

# 자궁경부암 환자의 혈중 ICAM-1(Intercellular Adhesion Molecule-1)농도에 관한 연구

포천중문 의과대학교 산부인과학교실, 고려대학교 의과대학 산부인과학교실\*, 임상병리학교실\*  
김용민 · 조윤정\* · 이규완\*

=Abstract=

## Serum Levels of ICAM-1(Intercellular Adhesion Molecule-1) in Invasive Cervical Cancer

Yong Min Kim, M.D., Yoon Jung Cho, M.D.\* , Kyu Wan Lee, M.D.\*

Department of Obstetrics and Gynecology, College of Medicine, Pochon CHA University, Department of Obstetrics and Gynecology\*, Clinical Pathology\*, College of Medicine, Korea University, Seoul, Korea

ICAM-1(Intercellular adhesion molecule-1) is an important early marker of immune activation and response. ICAM-1 is expressed on various cell types and observed in a variety of diseases, including patients with asthma, melanoma, prostatic cancer, ovarian and colon cancer.

Some authors demonstrated the expression of ICAM-1 protein in high-grade intraepithelial squamous neoplasia of cervix by immunohistochemistry and suggested that the expression was related to human papillomavirus infection.

The aim of this study was to determine the serum levels of soluble intercellular adhesion molecule-1(sICAM-1) in patients with squamous cell carcinoma of the cervix. Serum levels of sICAM-1 were measured by enzyme-linked immunosorbent assay(ELISA).

We evaluate invasive squamous cell carcinoma of the cervix (40), carcinoma in situ (16) and control (15) patients.

Serum levels of sICAM-1 in healthy volunteers, in patients with carcinoma in situ and invasive cervical cancer were  $150.1 \pm 41.3$ ,  $182.7 \pm 105.9$ ,  $189.8 \pm 60.0$  ng/ml, respectively. Although the serum levels of sICAM-1 in patients with carcinoma in situ did not increase, serum levels of ICAM-1 in patients with invasive cervical cancer were significantly increased (control vs invasive cervical cancer,  $p < 0.05$ ).

From the above results, sICAM-1 is shed from the cancerous tissue in patients with squamous cell carcinoma of the cervix.

**Key Words:** ICAM-1, Serum, ELISA, Uterine cervical cancer

## I. 서론

세포와 기질의 상호작용은 세포의 유착과 이동, 상처의 치유, 세포의 분화 및 극화등에 필수적이다.<sup>1,2)</sup> 이런 상호작용은 integrin과 같은 세포표면 수

용체와 유착단백질의 유착에 의해 매개된다고 알려져 있다.<sup>2,3)</sup>

Intercellular adhesion molecule-1(ICAM-1, CD54)은 유착수용체의 일종으로 5개의 세포의 domain과 한 개의 transmembrane부분과 한 개의 짧은 세포내 꼬리를 가지고 있다.<sup>4,5)</sup> 이런 ICAM-1은 정상세포와 염

증세포 및 종양세포등 여러 가지 세포에서 발현되고 있으며 섬유아세포 (fibroblast), 각질세포(keratinocyte), 혈관내피세포 (vascular endothelial cell)과 대식세포(macrophage), 선상상피세포 (glandular epithelial cell) 및 자궁의 기질세포(stromal cell) 등에서도 발견되고 있다.<sup>2,6,7)</sup>

ICAM-1은 면역반응과 활성화에 중요한 조기발현 물질로서<sup>8-10)</sup> 여러가지 질환에서 발현되고 있다. 세포표면에서 ICAM-1이 발현되는 질환으로는 자가면역성 갑상선염,<sup>9)</sup> Sjögren 증후군,<sup>11)</sup> 천식,<sup>12)</sup> 악성 흑색종,<sup>13)</sup> 전립선암,<sup>14)</sup> 난소암,<sup>15)</sup> 대장암<sup>16)</sup> 등이 있으며 Coleman 등<sup>17)</sup>은 면역조직화학적 염색방법으로 자궁경부상피내종양에서도 ICAM-1 단백질의 발현을 증명하여 인유두종바이러스와의 연관성을 보고한바 있다.

혈청 ICAM-1의 농도는 Seth 등<sup>18)</sup>의 연구에서 구할수 있었으며 Rothelin 등<sup>19)</sup>은 혈청농도는 염증반응이나 조직포상 및 단백분해를 반영한다고 하였다. 혈청 ICAM-1농도는 소화기암이나 난소암 및 악성 흑색종등에서 증가한다는 보고가 있으며 그 농도가 높을수록 암조직으로부터의 분비가 증가한다고 보고된바 있다.

이에 저자들은 자궁경부암 환자의 혈중 ICAM-1 농도를 측정하여 그 임상적 의의를 알아보고자 본 연구를 시행하였다.

## II. 연구대상 및 방법

### 1. 연구대상

1997년 6월부터 1998년 8월까지 고려대학교 안암병원 산부인과 부인암 클리닉에 내원한 환자중조직 생검 및 자궁절제술을 시행하여 침윤성 자궁경부암으로 확진된 환자 40명과 0기 자궁경부암으로 확진된 환자 16명 및 정상대조군 15명등 총 71예를 대상으로 하였다. 환자들의 평균연령은 정상대조군에서  $45.4 \pm 11.5$ 세, 0기암은  $44.4 \pm 8.2$ 세, 침윤성 자궁경부암군  $49.5 \pm 11.0$ 세로 각 군간의 통계적으로 유의한 차이는 없었으며 ( $p=0.270$ ), 산과력은 정상대조군  $2.06 \pm 0.86$ 회, 0기암  $2.19 \pm 0.75$ 회, 침윤성 자궁경부암군  $2.52 \pm 1.21$ 회 등으로 통계적의의는 없었다. ( $p=0.228$ )(Table 1)

모든 환자들은 수술전 혈청을 채취하여 -730C에 냉동보관한 후 실험을 하였다.

### 2. 연구방법

Bio Source International Cytoscreen™ Immunoassay Kit를 이용하여 Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay(ELISA)방법으로 Human Soluble Inter-cellular Adhesion Molecule-1(hsICAM-1)을 측정하였다.

1) Principles of method : solid phase sandwich Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay (ELISA)

; hs-ICAM-1에 대한 specific antibody를 microtiter strip well에 coating시켜서 sample속의 hs-ICAM-1이 Ab에 결합하게 한 후 washing단계를 거치고 biotinylated second Ab를 붙인 후 Streptavidin peroxidase (Enzyme)를 second Ab에 binding 시킨 후 substrate를 첨가시켜 color를 띄면 흡광도를 측정한다.

### 2) Procedures

1. hs-ICAM-1 standard를 diluent buffer로 계대 배수 희석시켜 100ng/mL, 50ng/mL, 25ng/mL, 12.5ng/mL, 6.25ng/mL, 3.12ng/mL, 1.5ng/mL, 0ng/mL의 농도로 맞춘다.
2. Sample(20uL)을 Standard Diluent Buffer(180uL)로 1:10 희석시킨다.
3. Standard Diluent Buffer 100uL를 zero well에 넣는다(chromogen blank).
4. 100uL씩의 standard, sample diluent, control을 microtiter well에 넣는다.
5. Biotinylated anti sICAM-1을 solution chromogen blank를 제외한 모든 well에 50uL씩 넣는다.
6. Gently mix후 plate cover로 덮고 실온에서 30분 동

Table 1. Patients characteristics

	Age (Yrs)	Parity
Control (n=15)	$45.4 \pm 11.5$	$2.06 \pm 0.86$
C I S (n=16)	$44.4 \pm 8.2$	$2.19 \pm 0.75$
SCCC (n=40)	$49.5 \pm 11.0$	$2.52 \pm 1.21$
Range	17 - 74	0 - 7
Total 71	$p = 0.270$	$p = 0.228$

CIS: carcinoma in situ

SCCC: squamous cell carcinoma of cervix

안 incubation시킨다.

7. Microtiter well을 4번 washing시킨다.
8. 모든 microtiter well에 Stabilized Chromogen을 100uL씩 넣는다.
9. 실온 암실에서 30분간 incubation시킨다.
10. 각 well에 Stop solution을 100uL씩 넣고 gently mix시킨다.
11. 파장 450nm의 빛으로 흡광도를 측정한다.
12. Standard concentration과 흡광도의 standard curve를 그린다.
13. 각 sample의 흡광도(blank correction)로 standard curve를 이용하여 농도를 계산한다.
14. 구해진 농도에 회석배수 10을 곱한다

### 3. 통계처리

의학 통계처리 프로그램인 Chi-square test로 p-value를 구하였다.

## III. 연구결과

### 1. 혈중 ICAM-1농도

정상 대조군에서 혈중 ICAM-1농도는  $150.1 \pm 41.3$  ng/ml, 0기암에서는  $182.7 \pm 105.9$  ng/ml, 침윤성 자궁경부암군에서는  $189.9 \pm 60.0$  ng/ml 등으로 각군 간의 통계적으로 유의한 차이는 없었다( $p=0.197$ ) (Table 2)

### 2. 정상대조군과 자궁경부암 환자의 혈중 ICAM-1 농도

정상대조군에 비하여 자궁경부암군에서 통계적으로 의미있는 증가를 보였다( $p=0.026$ ) (Table 3)

Table 2. Serum levels of ICAM-1

	Cases	sICAM-1 (ng/ml)
Control)	15	$150.1 \pm 41.3$
CIS	16	$182.7 \pm 105.9$
SCCC	40	$189.9 \pm 60.0$
Total	71	$p=0.197$

CIS: carcinoma *in situ*

SCCC: squamous cell carcinoma of cervix

### 3. 암의 병기별 혈중 ICAM-1농도

침윤성 자궁경부암 1기에서는 혈중 ICAM-1 농도가  $189.1 \pm 55.2$  ng/ml, 2기에서는  $175.2 \pm 58.7$  ng/ml, 3기에서는  $253.1 \pm 41.3$  ng/ml로 정상대조군 ( $150.1 \pm 41.3$  ng/ml)보다 제1기( $p=0.035$ )와 3기( $p=0.001$ )에서 의미있는 증가를 보였다.(Table 4)

## IV. 고찰

ICAM-1(Intercellular adhesion molecule-1)은 정상세포나 염증세포 및 종양세포등 여러종류의 세포에서 관찰되는데 섬유아세포(fibroblast), 각질세포(keratinocyte), 혈관내피세포(vascular endothelial cell), 림프세포(lymphocyte), 단핵세포(monocyte), 선상상피세포(glandular epithelial cell) 및 자궁의 기질세포(stromal cell) 등에서 발견되고 있다. 또한 소화기계암,<sup>16,20)</sup> 난소암,<sup>15)</sup> 및 악성흑색종<sup>2,6,7,21)</sup>에서도 보고되고 있다.

악성암, 특히 악성흑색종에서의 병인론에서 ICAM-1의 관련성이 보고되고 있다. Johnson 등<sup>22)</sup>과 Natali 등<sup>13)</sup>의 보고에서 악성흑색종에서 ICAM-1 발

Table 3. sICAM-1 in Control group vs Invasive Cancer group ( $p=0.026$ )

	No. of cases	sICAM-1 (ng/ml)
Control group	15	$150.1 \pm 41.3$
SCCC group	40	$189.9 \pm 60.0$

SCCC: squamous cell carcinoma of cervix

Table 4. Comparison of sICAM-1 according to stage

	No. of cases	sICAM-1 (ng/ml)
Control	15	$150.1 \pm 41.3$
CIS	16	$182.7 \pm 105.9$
SCCC I	18	$189.1 \pm 55.2^*$
SCCC II	19	$175.2 \pm 58.7$
SCCC III	3	$253.1 \pm 41.3^+$
Total	71	$p = 0.096$ $p = 0.035$ $p = 0.001$

CIS: carcinoma *in situ*

SCCC: squamous cell carcinoma of cervix

현의 증가는 전이의 위험도와 정비례관계가 있다고 하였으나 Vanky 등<sup>23)</sup>은 악성흑색종에서 혈중 ICAM-1의 발현이 있더라도 전이가 감소 할수 있다고 보고한 바 있다. Haring 등<sup>21)</sup>은 악성흑색종에서 혈중 ICAM-1농도의 증가를 관찰하고 혈청농도와 예후와의 상관관계를 밝힌바 있다.

또한 ICAM-1은 각질세포와 피부염이나 알레르기성피부염같은 양성 염증성질환의 혈관에서도 발현되고 있으며 질병의 정도와 연관이 있다고 알려져 있다.

Tsujisaki 등<sup>20)</sup>은 면역화학법으로 대장암, 위암, 췌장암, 간암 및 폐의 선암등에서 ICAM-1을 발견하였으며 위암, 췌장암, 식도암 및 담낭암등에서 혈중 농도가 증가되었다는 보고를 하였고, 그 농도가 높을수록 암조직으로부터의 분비가 증가한다는 보고가 있다.

ICAM-1은 세포독성 T 세포 (cytotoxic T cell)나 NK 세포이 암세포에 유착되는 것을 방지할것으로 생각되며 악성질환에서 그 혈중농도가 높을 경우 종양세포나 주위세포에 대한 숙주의 면역반응을 반영할것으로 추측되고있다.<sup>20)</sup>

또다른 연구에서도 혈중 ICAM-1 농도의 상승은 원발성 종양에 대한 숙주의 세포매개 면역반응(cell-mediated immune response)의 증가를 의미한다고 밝힌바있다.<sup>21)</sup>

ICAM-1은 난소암 및 자궁경부암등 부인암에서도 증명되고 있으며 자궁경부상피내종양에서도 ICAM-1 단백질의 발현이 증명된 바 있고<sup>17)</sup> Coleman과 Stanley 등<sup>24)</sup>은 면역조직화학염색법을 이용하여 고등급의 자궁경부상피내 종양(high-grade intraepithelial squamous neoplasia of the cervix)에서 ICAM-1, vascular cellular adhesion molecule-1(VCAM-1), E-selectin의 의미있는 증가를 보고한바 있으며 이 질환에서 혈관이나 각질세포(keratinocytes) 및 단핵세포(mononuclear cells)에서의 ICAM-1의 발현을 관찰하였다.

ICAM-1은 염증반응, 조직의 손상, 단백질분해의 발현물질로 알려져있으나<sup>19)</sup> 그 정확한 기원이나 기능에 관하여는 아직 확실하지않다. 하지만 IL-6, TNF- $\alpha$ , INF- $\gamma$  같은 cytokine은 염증세포나 암세포등 여러종류의 세포에서 분비되는데<sup>6,26)</sup> 유착분자(adhesion molecule)를 유발시켜 종양세포와 내피세

포(endothelial cell)사이의 세포접합(cellular binding)을 증가 시키고 전이의 빈도를 증가시킨다.<sup>20,25)</sup>

본 연구는 한국여성에서 가장 흔한 자궁경부암에서 혈중 ICAM-1농도를 측정하여 그 임상적 의의를 알아보기위해 수술전 환자의 혈청을 채취하여 ELISA방법으로 측정하였다. 연구결과 정상대조군에 비해 침윤성 자궁경부암에서 의미있는 증가를 보이고 병기별 혈중농도도 1기와 3기암에서 유의한 수준의 증가를 보이는 것으로 보아 어느정도 상관관계가 있으리라 추측할 수 있었으나 대상 환자의 수가 적고 2기암인 경우 0기암보다 낮은 농도를 보이는 등 정비례관계를 보이지는 않았다.

Kaci 등<sup>27)</sup>의 연구에서는 암의 병기가 진행된 경우나 재발암에서 통계적으로 의미있게 증가했다는 보고를 하였으며 암조직에서 ICAM-1 mRNA의 발현을 확인한 바 있다. 따라서 자궁경부암에서 혈중 ICAM-1의 발현을 알 수 있었고 그 혈중 농도의 증가는 종양의 진행정도와 어느정도 연관성이 있으리라 사료된다. 또한 향후 좀더 많은 환자를 대상으로 하는 후향적연구를 통해 종양표지물질로써 가치가 있는지를 알아보기위한 연구가 필요할 것이다.

## V. 결론

ICAM-1 (Intercellular adhesion molecule-1)은 면역반응의 중요한 조기발현 물질로써 여러 가지 세포 및 여러형태의 암에서 발견되고 있으며 난소암 및 자궁경부암등 부인암에서도 증명되고 있다. 또한 혈중 ICAM-1농도가 높을수록 암조직으로부터의 분비가 증가한다고 보고된 바 있다.

이에 본 연구에서는 자궁경부암 환자의 혈중 ICAM-1농도를 측정하여 그 임상적 의의를 알아보기 위해 치료전 혈중 ICAM-1 농도를 ELISA방법으로 측정하였다. 연구재료로는 침윤성 자궁경부암 40예과 0기암 16예 및 정상대조군 15예등 총 71예를 대상으로 하였다.

혈중 ICAM-1의 평균농도는 정상군  $150.1 \pm 41.3$  ng/ml, 0기암  $182.3 \pm 105.9$  ng/ml, 침윤성 자궁경부암  $189.8 \pm 60.0$  ng/ml 등으로 정상대조군에 비하여 침윤성 자궁경부암에서 통계적으로 의미있게 증가하는 양상을 보였으며, 특히 1기와 3기암에서도 유의

한 증가를 보였다.

이상의 결과로 자궁경부암에서 ICAM-1의 발현을 알 수 있었으며 자궁경부암의 병기가 진행될수록 혈중 농도의 증가를 알 수 있었으나 향후 좀더 많은 후향적 연구가 필요하리라 사료된다.

-참고문헌-

1. Ruoslahti E, Pierschbacher MD: New perspectives in cell adhesion: RGD and integrins. *Science* 1987; 238:491-7.
2. Larson RS, Springer TA: Structure and function of leukocyte integrins. *Immunol Rev* 1990; 114:181-217.
3. Nasu K, Ishida T, Setoguchi M, Higuchi Y, Akizuki S, Yamamoto S: Expression of wild-type and mutated rabbit osteopontin in *Escherichia coli* and their effects on adhesion and migration of P388D1 cells. *Biochem J* 1995; 307:257-65.
4. Springer TA: Adhesion receptors of the immune system. *Nature* 1990; 346:425-34.
5. Staunton DE, Dustin ML, Erickson HP, Springer TA: The arrangement of the immunoglobulin-like domains of ICAM-1 and the binding sites for LFA-1 and rhinovirus. *Cell* 1990; 61:243-54.
6. Dustin ML, Rothelin R, Bhan AK, Dinareelo CA, Springer TA: Induction by IL-1 and interferon- $\gamma$ : Tissue distribution, biochemistry and function of a natural adherence molecule (ICAM-1). *J Immunol* 1986; 137:245-54.
7. Tabibzadeh SS, Poubouridis D: Expression of leukocyte adhesion molecules in human endometrium. *Am J Clin Pathol* 1990; 93:183-9.
8. Adams DH, Hubscher SC, Shaw J, Rothelin R: Intercellular adhesion molecule-1 on allografts during rejection. *Lancet* 1989; 8672:1122-5.
9. Weetman AP, Cohen S, Makoba MW, Borysiewicz LK: Expression of an intercellular adhesion molecule-1, ICAM-1, by human thyroid cells. *J Endocrinol* 1989; 122:185-91.
10. Vogetseder W, Feichtinger H, Shulz TF, Schwaible W, Tabaczewski P, Mittere M, Bock G, Marth C, Dapunt O, Mikuz G, Dierich MP: Expression of 7F7-antigen, a human adhesion molecule identical to intercellular adhesion molecule-1, in human carcinomas and their stromal fibroblasts. *Int J Cancer* 1989; 43:768-73.
11. Saito I, Terauchi K, Shimuta M, Nishimura S, Yoshino K, Takeuchi T, Tsubota K, Miyasaka N: Expression of cell adhesion molecules in the salivary and lacrimal glands of Sjogren's syndrome. *J Clin Lab Anal* 1993; 7:180-7.
12. Wegner CD, Gundel RH, Reilly P, Haynes N, Letts LG, Rothelin R: Intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) in the pathogenesis of asthma. *Science* 1990; 247:456-9.
13. Natali P, Nicotra MR, Cavaliere R, Bigotti A, Romano G, Temponi M, Ferrone S: Differential expression of intercellular adhesion molecule-1 in primary and metastatic melanoma lesions. *Cancer Res* 1990; 50:1271-8.
14. Wolff JM, Stephenson RN, Chisholm GD, Habib FK: Levels of circulating intercellular adhesion molecule-1 in patients with metastatic cancer of the prostate and the benign prostatic hyperplasia. *Eur J Cancer* 1995; 31A:339-41.
15. Gardner MJ, Jones LMH, Catterall JB, Turner GA: Expression of cell adhesion molecules on ovarian tumor cell lines and mesothelial cells, in relation to ovarian cancer metastasis. *Cancer Lett* 1995; 91:229-34.
16. Dippold W, Wittig B, Schwaible W, Mayet W, Meyer zum Buschenfelde K-H: Expression of intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1, CD54) in colonic epithelial cells. *Gut* 1993; 34:1593-7.
17. Coleman N, Greenfield IM, Hare J, Kruger-Gray H, Chain BM, Stanley MA: Characterization and functional analysis of the expression of intercellular adhesion molecule-1 in human papillomavirus-related disease of cervical keratinocytes. *Am J Pathol* 1993; 143:355-67.
18. Seth R, Raymond FD, Makgoba MW: Circulating ICAM-1 isoforms: Diagnostic prospects for inflammatory and immune disorders. *Lancet* 1991; 338:83-4.
19. Rothelin R, Mainolfi EA, Czajkowski M, Marlin SD: A form of circulating ICAM-1 in human serum. *J Immunol* 1991; 147:3788-93.
20. Tsujisaki M, Imai K, Hirata H, Hanzawa Y, Masuya J, Nakani T, Sugiyama T, Matsui M, Hinoda Y, Yachi A: Detection of circulating intercellular adhesion molecule-1 antigen in malignant diseases. *Clin Exp Immunol* 1991; 85:3-8.
21. Harning R, Mainolfi E, Bystry J-C, Henn M, Merluzzi VJ, Rothelin R: Serum levels of circulating intercellular adhesion molecule 1 in human malignant melanoma. *Cancer Res* 1991; 51:5003-5.
22. Johnson JP, Stade BG, Holzmann B, Reithmuller G: De novo expression of intercellular-adhesion molecule 1 in melanoma correlates with increased risk of metastasis. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989; 86:641-4.
23. Vanky F, Wang P, Patarroyo M, Klein E: Expression of adhesion molecule ICAM-1 and major histocom-

- patibility complex classI antigens on human cells is required for their interaction with autologous lymphomas in vitro. *Cancer Immunol Immunother* 1990; 31:19-27.
24. Coleman N, Stanley MA: Characterization and functional analysis of the expression of vascular adhesion molecules in human papillomavirus-related disease of the cervix. *Cancer* 1994; 74:884-92.
  25. Faull RJ, Russ GR: Adhesion of lymphocytes to stimulated vascular endothelial cells occurs via ICAM-1-dependent and ICAM-1-independent pathways. *Transp*lant Proc 1990; 22:2099-100.
  26. Rothelin R, Czajkowski M, O'Neil MM, Marlin SD, Mainolfi E, Merluzzi VJ: Induction of intercellular adhesion molecule-1 on primary and continuous cell lines by pro-inflammatory cytokines. *J Immunol* 1988; 141:1665-9.
  27. Kaei N, Hisashi N, Yasuko E, Yasushi K, Yoshiko H, Isao M: Serum levels of soluble intercellular adhesion molecule-1(ICAM-1) and the expression of ICAM-1 mRNA in uterine cervical cancer. *Gyn Oncol* 1997; 65:304-8.
-