膜糖蛋白,其在正常细胞上不表达或很少表达,通常在活化的内皮细胞、树突细胞等表达,其配体为迟现抗原-4 (very late appearing antigen-4, VLA-4)。两种黏附分子主要作用是调节细胞之间和细胞与胞外基质的黏附,其还参与细胞信号转导、细胞生长与移行、免疫及炎症反应、肿瘤侵袭转移及血管生长等一系列病理生理过程<sup>[4]</sup>。

黏附分子促进肿瘤浸润和转移的机制可能为:

- ① 原发灶的相邻癌细胞间出现黏附异常,使肿瘤细胞从原发部位脱落;
- ② 肿瘤细胞脱落后在循环中运行时,黏附分子促进血管内游离癌细胞与靶器官的血管内皮细胞黏附;
- ③ 肿瘤细胞自靶器官血管内传出并向基质内侵入时,黏附分子影响肿瘤细胞从血管内向血管外游出<sup>[5]</sup>。

研究<sup>[6]</sup>表明,在结肠癌组织中 VCAM-1 mRNA 的表达是正常对照组的 3.4 倍,且有转移的结肠癌组织中 VCAM-1 mRNA 的表达高于无转移的结肠癌组织; Epperly et al<sup>[7]</sup>认为 ICAM-1 通过炎症反应参与肿瘤的转移。本实验中 CRC 组织中有高表达的 ICAM-1 和 VCAM-1,而癌旁正常黏膜组织和结直肠腺瘤组织没有或仅有低水平表达,且随着肿瘤分期的增高及淋巴结转移的出现,其表达程度越高,因此可推断组织中 ICAM-1 和 VCAM-1 的高表达可能参与细胞间异质性黏附,为肿瘤进一步浸润与转移提供先决条件。

Kaihara et al<sup>[8]</sup>认为,在胃癌患者血清中 ICAM-1 含量比正常人高,并认为血清中 ICAM-1 含量升高与肿瘤发展的程度相关; Charpin et al<sup>[9]</sup>认为 VCAM-1 与其配体 VLA-4 的结合激活了组织中血管内皮细胞,血管内皮细胞的激活促进了血管的生成,方便了肿瘤的转移,而且 VCAM-1 与 VLA-4 的结合有利于肿瘤细胞脱落进入血管或向邻近纤维蛋白和结缔组织基质扩散,为肿瘤进一步浸润转移创造条件。本研究 CRC 患者血清中 ICAM-1 和 VCAM-1 表达明显高于正常者;随着病情进展,特别是伴随着淋巴结和远处转移的发生,患者 ICAM-1 和 VCAM-1 表达显著增加,表明血清 ICAM-1 和 VCAM-1 含量在一定程度上反映了肿瘤的侵袭转移能力,其含量测定有助于 CRC 恶性程度的判断和预后评估,且癌组织中 ICAM-1 和 VCAM-1 的表达呈正相关性,血清中其水平也显著相关,两者在肿瘤的发展过程中起协同效应;因此,高表达的 ICAM-1 和 VCAM-1 可能是促使 CRC 细胞转移的重要原因。

以往较多采用免疫组化或 ELISA 法研究 ICAM-1 和 VCAM-1 的作用,将两者相结合的实验较少,其可进一步揭示 ICAM-1 和 VCAM-1 在 CRC 患者发病各阶段中的作用,为 ICAM-1 和 VCAM-1 的致病机制的研究提供证据。据推测,两种黏附分子在肿瘤微血管中的表达有利于细胞毒性淋巴细胞对肿瘤的作用并且促进单核细胞和 T 细胞穿过内皮细胞以促进肿瘤的血管形成<sup>[10]</sup>;另一方面,血清中 ICAM-1 和 VCAM-1 能够干扰自然杀伤细胞和淋巴细胞活化细胞对肿瘤细胞的反应活性,从而促进患者转移的发展<sup>[11]</sup>。组织中的 ICAM-1 和 VCAM-1 表达增加多发生于 CRC 的早期,其可进一步鉴别良恶性组织;血清中 ICAM-1 和 VCAM-1 的表达更多见于发生淋巴结和远处转移的患者,而淋巴结和远处转移是肿瘤预后的重要指标,因此血清中 ICAM-1 和 VCAM-1

可进一步揭示病情和患者预后。ICAM-1 和 VCAM-1 在 CRC 组织和血清中的表达均呈正相关性,进一步揭示黏附分子在肿瘤浸润转移过程中的促进作用,其在 CRC 组织和外周血的表达研究为肿瘤浸润转移机制提供了更加全面的思路和方法,为肿瘤的早期诊断和治疗提供了依据。

### 参考文献

- [1] 周琳瑛,陈朝元,梁平,等. ICAM-1, VCAM-1 在 Hp 阳性良性胃黏膜病变及胃癌中的表达[J]. 世界华人消化杂志, 2000, 8(3): 279-81.
- [2] Kang X, Wang F, Xie J D, et al. Clinical evaluation of serum concentrations of intercellular adhesion molecule-1 in patients with colorectal cancer[J]. *World J Gastroenterology*, 2005, 11(27): 4250-3.
- [3] Dymicka-Piekarska V, Kemona H. Does colorectal cancer clinical advancement affect adhesion molecules (sP-selectin, sE-selectin and ICAM-1) concentration[J]. *Thromb Res*, 2009, 124(1): 80-3.
- [4] 张铭. 结直肠癌患者血清可溶性 P-选择素和细胞间黏附分子-1 的表达及意义[J]. 医学信息手术学分册, 2006, 19(3): 8-10.
- [5] 马陈, 邢春根, 毛大本, 等. CD44 和 CD54 在结直肠癌肝转移中的表达意义[J]. 中华胃肠外科杂志, 2004, 7(2): 140-3.
- [6] Maurer C A, Friess H, Kretschmann B, et al. Over-expression of ICAM-1, VCAM-1 and ELAM-1 might influence tumor progression in colorectal cancer[J]. *Int J Cancer*, 1998, 79(1): 76-81.
- [7] Epperly M V, Sikora C A, DeFilippi S J, et al. Pulmonary irradiation-induced expression of VCAM-1 and ICAM-1 is decreased by manganese superoxide dismutase-plasmid/liposome (MnSOD-PL) gene therapy[J]. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2002, 8(4): 175-87.
- [8] Kaihara A, Iwagaki H, Gouchi A, et al. Soluble intercellular adhesion molecule-1 and natural killer cell activity in gastric cancer patients[J]. *Res Commun Mol Pathol Pharmacol*, 1998, 100(3): 283-300.
- [9] Charpin C, Garcia S, Andrac L, et al. VCAM(IGSF) adhesion molecule expression in breast carcinomas detected by automated and quantitative immunocytochemical assays[J]. *Hum Pathol*, 1998, 29(9): 896-903.
- [10] Maeda K, Kang S M, Sawada T, et al. Expression of intercellular adhesion molecule-1 and prognosis in colorectal cancer[J]. *Oncol Rep*, 2002, 9(3): 511-4.
- [11] Alexiou D, Karayiannakis A J, Syrigos K N, et al. Serum levels of E-selectin, ICAM-1 and VCAM-1 in colorectal cancer patients: correlations with clinicopathological features, patient survival and tumour surgery[J]. *Eur J Cancer*, 2001, 37(18): 2392-7.

## The expression and clinical significance of ICAM-1 and VCAM-1 in colorectal carcinoma

Wu Yong, Liu Yi

(Dept of General Surgery, The First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230022)

**Abstract Objective** To investigate the expression of ICAM-1 and VCAM-1 in colorectal carcinoma and the relationship between ICAM-1, VCAM-1 and the occurrence, the metastasis of colorectal carcinoma, and to analyze the significance. **Methods** Immunohistochemistry staining (S-P method) was used to detect the expression of ICAM-1 and VCAM-1 on consecutive section in 78 cases of colorectal carcinoma and normal mucosa and 42 cases of colorectal adenomas. Plasma was obtained from 78 patients with colorectal carcinoma and 40 healthy volunteers prior surgery, by an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). **Results** There was significant difference between the high expression of ICAM-1 and VCAM-1 in colorectal carcinoma and the low expression in normal mucosa and adenoma ( $P < 0.01$ ). Serum ICAM-1 and VCAM-1 were significantly higher in patients with colorectal carcinoma than those in normal control group ( $P < 0.01$ ). The ICAM-1 and VCAM-1 levels were not related to sex, age, tumor location and histological grades ( $P > 0.05$ ), but had significantly statistical difference between lymph node metastasis and Dukes stage ( $P < 0.01$ ). **Conclusion** The increase expression of ICAM-1 and VCAM-1 in colorectal cancer suggests that the ICAM-1 and VCAM-1 may play an important role in evaluation of malignant degree and judging the progress as well as the mechanism of colorectal cancer.

**Key words** colorectal carcinoma; intercellular adhesion molecule-1; vascular cell adhesion molecule-1; IHC ELISA