

## 慢性肝疾患における血清可溶性接着分子

坂口正巳 銭谷幹男 高橋宏樹  
河辺朋信 相澤良夫

東京慈恵会医科大学内科学講座消化器・肝臓内科

(受付 平成15年11月12日)

### SERUM SOLUBLE ADHESION MOLECULES IN CHRONIC LIVER DISEASES

Masami SAKAGUCHI, Mikio ZENIYA, Hiroki TAKAHASHI,  
Tomonobu KAWABE, and Yoshio AIZAWA

*Division of Gastroenterology and Hepatology, Department of Internal Medicine,  
The Jikei University School of Medicine*

Serum levels of soluble adhesion molecules (soluble intercellular adhesion molecule 1 [sICAM-1], soluble vascular cell adhesion molecule 1 [sVCAM-1], and soluble endothelial cell leukocyte adhesion molecule-1 [sELAM-1]) in chronic liver diseases (chronic hepatitis B, 34 patients; chronic hepatitis C, 25 patients; autoimmune hepatitis, 15 patients; and primary biliary cirrhosis, 11 patients) were studied with enzyme-linked immunosorbent assay. Levels of ICAM-1 and VCAM-1 mRNA in liver biopsy specimens were also studied with the reverse transcriptase-polymerase chain reaction. Functional activities of serum soluble ICAM-1 (chronic hepatitis, 20 patients; autoimmune hepatitis, 5 patients; and primary biliary cirrhosis, 4 patients) were studied with a binding activity assay using NAD-20 lymphocyte homotypic cell aggregation. Levels of soluble adhesion molecules in the serum of patients with chronic liver diseases were significantly increased and were positively correlated with serum levels of alanine aminotransferase. However, sICAM-1 levels in serum and mRNA levels in liver tissue were not correlated. In patients with autoimmune hepatitis, serum levels of sICAM-1 decreased after successful corticosteroid therapy. Our results suggest that sICAM-1 modulates immune responses in chronic liver diseases.

(Tokyo Jikeikai Medical Journal 2004; 119: 117-27)

Key words: intercellular adhesion molecule-1, vascular cell adhesion molecule-1, endothelial cell leukocyte adhesion molecule-1, chronic hepatitis

### I. 緒 言

免疫反応第1段階にはリンパ球などの免疫担当細胞とその標的細胞間の安定した物理的な接着が必要である。この細胞接着には細胞表面に表出する接着分子が必要であり<sup>1)</sup>、この表出調節自体も、細胞性免疫応答に深く関わることを示されている<sup>2)3)</sup>。

近年、それら接着分子の幾つかには可溶型の分

子の存在することが報告されている<sup>4)5)</sup>。これら可溶性接着分子は、炎症反応に伴い細胞表面に表出された接着分子の細胞膜貫通部より末梢が sheddingにより細胞膜より解離し血中に放出されたものとされており<sup>6)</sup>、その血清動態と病態の関連について多くの知見が集積されてきている。

接着分子上で接着に関与すると考えられている部位は、細胞膜貫通部より末梢の部分であり<sup>7)</sup>、血清中に認められる可溶型の接着分子はこの機能性

部分を包含することとなる。さらに、可溶性接着分子が放出されると推定される炎症局所では可溶性の接着分子は高濃度に存在することとなる。したがって、血清中の可溶性の接着分子が接着ドメインとしても機能を保持している場合には、細胞表面に存在している接着分子と競合的に作動し<sup>8)9)</sup>、結果的に免疫応答を修飾する可能性がある<sup>10)</sup>。肝疾患ことに、ウイルス性肝炎、自己免疫性肝疾患では、肝細胞障害はおもに肝細胞に対する免疫応答により発現していることが示されている<sup>11)–13)</sup>。この免疫応答には接着因子が必要であるが、同時に惹起される肝臓の炎症に伴い、可溶性接着因子が遊出されることが推定される。

今回著者らは、慢性肝疾患症例について、血清中可溶性接着分子の動態を明らかにするとともに、接着因子の一つである inter cellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) の可溶性の機能をバイオアッセイで評価し知見を得たので報告する。

## II. 対象・方法

東京慈恵会医科大学内科学講座消化器・肝臓内科において臨床病理学的に診断の確定した B 型慢性肝炎 (CHB) 34 症例, C 型慢性肝炎 (CHC) 25 例, 自己免疫性肝炎 (AIH) 11 例, 原発性胆汁性肝硬変 (PBC) 11 例を対象とした。これら対象の臨床背景を Table 1 に示す。測定には対象血清を用い、血清の測定使用に対する説明と同意を口頭で得た。一部同意が得られた症例では測定を経時的に行った。

対照として性、年齢を勘案した正常人 10 例を用いた。なお、肝生検時に同意が得られた 21 症例では、生検の一部を mRNA の測定に供した。

## 1. 方法

### 1) 血清中可溶性接着因子の測定

血清は早朝空腹時肘静脈からの採血により採取、血清分離後、測定まですべて凍結保存した。可溶性接着分子の測定はすべて ELISA 法により行った。すなわち、血清中の soluble intercellular adhesion molecule 1 (sICAM-1) 濃度、soluble vascular cell adhesion molecule 1 (sVCAM-1) 濃度、soluble endothelial cell leukocyte adhesion molecule-1 (sELAM-1) 濃度はいずれも British Bio-technology Products Ltd. 社のキットを用いて ELISA 法により行った。測定はいずれも Triplicate で行いその平均を対象の値とした。濃度算定は、それぞれのキットに添付されている精製接着分子標本より作成した検量曲線より求めた。

### 2) PCR 法による肝組織中の接着分子 mRNA 定量の方法

生検により得られた肝組織 (平均湿重量 5.6 mg) を RNA ゴル中でホモジェネートし Total RNA を抽出し、その後 Reverse transcription 法により cDNA を合成した。ICAM-1 については 139Bp の sense primer CAC ACT CAC CTA TGG CAA CG および anti-sense primer GAT GGT CAC TGT CTG CAG TG を、vascular cell adhesion molecule 1 (sVCAM-1) については 148bp の sense primer GAA CAC TCT TAC CTG TGC AC および anti-sense primer CTG AAC ACT TGA CTG TGA TCG をそれぞれ用いた。内部 primer として  $\beta$  アクチン特異的プライマー、sense primer TAC ATG GGG GTA TTG AA, anti-sense primer AAG AGA GGC

Table 1. Clinical background of the subjects

subjects	No. of patients	M:F	age (mean±SD)	ALT (mean±SD)
Chronic hepatitis B	34			
HbeAg (+) chronic hepatitis	23	17:6	42±7	124±154
HbeAb (+) chronic hepatitis	9	6:3	43±9	75±18
Asymptomatic carrier of HBV	4	3:1	38±9	34±5
Chronic hepatitis C	25	17:8	48±7	88±86
Primary biliary cirrhosis	11	0:11	51±7	75±35
Autoimmune hepatitis	11	0:11	46±6	187±147

ATC CTC ACC CT を用い, PCR の 9 サイクル終了時に同時増幅を開始, 18~42 サイクルごとに  $3 \mu\text{l}$  のサンプルを採取, それぞれのサンプルを 5% ポリアクリルアミドを用い電気泳動し, その後イメージプレートへ露光 (5~15 分) し, レーザーイメージ解析装置 (BSA2000) で解析, 得られた増幅曲線の  $\beta$  アクチンと ICAM-1, VCAM-1 それぞれの PCR サイクルの差 ( $\Delta$  サイクル) により遺伝子発現を半定量化した.

### 3) 血清中 sICAM-1 機能のバイオアッセイによる検討

sICAM-1 の接着に関わる機能を LFA-1/ICAM-1 依存性同種凝集反応抑制をバイオアッセイにて検討した. 測定には正常人より採取した

ヒトリンパ芽球細胞系を B95-8 系の EB ウィルスによりトランスフォームした NAD-20 細胞<sup>14)-17)</sup> を用いた (Sweden Kalolinska 研究所 M. Patarroyo 教授より供与). NAD-20 細胞は LFA-1 と ICAM-1 細胞表面上に表出し phorbol 12, 13-dibutyrate (PBU2) で刺激することにより LFA1/ICAM-1 依存性の同種凝集反応を引き起こす. 予備実験において NAD-20 細胞の PBU2 刺激による同種凝集反応は  $20 \mu\text{g/ml}$  の抗 LFA-1 モノクロナール抗体または抗 ICAM-1 モノクロナール抗体とともにインキュベーションすることにより完全に抑制されることを確認した.

NAD-20 細胞を数回の洗浄後, RPMI1640 培養液中にて  $1 \times 10^6$  cells/ml に調整, 細胞浮遊液  $5 \times$

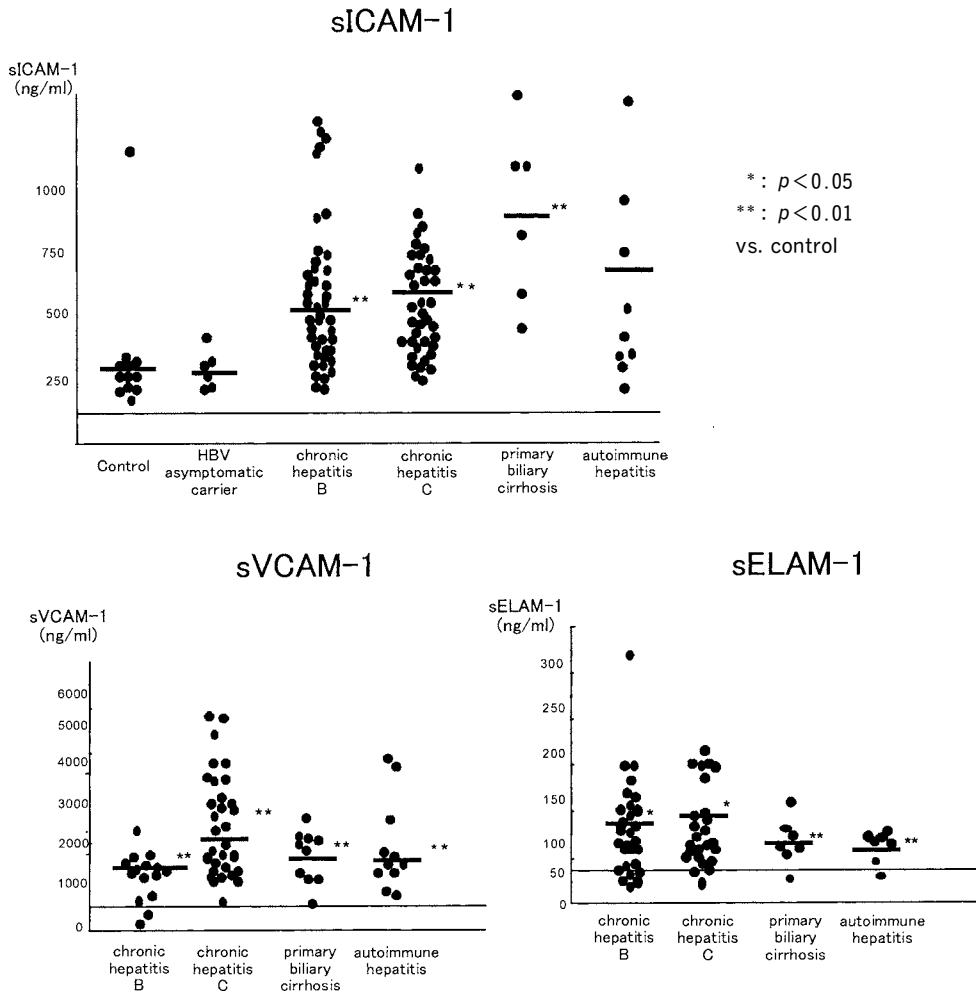


Fig. 1. Serum sICAM-1, sVCAM-1 and sELAM-1 level

10<sup>5</sup> cells/ml づつ 24 穴の細胞培養プレートに分注し被検血清 0.25 ml とともに 10 分間インキュベーションした後, phorbol 12, 13-dibutyrate (60 nM) を加え恒温振盪機にて 22 分間 100 rpm で振盪した。振盪後直ちに細胞浮遊液を 96 穴プレートに分注し, 各ウェルの写真を撮影した。得られた写真をパーソナルコンピュータ (Apple Machintosh) に取り込み, 写真上のリンパ球凝集塊の面積を画像解析ソフト (NIH Image) にて測定し評価した。対照として細胞浮遊液 0.25 ml に RPMI1640 培養液を 0.25 ml 添加したものをを用い, さらに, 抗 ICAM-1 抗体 (免疫組織用の抗体を原液で添加) の濃度を変えて添加培養したものについても (細胞浮遊液 0.25 ml に抗 ICAM-1 抗体を 25  $\mu$ l, 50  $\mu$ l, 100  $\mu$ l 添加し RPMI1640 培養液で全体量を 0.5 ml に調整した) 検討した。

#### 4) 統計解析

成績は平均 $\pm$ 標準偏差であらわし, それぞれの有意差検定には ANOVA を用いた。

### III. 結 果

#### 1. 血清中可溶性接着分子 (Fig. 1)

##### 1) sICAM-1

血清 sICAM-1 値は B 型慢性活動性肝炎 (356.1 $\pm$ 192.7 ng/ml), C 型慢性活動性肝炎 (423.4 $\pm$ 164.3 ng/ml), 自己免疫性肝炎 (615.6 $\pm$ 333.5 ng/ml), 原発性胆汁性肝硬変 (815.2 $\pm$ 483.4 ng/ml) と正常対照 (202.0 $\pm$ 38.2 ng/ml) に比べて有意に高値であった。なお, B 型肝炎ウイルス無症候性キャリアー (177.5 $\pm$ 66.2 ng/ml) と正常対照間には有意差を認めなかった。

自己免疫性肝炎群全体ではコントロールの間には有意な差を認めなかったが, そのうちステロイド治療未治療症例では sICAM-1 値は著明に高値であり, ステロイド治療後の症例は正常対照と同様の値を示した。

##### 2) sVCAM-1

血清 sVCAM-1 値は B 型慢性活動性肝炎 (1,472.2 $\pm$ 776.8 ng/ml), C 型慢性活動性肝炎 (2,312 $\pm$ 1,329 ng/ml), PBC (152.4 $\pm$ 530.9 ng/ml), AIH (1,690.5 $\pm$ 865.2 ng/ml) と疾患群で正常対照に比し (553 $\pm$ 160 ng/ml) 有意に高値を示した。

##### 3) sELAM-1

血清 sELAM-1 値は B 型慢性活動性肝炎 (84.9 $\pm$ 55.7 ng/ml), C 型慢性活動性肝炎 (99.1 $\pm$ 48.4 ng/ml), PBC (64.1 $\pm$ 54.0 ng/ml), AIH (60.5 $\pm$ 18.1 ng/ml) と疾患群で正常対照に比し (32.4 $\pm$ 12.3 ng/ml) 有意に高値であった。

#### 2. 可溶性接着分子と血清 ALT 値との相関

sICAM-1 と ALT の間には慢性肝炎症例群 ( $r=0.626$ ) と自己免疫性肝炎群間 ( $r=0.800$ ) には正の相関を認めたが, 原発性胆汁性肝硬変群では有意な相関を認めなかった (Fig. 2)。C 型慢性肝炎症例を ALT 高値群 (ALT 値 100 IU/l 以上) と低値群 (ALT 値 100 IU/l 未満) の 2 群に分けた検討では, sICAM-1 濃度は高値群では 561.0 $\pm$ 167.9

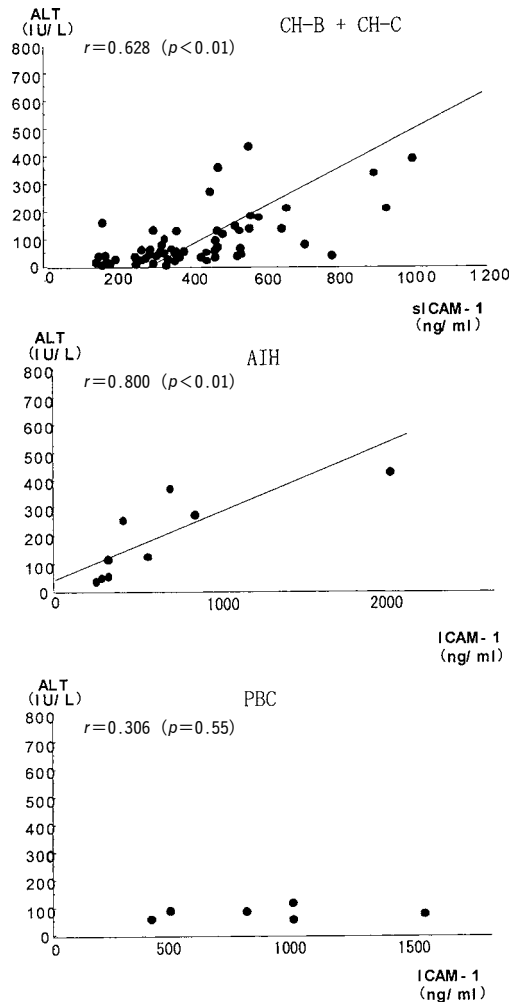


Fig. 2. Correlation between sICAM-1 and ALT

ng/ml と低値群の  $368.8 \pm 130.6$  ng/ml に比べて有意に高値を示した。

sVCAM-1 と ALT の間には自己免疫性肝炎症例で相関を認めたのみで、その他の疾患群では有意な相関を認めなかった。また、sELAM-1 と ALT の間には C 型慢性肝炎症例 ( $r=0.509$ ) と自己免疫性肝炎症例 ( $r=0.535$ ) で有意な相関を認めたが慢性 B 型肝炎症例と PBC 症例では相関を認めなかった (Data not shown)。

### 3. 各可溶性接着分子間の相関 (Table 2)

疾患群別に見た各々の可溶性接着分子の相関では、sICAM-1 と sVCAM-1 の間には、自己免疫性肝炎症例で強い相関 ( $r=0.968$ ) を認め、sICAM-1 と sELAM-1 の間には慢性 C 型肝炎症例 ( $r=$

$0.849$ ) で相関を認めた。なお、sVCAM-1 と sELAM-1 の間には、どの疾患群でも有意な相関を認めなかった。

### 4. 可溶性 ICAM-1, VCAM-1 の肝臓内 mRNA の検討 (Fig. 3)

生検標本中の ICAM-1 mRNA と生検時点での血清 sICAM-1 濃度および、生検標本中の VCAM-1 mRNA と生検時点での血清 sVCAM-1 濃度には有意な相関を認めなかった ( $r=-0.00304$ ,  $r=0.203343$ )。

### 5. 血清可溶性 ICAM-1 の機能に関する検討 (Fig. 4)

血清無添加ではプレート全体に凝集が認められ、凝集面積は 125,000 pixel であった。正常対照血清 (sICAM-1 濃度:  $202 \pm 38.2$  ng/ml) と、同程度の sICAM-1 を示す被検血清添加での凝集面積は平均 295,326 pixel と凝集の減少が認められた。添加した血清の sICAM-1 濃度と凝集面積には負の相関 ( $r=-0.45$ ,  $p=0.0245$ ) を認め、添加血中の sICAM-1 濃度が高いほど強い凝集抑制効果を認めた。経時的に観察し得た症例では、ALT が高値で、sICAM-1 が 2,120 ng/ml と高値を示す際には 199,170 pixel と強い凝集抑制を示し、ALT が低下し、sICAM-1 が 671.2 ng/ml へと低下した時点では 318,200 pixel と凝集抑制活性はほぼ正常対照程度へと変化した。

Table 2. Correlation coefficients between level of adhesion molecules (sICAM, sVCAM, sELAM-1) in patients with chronic hepatitis (CH) B and C, autoimmune hepatitis (AIH) and primary biliary cirrhosis (PBC)

	CHB	CHC	AIH	PBC
sICAM-1/sVCAM-1	0.277	0.311	<u>0.968</u>	-0.726
sICAM-1/sELAM-1	0.845	<u>0.849</u>	0.247	0.148
sVCAM-1/sELAM-1	0.011	0.080	0.437	0.244

Note: Figures underlined represent statistically significant correlation

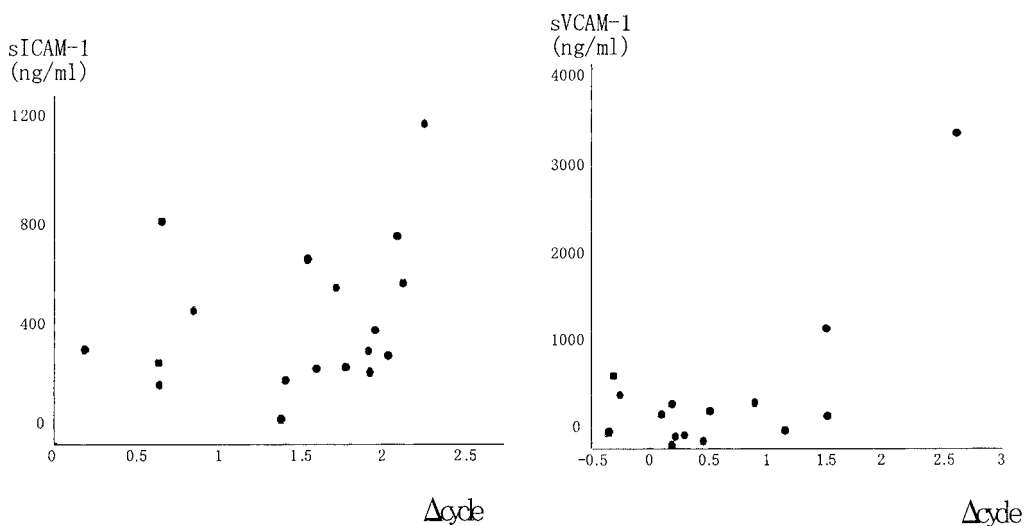


Fig. 3. Correlation between soluble adhesion molecules (sICAM-1, sVCAM-1) and the gene expression (mRNA) in liver

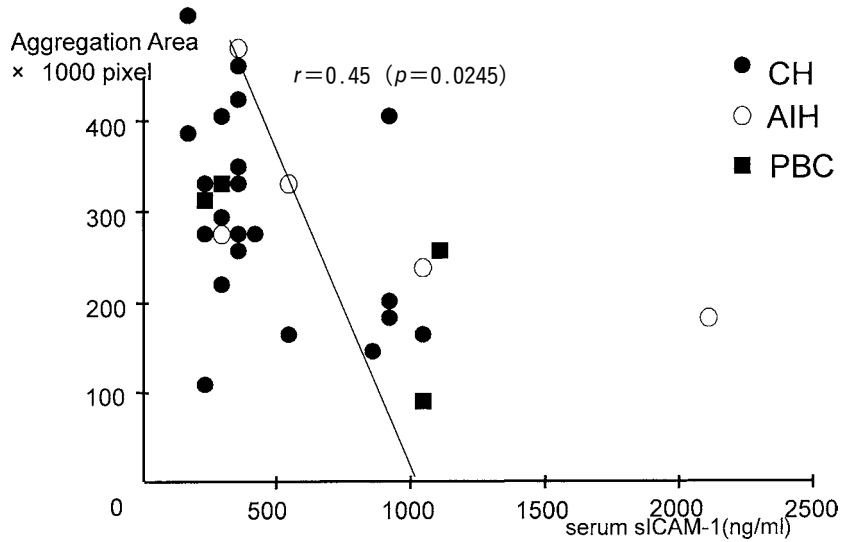


Fig. 4. Inhibitory function of sICAM-1 tested by aggregation using LFA-1/ICAM-1 dependent hemotypic cell

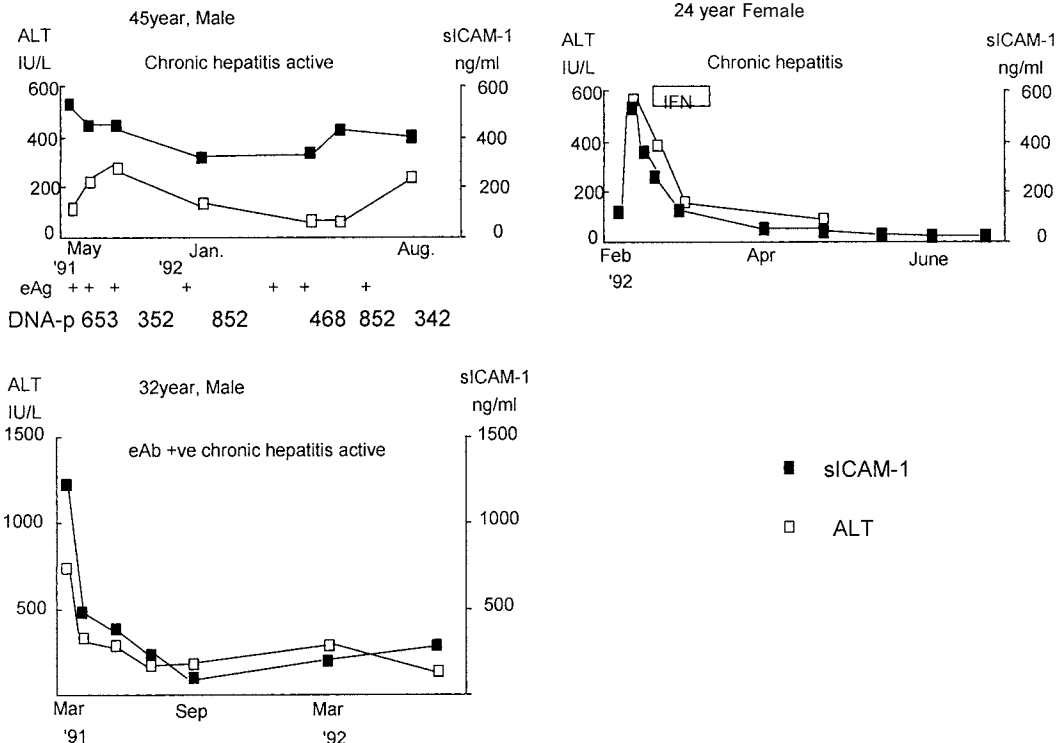


Fig. 5. Changes of serum level of sICAM-1 and clinical course in CHB patients

6. 臨床経過と可溶性接着分子の変動

経過を追って sICAM-1 を検討した B 型慢性肝炎症例の経過を Fig. 5 に示した。ALT の変

化と平行しての増減が認められた。一方, C 型慢性肝炎のインターフェロン治療前後での検討では可溶性 ICAM-1, VCAM-1, ELAM-1 と, 血清 ALT

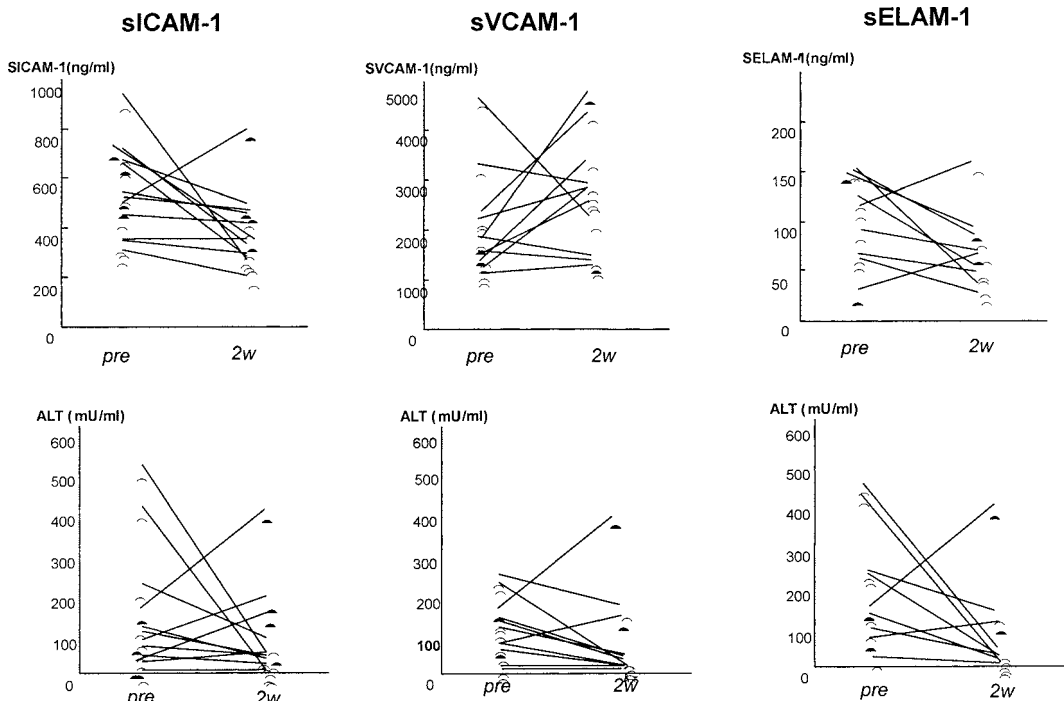


Fig. 6. Changes of serum adhesion molecules and ALT level before and after interferon therapy on CHC patients

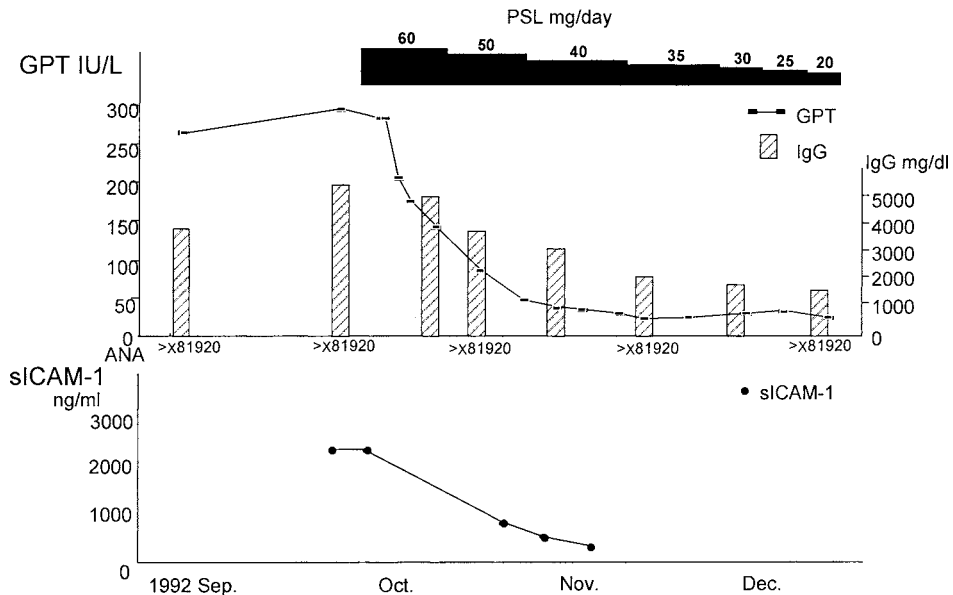


Fig. 7. Changes of serum sICAM-1 level in autoimmune hepatitis

値は何の関連を示さなかった (Fig. 6). 自己免疫性肝炎症例では Fig. 7 に示すように副腎皮質ス

テロイド治療による肝機能の正常化に応じて sICAM-1 も低下した。

#### IV. 考 察

接着分子として知られている ICAM-1, VCAM-1, ELAM-1 はそれぞれ膜貫通型の糖蛋白である。ICAM-1 は白血球の標的構造や他の免疫担当細胞への接着を仲介する<sup>18)</sup>。proinflammatory cytokine が、多くの細胞で膜結合性の ICAM-1 を増加させることが知られており、これが炎症の傷害過程の1つになっていることが報告されている<sup>19)</sup>。また、リンパ球の表面上に表出される ICAM-1 と LFA-1 は、標的構造への接着を仲介するだけでなく抗原提示細胞などの他の免疫担当細胞などへの相互作用も仲介する<sup>20)</sup>。in vitro でリンパ球を培養することによりリンパ球は細胞表面への接着分子の表出を増加させその可溶性の分子を放出し<sup>21)</sup>、正常人の血清中にも低いレベルではあるがその可溶性の分子を検知できることが報告されている<sup>7)</sup>。sICAM-1 はその膜結合蛋白のすべての細胞外ドメインを含み接着分子としての機能を持っていることが明らかとなっており<sup>22)</sup>、この点から sICAM-1 は ICAM-1/LFA-1 を介した免疫反応を autoregulation している可能性があるが、肝疾患における意義ははまだ明らかとはなっていない。

今回の著者らの検討により、検討した慢性肝疾患ではウイルス性、自己免疫性などの原因を問わず、健常対象者に比し高い血清濃度を示すことが明らかとなった。とくに sICAM-1 は自己免疫性肝疾患である自己免疫性肝炎、原発性胆汁性肝硬変でウイルス性慢性肝炎に比しより高値を示し、Thomson ら<sup>23)</sup> の報告と一致した成績を得た。欧米症例とわが国症例の自己免疫性肝炎は免疫遺伝学的背景が異なることが指摘されているが<sup>24)</sup>、接着因子、ことに可溶性接着分子の面からは同様の免疫病態を示すことが確認された。また、sICAM-1 濃度と血清中 ALT レベルは良く相関を示し、経過を追い得た B 型慢性肝炎症例の検討からもこの事実が確認できた。一方、各可溶性接着分子間の相関は明確ではなく、自己免疫性肝炎で sICAM-1 と sVCAM-1 が、C 型慢性肝炎で sICAM-1 と sELAM-1 が良好な相関を示したのみであった。

可溶性接着分子の出現機序として、サイトカイ

ンで誘導される VCAM-1, ICAM-1, ELAM-1 等の接着分子では細胞膜への結合部位を欠いた mRNA は P-Selectin 以外発見されておらず<sup>1)</sup>、その可溶性は膜表面からの shedding によって産生されていると考えられている。Adams ら<sup>25)</sup> は様々な細胞の培養上清で単核球系の培養上清からのみ sICAM-1 が検出可能であったことより sICAM-1 の source は単核球に限られるとしている。しかし、原発性胆汁性肝硬変で末梢血単核球の ICAM-1 遺伝子発現を RT-PCR で比較した Thomson<sup>20)</sup> らの検討では、正常例と活動性 PBC 例で差を認めず、PBC では単核球は可溶性の ICAM-1 の source ではないことが示されており、必ずしも一定の見解には達していない。

慢性肝疾患での可溶性接着分子上昇の機序としては、1. 産生増加、2. 排泄・分解の抑制の2つがまず考えられる。sICAM-1 は今回の著者らの検討で、血清 ALT 値と良く相関を示し、いずれの症例も組織学的に慢性の肝炎に特徴的な門脈域の炎症を伴っていたことを考えあわせると、肝内の炎症細胞浸潤に伴い上昇が認められると推察される。事実、Satoh ら<sup>26)</sup> は正常肝の培養肝細胞を炎症性サイトカインとエンドトキシンで刺激することにより、肝細胞表面への ICAM-1 の発現と培養上清中への sICAM-1 の shedding がみられることを報告している。しかし、今回の著者らの mRNA 発現の検討では、必ずしもその発現亢進と血清中濃度との相関は明確でなく、排泄・分解も要因として重要であると考えられる。とくに胆汁鬱滞が主たる病態である原発性胆汁性肝硬変で sICAM-1 が最も高い血清レベルを示したのはこの要因の可能性を示唆するものである。Paroli ら<sup>27)</sup> は非活動性のアルコール性肝硬変でも sICAM-1 値の上昇を認めたことより、肝でのクリアランスの低下が sICAM-1 値の上昇の一因になっていることを報告しており、可溶性接着分子の動態には排泄・分解系の考慮も重要であろう<sup>28)-30)</sup>。

一方、C 型慢性肝炎でインターフェロン治療前後での検討では、可溶性接着分子の動態は治療前後で必ずしも一定の傾向を示さなかった。インターフェロンは抗ウイルス作用とともに免疫賦活作用を有することが知られているが、C 型慢性肝炎



のみの検討ではあるが、この影響は必ずしも明確でないことが示された。自己免疫性肝炎では免疫抑制を期待して用いられる副腎皮質ステロイドの使用後 sICAM は減少し、ALT の正常化時点で、正常対照と同程度となった。この事実は sICAM-1 に限った検討ではあるが、免疫抑制が血清中 sICAM-1 の上昇に關与する可能性を示しており、この意味からも肝内の炎症細胞浸潤と可溶性接着因子出現の關連性が示唆された。

可溶性接着分子が病態の結果としての表現に留まるのか、あるいは、積極的に免疫調節に關与するかについては必ずしも明確ではない。今回の著者らの検討により、肝疾患症例の血清 sICAM-1 は機能性を有し、ICAM-1 の対応分子である LFA-1 に結合し、細胞表面の ICAM-1-LFA-1 接着による NAD-20 細胞の凝集を明らかに抑制した。この事実は、可溶性接着因子が、炎症等の結果に留まらず、免疫応答に積極的に作動し、自己抑制性的にも作用する可能性を示している。興味あることに、この sICAM-1 の機能は、濃度が同じでも病態により異なる可能性も同時に明らかになった。可溶性接着因子の血清中上昇機序が異なる場合があることと同様に、発現機序によりその免疫学的機能も変化する可能性を示唆する所見であり、今後更なる検討が必要である。

## V. 結 語

慢性肝疾患の血清中可溶性分子は上昇を示し、その上昇は血清 ALT と正の相関を示した。血清中 sICAM-1 の上昇と、肝内 mRNA レベルとの明らかな相関は認められなかったが、臨床的病態とは相関が見られ、また免疫抑制薬使用後の自己免疫性肝炎寛解に伴って減少した。sICAM-1 はバイオアッセイにより機能を有することが確認され、免疫応答修飾に作用する可能性が示唆された。

稿を終わるにあたり、ご指導、ご校閲を賜った、東京慈恵会医科大学内科学講座消化器・肝臓内科 戸田剛太郎教授に深甚なる謝意を表すとともに、研究ご協力賜った東京慈恵会医科大学内科学講座消化器・肝臓内科第 2 研究室の諸兄に深謝いたします。

本稿の内容の一部は第 80 回日本消化器病学会総会、およびアジア太平洋肝臓学会(クアラルンプール、1994 年)で発表した。

## 文 献

- 1) Springer TA. Adhesion receptors of the immune system. *Nature* 1990; 346: 425-34.
- 2) Brod SA, Purvee M, Benjamin D, Hafler DA. T-T cell interactions are mediated by adhesion molecules. *Eur J Immunol* 1990; 20: 2259-68.
- 3) Cronstein BN, Kimmel SC, Levin RI, Martiniuk F, Weissmann G. A mechanism for the antiinflammatory effects of corticosteroids: the glucocorticoid receptor regulates leukocyte adhesion to endothelial cells and expression of endothelial-leukocyte adhesion molecule 1 and intercellular adhesion molecule 1. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992; 89: 9991-5.
- 4) Rothlein R, Mainolfi EA, Czajkowski M, Marlin SD. A form of circulating ICAM-1 in human serum. *J Immunol* 1991; 147: 3788-93.
- 5) Pigott R, Dillon LP, Hemingway IH, Gearing AJ. Soluble forms of E-selectin, ICAM-1 and VCAM-1 are present in the supernatants of cytokine activated cultured endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun* 1992; 187: 584-9.
- 6) del Pozo MA, Pulido R, Munoz C, Alvarez V, Humbria A, Campanero MR, et al. Regulation of ICAM-3 (CD50) membrane expression on human neutrophils through a proteolytic shedding mechanism. *Eur J Immunol* 1994; 24: 2586-94.
- 7) Rothlein R, Mainolfi EA, Czajkowski M, Marlin SD. A form of circulating ICAM-1 in human serum. *J Immunol* 1991; 147: 3788-93.
- 8) Martin S, Casasnovas JM, Staunton DE, Springer TA. Efficient neutralization and disruption of rhinovirus by chimeric ICAM-1/immunoglobulin molecules. *J Virol* 1993; 67: 3561-8.
- 9) Marlin SD, Staunton DE, Springer TA, Stratowa C, Sommergruber W, Merluzzi VJ. A soluble form of intercellular adhesion molecule-1 inhibits rhinovirus infection. *Nature* 1990; 344: 70-2.
- 10) Pirisi M, Vitulli D, Falletti E, Fabris C, Soardo G, Del Forno M, Bardus P, Gonano F, Bartoli E. Increased soluble ICAM-1 concentration and impaired delayed-type hypersensitivity

- skin tests in patients with chronic liver disease. *J Clin Pathol* 1997 Jan ; 50(1) : 50-3.
- 11) Waters JA, O'Rourke S, Schlicht HJ, Thomas HC. Cytotoxic T cell responses in patients with chronic hepatitis B virus infection undergoing HBe antigen/antibody seroconversion. *Clin Exp Immunol* 1995 ; 102 : 314-9.
  - 12) Liaw YF, Lee CS, Tsai SL, Liaw BW, Chen TC, Sheen IS, Chu CM. T-cell: mediated autologous hepatocytotoxicity in patients with chronic hepatitis C virus infection. *Hepatology* 1995 ; 22 : 1368-73.
  - 13) Toda G, Zeniya M. Autoimmune hepatitis. *Intern Med* 1993 ; 32 : 913-6.
  - 14) Patarroyo M, Beatty PG, Serhan CN, Gahmberg CG. Identification of a cell-surface glycoprotein mediating adhesion in human granulocytes. *Scand J Immunol* 1985 ; 22 : 619-31.
  - 15) Patarroyo M, Beatty PG, Fabre JW. Identification of a cell surface protein complex mediating phorbol ester-induced adhesion (binding) among human mononuclear leukocytes. *Scand J Immunol* 1985 ; 22 : 171-82.
  - 16) Patarroyo M, Beatty PG, Nilsson K, Gahmberg CG. Identification of a cell-surface glycoprotein mediating cell adhesion in EBV-immortalized normal B cells. *Int J Cancer* 1986 15 ; 38 : 539-47
  - 17) Weber S, Ruh B, Dippel E, Czarnetzki BM. Monoclonal antibodies to leucosialin (CD43) induce homotypic aggregation of the human mast cell line HMC-1 : characterization of leucosialin on HMC-1 cells. *Immunology* 1994 ; 82 : 638-44.
  - 18) Springer TA. Adhesion receptors of the immune system. *Nature* 1990 2 ; 346 : 425-34.
  - 19) Rothlein R, Czajkowski M, O'Neill MM, Marlin SD, Mainolfi E, Merluzzi VJ. Induction of intercellular adhesion molecule 1 on primary and continuous cell lines by pro-inflammatory cytokines. Regulation by pharmacologic agents and neutralizing antibodies. *J Immunol* 1988 ; 141 : 1665-9.
  - 20) Altmann DM, Hogg N, Trowsdale J, Wilkinson D. Cotransfection of ICAM-1 and HLA-DR reconstitutes human antigen-presenting cell function in mouse L cells. *Nature* 1989 6 ; 338 : 512-4.
  - 21) Seth R, Raymond FD, Makgoba MW. Circulating ICAM-1 isoforms : diagnostic prospects for inflammatory and immune disorders. *Lancet* 1991 13 ; 338 : 83-4.
  - 22) 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 [erratum in *Cell* 1990 Jun 15 ; 61 (2) : 1157 and 1991 Sep 20 ; 66(6) : following 1311]
  - 23) Thomson AW, Satoh S, Nussler AK, Tamura K, Woo J, Gavalier J, van Thiel DH. Circulating intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) in autoimmune liver disease and evidence for the production of ICAM-1 by cytokine-stimulated human hepatocytes. *Clin Exp Immunol* 1994 ; 95 : 83-90.
  - 24) Zeniya M, Watanabe F, Aizawa Y, Toda G. Immunogenetic background of hepatitis B virus infection and autoimmune hepatitis in Japan. *Gastroenterol Jpn* 1993 ; 28 Suppl 4 : 69-75 ; discussion 76-80.
  - 25) Adams DH, Mainolfi E, Elias E, Neuberger JM, Rothlein R. Detection of circulating intercellular adhesion molecule-1 after liver transplantation : evidence of local release within the liver during graft rejection. *Transplantation* 1993 ; 55 : 83-7.
  - 26) Satoh S, Nussler AK, Liu ZZ, Thomson AW. Proinflammatory cytokines and endotoxin stimulate ICAM-1 gene expression and secretion by normal human hepatocytes. *Immunology* 1994 ; 82 : 571-6.
  - 27) Paroli M, Carloni G, Franco A, De Petrillo G, Alfani E, Perrone A, et al. Human hepatoma cells expressing MHC antigens display accessory cell function : dependence on LFA-1/ICAM-1 interaction. *Immunology* 1994 ; 82 : 215-21.
  - 28) Jaeschke H, Essani NA, Fisher MA, Vonderfecht SL, Farhood A, Smith CW. Release of soluble intercellular adhesion molecule 1 into bile and serum in murine endotoxin shock. *Hepatology* 1996 ; 23 : 530-6.
  - 29) Adams DH, Mainolfi E, Elias E, Neuberger JM, Rothlein R. Detection of circulating intercellular adhesion molecule-1 after liver transplantation : evidence of local release within the liver during graft rejection. *Trans-*

- plantation 1993; 55: 83-7.
- 30) Lang T, Krams SM, Villanueva JC, Cox K, So S, Martinez OM. Differential patterns of circulating intercellular adhesion molecule-1 (cICAM-1) and vascular cell adhesion molecule-1 (cVCAM-1) during liver allograft rejection. Transplantation 1995 27; 59: 584-9.