

IL-2 对人胃癌细胞侵袭力及转移力的调节作用

彭贵勇, 庞政

In vitro modulation of the invasive and metastatic potentials of human gastric cancer by interleukin -2

PENG Gui-yong, PANG Zhen-g

Southwest Hospital, The Third Military Medical College, Chongqing 400038, China

Abstract: Objective To investigate the effects of Interleukin -2 (IL-2) on the in vitro invasiveness and the expression of several cell surface antigens related to invasive and metastatic potentials of human gastric cancer SGC-7901 cell line. **Methods** The expression of ICAM-1, CD44 and HLA-1 was determined by fluorescence-activated cell sorter (FACS) analysis, the tumor cell binding affinity to extracellular matrix (ECM) components was measured by cell attachment assay, the degree of homotypic aggregation was quantified by cell aggregation assay. **Results** The results showed that IL-2 pretreatment exhibited enhanced expression of ICAM-1 and HLA-1, suppression of CD44 on gastric cancer cell line and decreased binding affinity to ECM components and the degree of homotypic aggregation of gastric cancer cells. **Conclusion** It is suggested that IL-2 can inhibit the invasive and metastatic potentials of gastric cancer cells.

Keywords: Interleukin -2; Gastric cancer; Invasion; Metastasis

摘要: 目的 研究 IL-2 对胃癌细胞侵袭力及转移力相关因素的调节作用。方法 用流式细胞仪分析胃癌细胞表面抗原分子的表达水平,用附壁试验检测胃癌细胞对细胞外基质的亲和力,用细胞聚集试验检测胃癌细胞的聚集能力。结果 经高浓度和低浓度 IL-2 处理后,胃癌细胞表面 ICAM-1 及 HLA-1 表达均增加,CD44 表达减少,胃癌细胞对细胞外基质的亲和力及胃癌细胞聚集程度均降低。结论 IL-2 可明显增加胃癌细胞 ICAM-1 及 HLA-1 的表达,抑制 CD44 表达,抑制胃癌细胞对细胞外基质的亲和力及胃癌细胞的聚集作用。因此可抑制胃癌细胞的侵袭力和转移力。

关键词: 白细胞介素 ; 胃癌 ; 肿瘤浸润 ; 肿瘤转移

中图分类号 : R735.2 文献标识码 : A 文章编号 : 1000-8578 (2003) 02-0120-02

0 引言

肿瘤的浸润、扩散、转移是一个复杂的过程,涉及到一系列肿瘤细胞外基质成份及肿瘤细胞和宿主细胞间相互作用。目前已证实肿瘤细胞表面的细胞粘附分子及 MHC 分子的表达、肿瘤细胞对细胞外基质的亲和力、胶原酶、肿瘤生长因子及生长因子受体等在肿瘤转移、扩散过程中起着重要作用。本研究用 IL-2 处理胃癌细胞,观察其对胃癌细胞侵袭力及转移力相关因素的影响。

1 资料与方法

1.1 肿瘤细胞的处理

取生长良好的 SCG-7901 胃癌细胞株(本室传代培养)分为三组。分别加入高浓度 IL-2 103U/ml 和低浓度 IL-2 102U/ml (Becton-dickinson), 对照组加

入相应的培养液,37 孵育 24h, 收集细胞用于实验。

1.2 肿瘤细胞表面 ICAM-1、CD44、HLA-1 表达水平的检测

取经不同处理的胃癌细胞,加入相应的 FITC 标记的单克隆抗体,4 孵育 30min, 用 PBS 洗 3 遍后, 用 FACSTAR 流式细胞仪 (Becton-dickinson) 检测荧光强度。所用单抗为抗-ICAM-1 (Becton-dickinson)、抗-CD44 (Becton-dickinson) 和抗-HLA-1 (ATCC)。

1.3 细胞附壁检测

于 96 孔培养板中加入细胞外基质,纤连素 5μg/孔或 I 型胶原蛋白 1μg/孔 (Collaborative Research Inc) 再加入经不同处理后 3H-TdR 标记的胃癌细胞, 2 × 10⁵/孔,37 孵育不同时间,洗去未附壁的细胞,收集残留细胞测 CPM。胃癌细胞对细胞外基质的亲和力用以下公式计算。

$$\text{亲和力} = \frac{\text{粘附胃癌细胞 CPM} - \text{自然释放组 CPM}}{\text{总量胃癌细胞 CPM} - \text{自然释放组 CPM}} \times 100\%$$

1.4 细胞聚集检测

收稿日期:2000-08-14; 修回日期:2000-11-07

作者单位:400038 重庆,第三军医大学西南医院消化科

取经不同处理的胃癌细胞 2×10^5 个,加 250 μ l 培养液,放入微量离心管中,于 37 孵育不同时间,每 10min 振荡一次。加入 3.75 μ l 25% 戊二醛固定,显微镜下观察,计数未聚集的单个细胞数。

$$\text{聚集度} = \frac{\text{总细胞数} - \text{单个细胞数}}{\text{总细胞数}} \times 100\%$$

2 结果

2.1 IL-2 对胃癌细胞 ICAM-1、HLA-1 及 CD44 表达的调节

胃癌细胞表达 ICAM-1 为 13.5%、HLA-1 为 16.6%、CD44 为 21.4%。高浓度和低浓度 IL-2 处理后,胃癌细胞表达 ICAM-1 分子明显增加,分别为 26.4% 和 24.7%;HLA-1 抗原表达也明显增加,分别为 28.3% 和 28.8%;CD44 表达下降,分别为 16.3% 和 15.6%。高浓度和低浓度比无明显差异。

2.2 IL-2 抑制胃癌细胞对细胞外基质成份的亲合力

高浓度和低浓度 IL-2 处理后,胃癌细胞对纤维连接蛋白及 I 型胶原的亲合力明显下降,在孵育 40min 及 1h 时差异最明显。

表 1 IL-2 处理后 7901 细胞对 I 型胶原的亲合力 ($\bar{x} \pm s$)

组别	20min	40min	60min
7901 对照组	28.6 \pm 4.5	45.7 \pm 4.8	49.8 \pm 5.3
IL-2 处理组 1	16.4 \pm 4.6 *	20.3 \pm 4.1 **	27.8 \pm 4.4 **
IL-2 处理组 2	15.7 \pm 4.1 *	21.5 \pm 5.6 **	27.3 \pm 5.8 **

IL-2 处理组 1: 为高浓度 IL-2 处理组,IL-2 处理组 2: 为低浓度 IL-2 处理组; *: 与 7901 对照组比 $P < 0.05$; **: 与 7901 对照组比 $P < 0.01$

表 2 IL-2 处理后 7901 细胞对纤维连接蛋白的亲合力 ($\bar{x} \pm s$)

组别	20min	40min	60min
7901 对照组	25.3 \pm 4.6	42.5 \pm 6.2	52.6 \pm 6.4
IL-2 处理组 1	19.3 \pm 4.5 *	26.8 \pm 5.5 **	34.1 \pm 5.9 **
IL-2 处理组 2	18.6 \pm 3.6 *	25.5 \pm 4.8 **	32.6 \pm 5.4 **

IL-2 处理组 1: 为高浓度 IL-2 处理组,IL-2 处理组 2: 为低浓度 IL-2 处理组

**: 与 7901 对照组比 $P < 0.01$

2.3 IL-2 抑制胃癌细胞的聚集能力: 高浓度和低浓度 IL-2 处理后,胃癌细胞的聚集能力均明显下降。高浓度和低浓度比无明显差异。

表 3 IL-2 处理后 7901 细胞的聚集能力 ($\bar{x} \pm s$)

组别	20min	40min	60min
7901 对照组	64.5 \pm 4.9	88.4 \pm 5.4	90.3 \pm 5.6
IL-2 处理组 1	41.2 \pm 5.6 **	52.4 \pm 4.6 **	55.6 \pm 5.8 **
IL-2 处理组 2	43.1 \pm 5.8 **	51.3 \pm 4.8 **	53.6 \pm 4.6 **

IL-2 处理组 1: 为高浓度 IL-2 处理组,IL-2 处理组 2: 为低浓度 IL-2 处理组

*: 与 7901 对照组比 $P < 0.05$; **: 与 7901 对照组比 $P < 0.01$

3 讨论

肿瘤细胞在浸润和转移过程中,其表面的特异性细胞粘附分子与细胞外基质成份及宿主细胞包括免疫细胞发生作用,从而影响肿瘤细胞的浸润、转移能力。因此抑制肿瘤细胞表达亲和细胞外基质的细胞粘附分子或增加表达与免疫细胞结合的细胞粘附分子和增加表达激活免疫细胞的分子是防止肿瘤浸润和转移的有效手段之一。

MHC 分子是免疫应答中的重要调节因素,是 T 细胞活化的必要条件。MHC 分子的低表达是肿瘤免疫逃避的机制之一^[1]。本实验显示胃癌细胞 HLA-1 类抗原表达低下,经 IL-2 处理后其 HLA-1 表达明显增加。提示 IL-2 能增强胃癌细胞的免疫原性,更有效地激活特异性细胞毒 T 细胞对肿瘤细胞的杀伤作用。ICAM-1 存在于巨噬细胞、内皮细胞等多种类型细胞的表面。其天然配体为白细胞功能相关抗原 1 (LFA-1)^[2]。它们之间的作用是淋巴细胞迁移和聚集在肿瘤部位的机制之一。有学者证实上调肿瘤细胞 ICAM-1 的表达,可明显增加 T 细胞受体依赖和 HLA 限制性 T 细胞对肿瘤细胞的杀伤作用^[3]。但也有报道在黑色素瘤中 ICAM-1 的高表达与转移有关^[4]。本实验结果显示 IL-2 能上调胃癌细胞 ICAM-1 表达,提示 IL-2 可能增加宿主 T 细胞受体依赖和 HLA 限制性 T 细胞的细胞毒作用,是否也同时增加肿瘤细胞的转移有待进一步研究。CD44 能与细胞外基质中的透明质酸、胶原蛋白、纤粘蛋白、层粘蛋白等基质分子结合,与细胞骨架蛋白结合,参与细胞的迁移运动^[5]。是肿瘤细胞浸润和转移的启动因素。已有资料发现肿瘤组织中异常表达 CD44,CD44 的表达与其转移有相关性^[6]。本实验结果显示 IL-2 能下调胃癌细胞表面 CD44 的表达,并可抑制胃癌细胞对细胞外基质成分纤维连接蛋白和 I 型胶原的亲合力,提示可抑制胃癌细胞的转移。肿瘤细胞聚集能有效地防止肿瘤细胞在转移过程中被破坏,因此聚集能力可反映肿瘤细胞的转移能力。本实验结果显示 IL-2 能抑制胃癌细胞的聚集能力,进一步提示 IL-2 能抑制胃癌细胞的转移。

(下转 137 页)

为真性良性肿瘤,但临床上起到恶性肿瘤的破坏作用,对于该肿瘤的复发及恶变倾向的研究一直在不断探索之中。有作者研究 38 例鼻腔内翻性乳头状瘤细胞核 DNA 含量和细胞形态因子,结果显示其值介于正常和鳞状细胞癌之间,认为是良恶性之间的交界性肿瘤。该研究表明此肿瘤具有潜在恶性^[3]。本组 64 例中有随访 31 例,其中复发 19 例(61.29%)及癌变 8 例(25.8%),上海市六院 1975 年报告 7 例其中 3 例复发,对复发原因考虑有以下因素:(1)肿瘤复发与细胞分化程度,核分裂多少有关,瘤细胞分化程度低(不典型增生程度高),核分裂相多时复发率高。有作者提出一个高倍视野有 2 个核分裂者复发率 80%, >2 个核分裂,复发率高达 88%^[3]。本组 19 例复发者中,13 例为 I、II 级不典型增生,其中 10 例核分裂相 >10 个/10HF。(2)瘤组织中分泌粘液细胞多者复发率高,本组复发病例中分泌粘液细胞量均在中等以上。我们认为分泌粘液细胞增多是显示生长活跃的一个方面;(3)复发与多病灶,肿瘤范围广,与手术不易切除彻底有关。内翻性乳头状瘤与癌变关系尚不十分清楚,随着病毒分子生物学研究的进展,有学者认为 HPV16 型在恶变中起重要作用^[3]。Hans 等^[4]报告一组鼻窦的内翻性乳头状瘤显示 7 例恶性变,从本组 8 例癌变组织学显示上皮的不典型增生 I、II 级,核分裂 10~25/10HF,结果与文献报告一致,提示高度不典型增生和核分裂相多者,与癌变密切相关^[5,6]。但也有作者认为不典型增生和核分裂相不能为预测癌变的指标^[7,8]。

根据此瘤的临床特征、复发情况以及细胞不典型性,作者认为此瘤是一种介于良、恶性之间的交界性肿瘤,如组织学显示不典型增生 I 级,核分裂相 >5 个/10HF,临床上应视为低度恶性肿瘤处理。

多数学者认为该肿瘤以手术彻底切除为主,其治愈率达 86%^[1]。疑有恶变及反复发作者要扩大切除,已明确有恶性变者应做鼻侧切开或上颌骨切除术,必要时摘除眶内容物,术后采用放、化疗等综合治疗。

参考文献:

[1] Lawson W, HOB T, Shaari CM, et al. Inverted papilloma: a report of 112 cases [J]. *Laryngoscope*, 1995, 105 (3Pt1): 282-288.
 [2] Segal K, Atar E, Mor C, et al. Inverted papilloma of the nose and paranasal sinuses [J]. *Laryngoscope*, 1986, 96 (4): 394-397.
 [3] 刘复生, 刘彤华. 肿瘤病理学 [M]. 北京: 北京医科大学、中国协和医科大学联合出版社, 1997. 204-205.
 [4] Hans, Laccourreye O, Jouffre V, et al. Malignant transformation of inverted papilloma of the nasal sinuses: a retrospective series of 7 cases [J]. *Ann Otol Rhinol Laryngol*, 1994, 116 (6): 337-341.
 [5] Nielsen PL, Buchwald C, Nielsen LH, et al. Inverted papilloma of the nasal cavity, pathological aspects in a follow-up study [J]. *Laryngoscope*, 1991, 101 (10): 1094-1101.
 [6] Vrabcic DP. The inverted Schneiderian papilloma: a 25-year study [J]. *Laryngoscope*, 1994, 104 (5): 582-605.
 [7] Weissler MC, Montgomery WW, Turner PA, et al. Inverted papilloma [J]. *Ann Otol Rhinol Laryngol*, 1986, 95 (3Pt1): 215-221.
 [8] Christensen WN, Smith RR. Schneiderian papillomas: a clinical-pathologic study of 67 cases [J]. *Hum Pathol*, 1986, 17 (4): 393-400.

(周永红校对)

(上接 121 页)

参考文献:

[1] Seliger B, Schreiber K, Depina K, et al. Downregulation of the constitutive expression of integrin alpha 5 in human tumor cells of distinct origin and its transcriptional regulation by cytokines. *Tissue Antigens*, 2001; 57 (1): 39-45.
 [2] Schwaible W, Kerlin M, Meyer Zum Büschenfelde KH, et al. Downregulation of intercellular adhesion molecule 1 (ICAM-1, CD54) in pancreatic cancer [J]. *Int J Cancer*, 1993; 53 (4): 328-333.
 [3] Anichini A, Mortarini R, Parmiani G, Tcell receptor engagement and tumor ICAM-1 up-regulation are required to bypass susceptibility of melanoma cells to antitumor CTL-mediated lysis [J]. *Int J Cancer Res*, 1993; 53 (11): 994-1001.

[4] Johnson JP, Stadel BG, Holzmann B, et al. Downregulation of integrin alpha 5 in melanoma correlates with increased risk of metastasis [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1989; 86 (6): 641-644.
 [5] Gunthert U, Hofmann M, Herrlich P. A new variant of integrin alpha 4 beta 1 confers metastatic potential to rat carcinoma cells [J]. *Cell*, 1991; 65 (1): 13-24.
 [6] Harada N, Mizoi T, Kinouchi M, et al. Introduction of antisense CD44 cDNA downregulates expression of all CD44 isoforms and inhibits tumor growth and metastasis in highly metastatic colon carcinoma cells. *Int J Cancer* 2001; 91 (1): 67-73.

(李奇明校对)