维普资讯 http://www.cqvip.com

文章编号:0253－3626(2003)06－0712－03

NF－κB 和 ICAM－1 在喉癌中的表达及其意义

朱 江[1], 胡国华[1], 孙余才[2], 邓靖宇[1]

(1.重庆医科大学临床学院耳鼻咽喉科,重庆 400016;2.山东省济宁医学院附属医院耳鼻咽喉科,山东 272129)

【摘 要】目的:研究体内核转录因子 NF－κB 和细胞间粘附分子 ICAM－1 在喉癌组织中表达及意义。方法:采用免疫组织化学染色 S－P 法检测 40 例喉癌组织和 20 例正常成年人喉粘膜组织的 NF－kappaB P65 蛋白及细胞间粘附分子－1(ICAM－1)的表达水平。结果:(1)与正常喉粘膜组织相比较,喉癌组织中 NF－kappaB P65 蛋白和 ICAM－1 表达水平均呈显著性增强($P<0.001$)。(2)40 例喉癌组织检测数据提示 NF－kappaB 蛋白表达和 ICAM－1 表达呈直线回归关系($b=0.975, P<0.001$)。结论:(1)NF－kappaB 可能参与喉癌发生发展机制;(2)NF－kappaB 的激活导致喉癌患者体内 ICAM－1 表达增强,促进了机体自身细胞免疫抗肿瘤的作用。

【关键词】喉癌;ICAM－1;NF－kappaB P65 蛋白;免疫组织化学

【中国图书分类法分类号】R730.23 【文献标识码】A 【收稿日期】2003－04－10

Expression and significance of NF－κB and ICAM－1 in laryngeal carcinoma

ZHU Jiang, et al

(*Department of Otorhinolaryngology, College of Clinical Medicine, Chongqing Medical University*)

【Abstract】 *Objective*: To investigate the expression and significance of NF－κB, and ICAM－1 in laryngeal carcinoma patients. *Methods*: Two groups of laryngeal carcinoma tissue (one group derived from the laryngeal carcinoma patients; the other from the normal persons) were detected for NF－kappa B P65 protein and ICAM－1's expressions by immunohistochemistry staining. *Results*: (1)The expressions of NF－kappa B P65 protein and ICAM－1 of the laryngeal carcinoma patients were much more strengthened than those of the normal persons($P<0.001$). (2)The detected data from all the laryngeal carcinoma tissue indicated that NF－kappa B P65 protein's and ICAM－1's expressions were coincided in linear regression($b=0.975, P<0.001$). *Conclusions*: (1) NF－kappa B is probably involved in the occurance and development of carcinoma. (2)The activation of NF－kappa B strengthens the ICAM－1's expressions and promotes cell immunity to carcinoma in laryngeal carcinoma patients.

【Key words】 Laryngeal carcinoma; ICAM－1; NF－kappa B P65 protein; Immunohistochemistry

核转录因子 NF－kappaB(nuclear factor－kappa B,NF－κB)是一种广泛存在于真核细胞内的基因多显性核转录因子,控制着细胞因子、粘附分子及生长因子等基因的表达。近来年,已有许多学者研究报告,NF－kappa B 的激活表达在肿瘤发生发展过程中具有"双效应"的作用(即促进肿瘤生长和介导细胞免疫的抑癌作用)。本实验通过对喉癌组织和正常喉组织的 NF－kappa B P65 和 ICAM－1 的检测,揭示其对肿瘤作用机制和方向。

1 材料和方法

1.1 标本

40 例喉癌组织石蜡标本取自重庆医科大学临床学院 1998～2001 年经病理确诊为喉癌病变组织(其中男性 37 例,女性 3 例,年龄 45～76 岁,平均 62.5 岁)。20 例正常喉粘膜组织石蜡标本取自重庆医科大学临床学院及重庆医科大学病理学教研室(男性 18 例,女性 2 例,年龄 40～73 岁,平均 58 岁)。

1.2 方法

采用免疫组织化学法:NF－kappa B P65 抗体为兔抗人、大鼠和小鼠多抗,购自武汉博士德生物工程有限公司;ICAM－1 抗体为鼠抗人单抗,购自美国 NEOMARKERS 公司;SP 试剂盒购自福州迈新生物技术开发公司。SP 染色法主要步骤为:(1)石蜡切片脱蜡水化。(2)抗原修复:NF－kappa B P65 抗体石蜡切片采用 pH=8.0 的 EDTA 组织抗原修复液以水浴加热法(94～100℃,15～20min)修复;ICAM－

作者介绍:朱 江(1968－),男,主治医师,硕士,主要研究方向:头颈部肿瘤基础与临床。

维普资讯 http://www.cqvip.com

1 抗体石蜡切片采用 pH=6.0 的 0.01M 柠檬酸钠缓冲液以高温高压法(2min)修复。(3)加入过氧化酶阻断溶液后,室温下孵育 10min。(4)PBS 液缓冲后、加入非免疫性动物血清,室温下孵育 10min (5)加入 I 抗,4℃过夜。(6)加入生物素标记Ⅱ抗体后、室温下孵育 10min。

1.3 结果观察与判断

NF-kappaB 蛋白阳性表达定位于细胞浆,呈黄色颗粒,强阳性者细胞核内也有表达;ICAM-1 阳性表达定位于细胞膜,呈黄色颗粒,强阳性者细胞浆内也有表达。两者阳性表达水平采用染色强度评分×阳性细胞面积评分的积分表示[1]。染色强度分为 4 级:0 级:完全阴性,与背景色一致;1 级:弱阳性染色,淡黄色,略高于背景色;2 级:阳性染色,黄色,明显高于背景色;3 级,强阳性染色,棕黄色。阳性细胞面积分为 4 级:0 级:阳性细胞面积/细胞总面积<11%;1 级:11%≤阳性细胞面积/细胞总面积<51%;2 级:51%≤阳性细胞面积/细胞总面积<80%;3 级:阳性细胞面积/细胞总面积≥80%。两者定性积分表达≥3 分为阳性表达。

1.4 统计处理

采用秩和检验两样本分析以及直线回归分析,显著性差异水平为(α=0.5)。

2 结 果

2.1 NF-kappa B P65 蛋白免疫组织化学染色结果

喉癌组织染色积分结果:6 分 19 例,9 分 21 例;正常对照组染色积分结果为:0 分 10 例,1 分 5 例,2 分 5 例。两组具有非常显著性差异(P<0.001)。

2.2 ICAM-1 免疫组织化学染色结果

喉癌组织染色积分结果为:6 分 17 例,9 分 23 例;正常对照组染色积分结果为:0 分 16 例,1 分 2 例,2 分 2 例。两组具有非常显著性差异(P<0.001)。

表 1 喉癌组与正常对照组

NF-kappa B P65 蛋白、ICAM-1 表达比较

抗体名称	组别	标本例数	平均秩次	秩和	P 值
NF-kappa B P65	喉癌组织	40	40.50	1620.00	
NF-kappa B P65	正常对照组	20	10.50	210.00	<0.001
ICAM-1	喉癌组织	40	41.08	1643.20	
ICAM-1	正常对照组	20	10.17	203.40	<0.001

(采用 SPSS10.0 版统计软件秩和检验处理)

2.3 NF-kappa B P65 表达与 ICAM-1 表达的相互关系

从本实验结果数据可以看出在喉癌组织中 NF-kappa B P65 蛋白和 ICAM-1 表达均较正常对照组表达强烈,并且组间差异有非常显著性。由于 NF-kappa B 有控制粘附分子基因激活表达的作用,因此可以探讨粘附分子(ICAM-1)在喉癌组织上表达与 NF-kappaB 的调控关系是否相关。鉴于 NF-kappa B 被众多因素激活后,会使其相关蛋白 NF-kappa B P65 表达增多,采用直线回归方法来检验 NF-kappa B P65 蛋白与 ICAM-1 在喉癌组织上的表达强弱的相互关系,结果如下表 2。

表 2 NF-kappa B P65 蛋白表达与 ICAM-1 表达相互关系

自变量名	回归系数	标准误	Beta 系数	常数值	P 值
NF-kappa B P65	0.975	0.027	0.909	0.651	<0.001

(采用 SPSS10.0 版统计软件直线回归方法进行检验)

回归方程为:$\hat{Y}=0.975x+0.651$

NF-kappa B P65 表达与 ICAM-1 表达呈直线回归关系。

3 讨 论

NF-κB 最早是被 sen 和 Baltimore[2] 提出并鉴定的一种转录因子,其命名是基于它能结合在 B 细胞免疫球蛋白 K 轻链基因增强子的相应位点上。随后的研究发现 NF-κB 在多种细胞中都有表达,并能被多种细胞外的刺激活化,参与了多种疾病不同阶段的细胞因子、生长因子、细胞粘附分子及急性期反应蛋白等基因的转录调控,具有重要的生理和病理作用。正常情况下,NF-kappa B 与 I Kapa B 相结合而处于无活性状态。但在许多因素(IL-1、TNF-α 及 LPS 等)诱导下,NF-kappa B 可被激活并与 IkappaB 分离[3]。激活的 NF-kappaB 通过与细胞因子、粘附分子及生长因子的基因启动子域内相应的部位结合后,将信息从胞浆以 NF-kappa B P65 蛋白形式转至核内 DNA 相应区域上,激活以上基因而使相应的转录和翻译过程增强,而致细胞因子、细胞粘附分子及生长因子等增多[4]。NF-κB 与肿瘤的形成和发展有密切的关系,表现在:(1)癌基因通过 NF-κB 介导的途径而致癌;(2)NF-κB 涉及多种生长因子的转录调节,例如:造血细胞生长因子(GM-CSF,M-CSF,G-CSF,IL-2 等)和非造血细胞生长因子(黑色素瘤生长刺激因子)。这些细胞因子与肿瘤细胞的生长密切相关;(3)NF-κB 通过抑制凋亡的途径而致癌。许多研究证实在很多肿瘤中 NF-κB 的基础表达和活化水平都增高,目前已证明在非小细胞性肺癌,甲状腺癌,T 或 B 淋巴

维普资讯 http://www.cqvip.com

细胞白血病、乳腺癌、口腔癌及病毒诱导的肿瘤中，存在 NF－κB 活化或表达[5,6]，对喉癌 NF－κB 活性的表达情况如何，目前尚未见报道。

本实验涉及的 NF－κB P65 是 NF－κB/rel 家族的重要组成成员之一。本研究结果显示在 40 例喉癌患者的癌组织中，NF－κB P65 免疫组化结果全部阳性，20 例正常喉粘膜组织中 NF－κB P65 免疫组化均为阴性，本结果提示，NF－κB P65 表达异常与喉癌密切相关，推测 NF－κB P65 可能是喉癌相关的一种癌蛋白，在喉癌的发生中发挥重要调节作用。

细胞间粘附分子(ICAM)属于免疫球蛋白超家族的成员，有三种成份，分别为 ICAM－1、ICAM－2、ICAM－3。ICAM－1(CD54)广泛表达于单核细胞、淋巴细胞、血管内皮细胞、人体癌细胞表面[7]。ICAM－1 能通过与其配体 β_2 整合素－LFA－1(淋巴细胞功能相关抗原，CD11a/CD18)和 Mac－1(巨噬细胞 1，CD11b/CD18)的结合而促进 T 细胞活化及白细胞从血管内向炎症部位浸润，在炎症和免疫反应中起重要作用[8,9]。

本研究结果显示 40 例喉癌患者的癌组织中，ICAM 的免疫组化结果全部阳性，20 例正常喉粘膜组织中 ICAM－1 免疫组化结果全部阴性。故我们认为，喉癌组织高表达 ICAM－1 是机体抗肿瘤免疫增强的反应，ICAM－1 通过与 LFA－1、Mac－1 相互结合吸引更多的免疫效应细胞在病灶部位聚集，以发挥机体免疫系统的抗肿瘤作用，对于机体抗肿瘤免疫监视至关重要。

NF－κB 是许多在免疫和炎症反应中起重要作用的细胞因子、粘附分子等的关键调解因子，它能结合到编码这些因子基因的结构域上的启动子或增强子上。NF－κB 被激活后，通过与 ICAM－1 基因启动子区域的 NF－κB 位点结合，引起 ICAM－1 基因的转录增强[10,11]，以致 ICAM－1 表达增多。本研究结果显示：喉癌组织中 NF－κB P65 与 ICAM－1 的表达呈直线回归关系。本研究提示：喉癌病人 NF－κB 的激活，导致患者体内 ICAM－1 表达增强，促使中性粒细胞及巨噬细胞的粘附和聚集，增强了机体自身细胞免疫抗肿瘤的作用。

参 考 文 献

[1] Remmele W, Syegner HE. Immunhistochmischer nachweisvon östrogenrezeptoren (ERICA) in mammakarzinomgewebe: vorschlag zur einheitlichen formulierung des untersuchungsbefundes[J]. Dtsch Ärztebl, 1986; 83: 3362－3364.

[2] Sen R, Baltimore D. Multiple nuclear factors interact with the immunoglobulin enhancer sequences[J]. Cell, 1986; 46: 705－716.

[3] Okamoto T, Ogiwara H, Hayashi T, et al. Human thioredoxin/adult T cell leukemia－derived factor activates the enhancer binding protein of human immunodeficiency virus typel by thiol redox control mechanism[J]. Int Immunol, 1992; 4: 811－819.

[4] Jang－IK Lee, PharmD, Gilbert J, et al. Nuclear factor Kappa B: Important transcription factor and therapeutic target [J]. J Clin Pharmcol, 1998; 38: 981－993.

[5] Chen F, Castranova V, Shi XL, et al. New insights into the role of nuclear factor－κB, a ubiquitous transcription factor in the initiation of diseases[J]. Clin Chem, 1999; 45: 7－17.

[6] Nakayama H, Ikebe T, Beppu M, et al. High expression levels of nuclear factor kappaB, IkappaB kinase alpha and Akt kinase in squamous cell carcinoma of the oral cavity[J]. Cancer, 2001; 92(12): 3037－3044.

[7] Molgg M, Schwaeble W, Johnson J P, et al. Generation of recombinant, carbohydrate－free intercellular adhesion molecule－1(ICAM－1) and ICAM－1 fragments in Escherichia coli and mapping of epitopes recognized by anti－ICAM－1 monoclonal antibodies[J]. Immunol lett, 1991; 28: 237－243.

[8] Mitsuaki Isobe, Hideo Yagita, Ko okumura, et al, Specific acceptance of cardiac allograft after treatment with antibodies to Icam－1 and LFA－1[J]. Science, 1992; 255: 1125－1127.

[9] Archelos JJ, Mäurer M, Jung, et al. Suppression of experimental allergic neuritis by an antibody to the intercellular adhesion molecule Icam－1[J]. Brain, 1993; 116: 1043－1058.

[10] Grimm S, Bacuerle PA. The inducible transcription factor NF－κB: Stracture－function relationship of its protein subunits[J]. Biochem J, 1993; 290(3): 297－308.

[11] La Porta CA, Comolli R. PKC dependent modulation of IκB alpha NF－κB pathway in low metastatic B16F1 murine melanoma cells and in highly metastatic BL 6 cells[J]. Anticancer Res, 1998; 18(4A): 2591－2597.