



Prevalence of CD56 /NCAM molecule in nervous system immune system and endocrine glands - accidental coincidence?

Jan Żeromski, Mirosław Szczepański, Mozer-Lisewska*

Department of Clinical Immunology University of Medical Sciences Poznan, Poland

*Department of Infectious Diseases and Child Neurology, University of Medical Sciences Poznan, Poland

Summary

The authors presented advances in the research on isoform of neural cell adhesion molecule CD56/NCAM, which appears to raise interest not only in biology, but also in clinical medicine. Molecular aspects of its synthesis have been presented and universal features of this protein have been underlined. It appears to play an important role in body homeostasis and especially in the interactions between neural, immune and endocrine systems. In relation to the immune system there are data suggesting significance of local protective and regulatory mechanisms in the liver linked to so called NKT (CD56+) cells. Main sites of prevalence of CD56/NCAM have been indicated both in physiology and pathology, especially in malignancy. CD56/NCAM incidence is common in tumors of neuroectodermal and endocrine origin. Besides it may be expressed on cells of several hemopoetic

neoplasms originated both, from lymphoid and myeloid lineage. Moreover, the attention was paid to CD56/NCAM expression in atypical sites as for example on epithelia of bile ducts in children with extrahepatic biliary atresia and on cells of pancreatic ducts in the course of chronic pancreatitis.

(Pol J Endocrinol 2005; 1(56): 78-82)

Key words: CD56, NCAM, adhesive module



Jan Żeromski
Department of Clinical Immunology
University of Medical Sciences in Poznan
Poznan 60-355, Przybyszewskiego 49, Poland
e-mail: jzeromski@amp.edu.pl

Obecność antygenu CD56/NCAM w układzie nerwowym, odpornościowym i gruczołach dokrewnych - przypadkowa zbieżność?

Jan Żeromski, Mirosław Szczepański, Mozer-Lisewska*

Katedra Immunologii Klinicznej Akademii Medycznej im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu

* III Katedra Pediatrii, Klinika Chorób Zakaźnych i Neurologii Dziecięcej Akademii Medycznej im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu

Streszczenie

W pracy przedstawiono postęp badań nad izoformą nerwowej cząsteczki adhezyjnej CD56/NCAM, molekule, która w ostatnim czasie nabiera coraz większego znaczenia nie tylko w biologii, ale także w medycynie klinicznej. Omówiono aspekty molekularne syntezy CD56 podkreślono uniwersalny charakter tego białka pełniącego ważne funkcje w homeostazie ustroju, a zwłaszcza w interakcjach między układami- nerwowy/odpornościowy i gruczołów wydzielania wewnętrznego. W odniesieniu do układu odpornościowego, istnieją dane sugerujące ważną rolę miejscowych mechanizmów obronnych i regulacyjnych w wątrobie związanych z obecnością antygenu CD56 na komórkach NKT. Wskazano główne miejsca występowania CD56/NCAM, zarówno w warunkach fizjologicznych jak i patologii ludzkiej, związanego przede wszystkim z obecnością nowotworów złośliwych. Wśród tych ostatnich, oprócz guzów pochodzenia neuroektodermalnego i gruczołów dokrewnych, CD56/NCAM może występować

także na komórkach licznych nowotworów układu krwiotwórczego, wywodzących się z linii limfoidalnej jak i mieloidalnej. Ponadto zwrócono uwagę na obecność CD56/NCAM o nietypowej lokalizacji, jak np. jej ekspresja na komórkach nabłonka przewodów żółciowych u dzieci z wrodzoną atrezią pozawątrobowych dróg żółciowych, a także na nabłonkach zewnątrzwydzielniczych przewodów trzustki w przebiegu jej przewlekłego zapalenia.

(Endokrynol Pol 2005; 1(56): 78-82)

Słowa kluczowe: NCAM, CD56, cząsteczka adhezyjna



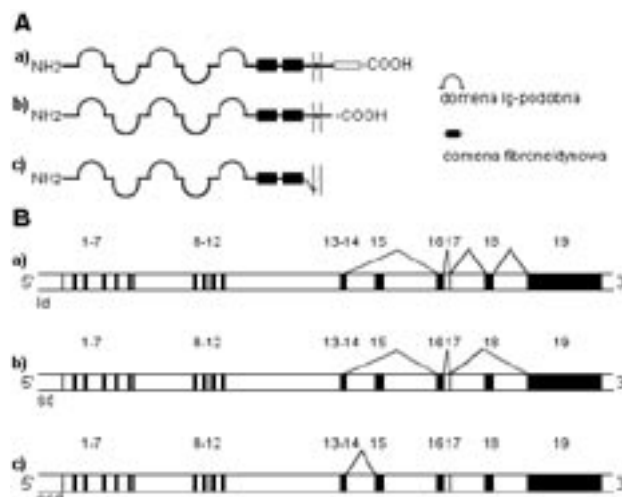
Jan Żeromski
Katedra Immunologii Klinicznej
Akademii Medycznej w Poznaniu
ul. Przybyszewskiego 49, 60-355 Poznań
e-mail: jzeromski@amp.edu.pl

Synteza i struktura CD56/NCAM

Nerwowa cząsteczka adhezyjna (NCAM1) jest glikoproteiną kodowaną przez pojedynczy gen o wielkości 70 kb na chromosomie 19 (11q 23-q24) u człowieka [1]. Znana jest także NCAM2, ale kodowana na chromosomie 21. Dotąd niewiele wiadomo o tej ostatniej cząsteczce, ale podejrzewa się, że ma ona swój udział w patogenezie zespołu Downa [2]. W dalszej części tego artykułu skrót NCAM będzie odnosił się wyłącznie do NCAM1. Znane są co najmniej 4 mRNA kodujące białko NCAM. Produkt finalny syntezy NCAM ma 689 reszt aminokwasowych i pokryty jest kwasem polisialowym. Istnieje ponad 20 różnych izoform NCAM będących w większości wynikiem modyfikacji potranslacyjnych. Trzy główne izoformy powstałe na poziomie transkrypcji obejmują cząsteczki o masie 120, 140 i 180 kDa. Izoforma 140 kDa znana jest jako CD56 (NKH-1, Leu-19). Gen NCAM składa się co najmniej z 19 egzonów [1]. W jego pobliżu znajdują się skupiska genów dla apolipoprotein, gen dla antygeny Thy-1 (Theta), gen dla aminopeptydazy leucynowej, a także dla receptora dopaminy [3]. Ten ostatni budzi szczególne zainteresowanie ze względu na powiązanie produktu genu z układem nerwowym. Z genomowego DNA powstaje w wyniku transkrypcji mRNA. Transkrypcja różni się dla mRNA izoformy 120kD i 140kD w co najmniej 3 egzonach. Translacja prowadzi do powstania białka posiadającego część zewnątrzkomórkową, transbłonową i cytoplazmatyczną. Część zewnątrzkomórkowa ma długość 30-60 nm i występuje albo jako pojedyncza „witka”, lub w drobnych agregatach. Łańcuch polipeptydowy tworzy 5 domen immunoglobulino(Ig)-podobnych i 2 fibronektyno(Fn)-podobne. Oprócz odmiany klasycznej posiadającej 3 wyżej wymienione części istnieją odmiany CD56 składające się tylko z części zewnętrznej i transbłonowej oraz wyłącznie z części zewnątrzkomórkowej, ale zakotwiczonej w błonie komórkowej przy udziale fosfatydyloinozytolu wrażliwego na swoiste fosfolipazy (ryc. 1). Znana jest również forma wolna, rozpuszczalna NCAM. Nie jest dotąd jasne, czy jest ona wynikiem złuszczenia się fragmentu zewnątrzkomórkowego z powierzchni komórki, czy też jest kodowana jako osobna cząsteczka [4]. Potencjalnie każda izoforma NCAM posiada aminokwasową sekwencję sygnałową, która niesie informację, że finalny produkt białkowy może być polipeptydem wydzielniczym, a nie zakotwiczonym w błonach komórkowych (ryc. 2).

Funkcje biologiczne CD56/NCAM

NCAM jest powszechnie uważana za komórkową cząsteczkę adhezyjną, co zresztą wynika z jej nazwy. Interakcje z innymi komórkami mają

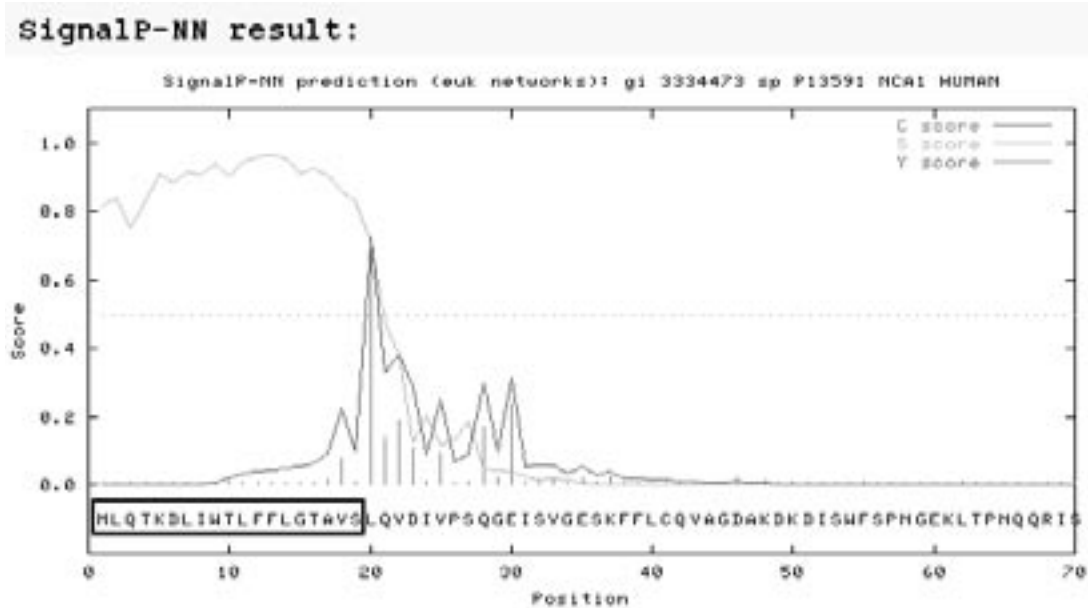


Ryc. 1 Odmiany CD56/NCAM. A) Polipeptydy: a) z dużą domeną cytoplazmatyczną; b) z małą domeną cytoplazmatyczną; c) z domeną powierzchniową. B) Gen dla CD56/NCAM (u kurczęcia) zawierający 19 egzonów kodujący (cienkie linie-miejsca składania egzonów „splicing”): a) polipeptyd z dużą domeną cytoplazmatyczną (ld); b) polipeptyd z małą domeną cytoplazmatyczną (sd); c) polipeptyd z domeną powierzchniową (ssd). (Według [1], zmodyf.).

Fig. 1 CD56/NCAM variants. A) Polypeptides: a) with large cytoplasmic domain; b) with small cytoplasmic domain; c) with small surface domain. B) CD56/NCAM gene (in chicken) contains 19 exons (thin lines-sites of exon splicing): a) with large cytoplasmic domain (ld); b) with small cytoplasmic domain (sd); c) with small surface domain (ssd). (Acc.to [1], modif.)

głównie charakter homofilny, co oznacza, że obie reagujące komórki winny mieć ekspresję CD56. Możliwe są jednak także interakcje heterofilne, jak to wykazano na przykładzie ludzkich tymocytów (CD56⁻), reagujących z komórkami śródbłonna wykazujących w pewnych warunkach ekspresję CD56 [5]. Cząsteczka w swej części zewnątrzkomórkowej wykazuje dużą giętkość umożliwiającą zmianę orientacji i odległości w stosunku do drugiej komórki [6].

Niezwykle ważną rolę pełni CD56/NCAM w układzie nerwowym. Bierze udział w morfogenezie centralnego układu nerwowego. Warunkuje pewne formy migracji neuronów, indukuje wzrost neurytów, tworzenie pęczków włókien nerwowych, regenerację i inne. Wykazano jej funkcję w kształtowaniu wyższej czynności nerwowej- tzw. plastyczności synaptycznej warunkującej pamięć, uczenie się, zdolność kojarzenia faktów [7]. Cambon i wsp. wytworzyli syntetyczną NCAM. Po wstrzyknięciu tej cząsteczki do mózgu szczura, wykazali wzmożone powstawanie synaps między komórkami nerwowymi, poprawę pamięci i innych funkcji nerwowych u badanego zwierzęcia [8].



Ryc.2 Predykcja aminokwasowej sekwencji sygnałowej dla izoformy CD56/NCAM 140kD (Accession Number P13591): MLQTKDLIWTLFFLGTAVS. Identyczne sekwencje sygnałowe zawiera izoforma 120kD i 180kD. [27]

Fig.2 Prediction of signal peptide for CD56/NCAM 140kD isoform (Accession Number P13591): MLQTKDLIWTLFFLGTAVS. Identical signal sequences are found in 120kD and 180kD isoforms. [27]

Miejsce występowania CD56/NCAM w fizjologii i patologii

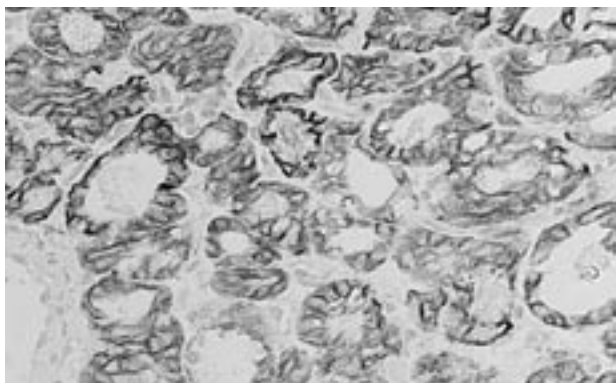
Zgodnie z tym co przedstawiono powyżej, cząsteczka ta występuje obficie w ośrodkowym i obwodowym układzie nerwowym. Jej obecność można wykazać w neuronach, komórkach glejowych, pniach nerwów a także złączach nerwowo-mięśniowych. Wykazano połączenia jej części cytoplazmatycznej z głównymi składnikami cytoszkieletu komórki [9].

Znamienne jest także występowanie cząsteczki CD56 w układzie odpornościowym. Jest obecna na powierzchni komórek NK i stanowi ich antygen różnicowania. We krwi można wyróżnić 2 subpopulacje komórek NK w zależności od ekspresji tego antygeny: o wysokiej ekspresji (CD56^{high} –około 10% komórek NK i o niskiej (CD56^{low}-90% komórek). Ich funkcja się różni, gdyż, jak to wykazano w przewlekłym wirusowym zapaleniu wątroby typu C, komórki NK (CD56^{low}) są cytotoksyczne dla zakażonych hepatocytów, a NK CD56^{high} nasilają proces zapalny w wątrobie [10]. Ponadto istnieją limfocyty T (CD3⁺) wykazujące ekspresję antygeny CD56. Są to tzw. komórki NKT, występujące szczególnie licznie w wątrobie. Mają one ograniczony repertuar receptora dla antygeny (TCR) i odpowiadają głównie nie na peptydy, ale na antygeny glikolipidowe w połączeniu z cząsteczką CD1 (a nie z antygenem zgodności tkankowej MHC jak typowe limfocyty T). Pełnią one funkcję wczesnego ostrzeżenia i mają zdolność szybkiej produkcji cytokin, takich jak IL-4, IFN- γ czy IL-12 po związaniu ich

receptora dla antygeny. Istnieją dane sugerujące, iż istnienie miejscowego układu odpornościowego w wątrobie z udziałem limfocytów NKT, w znacznym stopniu determinuje przebieg wirusowych zapaleń wątroby typu B i C i to zarówno u dorosłych jak i u dzieci. Ponadto uważa się, że limfocyty NKT odgrywają ważną rolę w immunoregulacji. Ich brak w ustroju wiąże się ze skłonnością do występowania chorób o charakterze autoimmunizacyjnym [11].

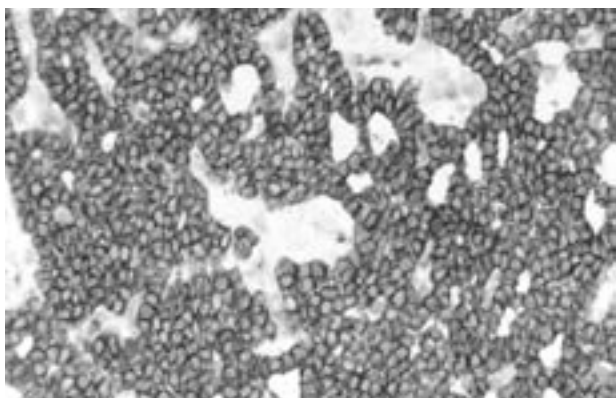
Trzecim ważnym miejscem występowania cząsteczki CD56/NCAM jest układ gruczołów dokrewnych. Wykazano jej obecność zarówno u zwierząt jak i u człowieka. Mayerhofer i wsp. wykryli CD56 w jajniku szczura, na komórkach ziarnistych i tekalnych [12]. Langley i wsp. wykazali jej obecność w przysadce a także na komórkach wyspiaka (insulinoma) szczura [13]. W odniesieniu do materiału ludzkiego, szereg autorów, w tym także nasz zespół, wykazał ekspresję CD56 na komórkach nabłonka gruczołowego tarczycy (ryc. 3), a także na komórkach C [14, 15]. Obecność białka CD56 została potwierdzona wykazaniem mRNA dla CD56 [16]. Antygen ten wykryliśmy także w części korowej nadnerczy (ryc. 4) i w komórkach gruczolaka przedniego płata przysadki mózgowej [17].

Interesująca jest także ekspresja CD56/NCAM w nowotworach ludzkich. Jest ona obecna w rakach płuca o cechach różnicowania neuroendokrynnego jak rak anaplastyczny drobnokomórkowy [18, 19], ale także wykryto ją w rakach płaskonabłonkowych i gruczolakorakach. Opisano obecność tego antygeny w neuroblastoma, mięsaku Ewinga [20]



Ryc. 3 Tarczycza ludzka. Przeciwciało monoklonalne anty CD56 (Leu-19). Reakcja immunoperoxydazowa. Wyraźny produkt reakcji na błonach komórek nabłonka gruczołowego (x400)

Fig. 3 Thyroid gland (human). MoAb anty CD56 (Leu-19). Immunoperoxidase reaction. Distinct reaction product on cell membranes of glandular epithelium (x400).



Ryc. 4 Gruczolak części korowej ludzkich nadnerczy. Przeciwciało anty CD56 (Leu-19). Reakcja immunohistochemiczna APAAP (kompleks alkaliczna fosfataza-antyalkaliczna fosfataza). Odczyn dodatni na błonach komórkowych (x400).

Fig. 4 Adenoma of human adrenal cortex. MoAb anty CD56 (Leu-19). APAAP (alkaline phosphatase-antyalcaline phosphatase complex) reaction. Reaction product evident on cell membranes. (x400)

i w mięśniach poprzecznie prążkowanych [21]. Drugą grupę nowotworów, w których często stwierdza się obecność CD56 są guzy układu krwiotwórczego-białaczki i chłoniaki. Stwierdzono jej występowanie nie tylko na nowotworach linii limfoidalnej, ale także jako ko-ekspresję na komórkach linii mieloidalnej. Zauważono jednak, że ekspresja CD56 kojarzy się z agresywnym przebiegiem nowotworu i niemal zawsze pogarsza rokowanie. W nowotworach gruczołów dokrewnych CD56 stwierdzono w raku rdzeniastym tarczycy, w wyspiaku trzustki, w gruczolakach części korowej nadnerczy i innych. W raku brodawkowatym tarczycy ekspresja tej cząsteczki była jedynie ogniskowa [15].

Niewiele wiadomo o współzależnościach między ekspresją NCAM a funkcją hormonów. Levi i wsp. wykazali już w 1990 roku, że tyroksyna moduluje ekspresję NCAM podczas metamorfozy *Xenopus laevis* [22]. Natomiast Thompson i wsp. [23] stwierdzili, że hormon tarczycy reguluje obecność NCAM w mięśniach szkieletowych. Rubinek i wsp. wykazali, że NCAM (i N-kadheryna) biorą udział w regulacji wydzielania hormonu wzrostu [24]. Z naszych własnych obserwacji wynika, że ekspresja CD56 jest wyższa w naczynnej tarczycy a zwłaszcza w chorobie Graves-Basedowa [15]. Obecność CD56 wykazano u wszystkich kręgowców. Ponadto jej homologi występują także u bezkręgowców. Takim białkiem jest fascyklina II wykryta u *Drosophila melanogaster* i u konika polnego. Jej mutanty powodują zaburzenia fasykulacji (tworzenia pęczków włókien). Innym analogiem NCAM u bezkręgowców jest apCAM wykryta na neuronach ślimaka morskiego (*Aplysia*). Mięczak ten cechuje się posiadaniem bardzo dużych neuronów uważanych za największe w świecie zwierząt [7]. U kręgowców NCAM jest obecna bardzo wczesnie w okresie rozwoju na komórkach embrionalnych i bierze udział w tworzeniu skupisk komórek i morfogenezie, być może nie tylko układu nerwowego. Występowanie CD56 stwierdzono także w pewnych warunkach na komórkach nabłonkowych. U dzieci z wrodzoną atrezią pozawątrobowych przewodów żółciowych wykazano obecność CD56/NCAM na komórkach nabłonka przewodów [25]. Jak wynika z doniesień wspomnianych autorów, obecność cząsteczki o tak nietypowej lokalizacji może być wartościowym badaniem immunohistochemicznym, szczególnie przydatnym we wczesnej diagnostyce atrezji dróg żółciowych. Fujisawa i wsp. wykryli CD56 na nabłonkach przewodów zewnątrzwydzielniczych trzustki w przebiegu przewlekłego zapalenia tego narządu [26].

Uwagi końcowe

Z powyższych danych nasuwa się pytanie, jaka jest faktyczna rola i znaczenie tej dziwnej cząsteczki. Wydaje się, że jest to dosyć uniwersalna cząsteczka adhezyjna pełniąca różne funkcje w kontaktach międzykomórkowych i stanowiąca nić wiążącą układy nerwowy, odpornościowy i gruczołów wydzielania wewnętrznego. Jej obecność na komórkach nowotworowych i związaną z tym progresję wzrostu guza można, być może, tłumaczyć ułatwianiem kontaktów komórkowych zarówno homo i heterofilnych. Jednak pełne określenie jej znaczenia i roli zarówno w fizjologii jak i patologii wymaga dalszych badań przy użyciu współczesnych narzędzi bioinformatycznych, genomiki i proteomiki.

Piśmiennictwo

1. Cunningham BA, Hemperly JJ, Murray BA, et al.: Neural cell adhesion molecule: structure, immunoglobulin-like domains, cell surface modulation, and alternative RNA splicing. *Science*. 1987; 236: 799-806.
2. Paoloni-Giacombino A, Chen H, Antonarakis SE: Cloning a novel human neural cell adhesion molecule gene (NCAM2) that maps to chromosome region 21q21 and is potentially involved in Down syndrome. *Genomics* 1997; 43: 43-51
3. Telatar M, Lange E, Uhrhammer N, Gatti RA. New localization of NCAM, proximal to DRD2 at chromosome 11q23. *Mamm Genome* 1995; 6: 59-60.
4. Poggi A: CD56. W: Kishimoto T et al. (red): Leucocyte typing VI. White cell differentiation antigens. NY, London Garland Publ 1997; 1155-1156.
5. Poggi A, Zocchi MR. Cultured human thymocytes lacking CD2 and CD11a/CD18 antigens are functional and adhere to endothelial cells via CD56 or CDw49d molecules. *Cell Immunol* 1992; 140: 319-330
6. Johnson CP, Fujimoto I, Perrin-Tricaud C, et al. Mechanism of homophilic adhesion by the neural cell adhesion molecule: Use of multiple domains and flexibility. *PNAS* 2004; 101: 6963- 6968.
7. Doherty P, Fazeli MS, Walsch FS. The neural cell adhesion molecule and synaptic plasticity. *J Neurobiol* 1995; 26: 437-446.
8. Cambon K, Hansen SM, Venero C, et al. A synthetic neural cell adhesion molecule mimetic peptide promotes synaptogenesis, enhances presynaptic function, and facilitates memory consolidation. *J Neurosci* 2004; 24: 4197-4204.
9. Buttner B, Kannicht C, Reutter W, Horstkorte R. The neural cell adhesion molecule is associated with major components of the cytoskeleton. *Biochem Biophys Res Commun* 2003; 310: 967-971.
10. Lin AW, Gonzalez SA, Cunningham-Rundles S, et al. CD56 (+dim) and CD56 (+bright) cell activation and apoptosis hepatitis C virus infection. *Clin Exp Immunol* 2004; 137: 408-416.
11. Jakóbsiak M, : Populacje i subpopulacje limfocytów. W *Immunologia Red. J. Gołąb, M. Jakóbsiak, W. Lasek. PWN Warszawa 2002; 94-102.*
12. Mayerhofer A, Lahr G, Gratzl M. Expression of the neural cell adhesion molecule in endocrine cells of the ovary. *Endocrinology*. 1991 Aug;129:792-800.
13. Langley OK, Aletsee-Ufrecht MC, Grant NJ, Gratzl M. Expression of the neural cell adhesion molecule NCAM in endocrine cells. *J Histochem Cytochem*. 1989 Jun; 37:781-791.
14. Jin L, Hemperly JJ, Lioyd RV. Expression of neural cell adhesion molecule in normal and neoplastic human neuroendocrine tissues. *Amer J Path* 1991; 138: 961-969.
15. Żeromski J, Biczysko M, Stajgis P, et al.: CD56 (NCAM) antigen in glandular epithelium of human thyroid: light microscopic and ultrastructural study. *Folia Histochem Cytobiol*. 1999;37:11-17.
16. Żeromski J, Dworacki G, Jenek J, et al. Protein and mRNA expression of CD56/NCAM on follicular epithelial cells of the human thyroid. *Intern J Immunopathol Pharmacol* 1999;12:23-30.
17. Żeromski J, Jenek R, Niemir Z, Liebert W. CD56 (N-CAM) antigen and mRNA expression in human endocrine glands. W: *Progress in Basic and Clinical Immunology Red. A. Mackiewicz, M. Kurpisz, J.Żeromski. Adv Exp Med Biol v.495, Kluwer Acad Publ NY; 336-339.*
18. Lantuejoul S, Moro D, Michalides RJ, et al. Neural cell adhesion molecules (NCAM) and NCAM-PSA expression in neuroendocrine lung tumors. *Am J Surg Pathol* 1998; 22: 1267-1276.
19. Patel K, Moore G, Dickson RJ, et al. Neural cell adhesion molecule (NCAM) is the antigen recognized by monoclonal antibodies of similar specificity in small-cell lung carcinoma and neuroblastoma. *Int J Cancer* 1989; 44: 573-578.
20. Gardner LJ, Polski JM, Fallon R, Dunphy CH. Identification of CD56 and CD57 by flow cytometry in Ewing's sarcoma or primitive neuroectodermal tumor. *Virchows Arch*. 1998 Jul;433:35-40.
21. Molenaar WM, Muntinghe FLH. Expression of neural cell adhesion molecules and neurofilament protein isoforms in skeletal muscle tumors. *Hum Pathol* 1998; 29: 1290-1293.
22. Levi G, Broders F, Dunon D, et al. Thyroxine-dependent modulations of the expression of the neural cell adhesion molecule N-CAM during *Xenopus laevis* metamorphosis. *Development* 1990; 108: 681-692.
23. Thompson J, Moore S, Walsch FS. Thyroid hormones regulate expression of the neural cell adhesion molecule in adult skeletal muscle. *FEBS Lett* 1987; 219: 135-138.
24. Rubinek T, Yu R, Hadani M, Barkai G, et al. The cell adhesion molecules N-cadherin and neural cell adhesion molecule regulate human growth hormone: a novel mechanism for regulating pituitary hormone secretion. *J Clin Endocrinol Metab*. 2003; 88:3724-3730.
25. Torbenson M, Wang J, Abraham S, et al. Bile ducts and ductules are positive for CD56 (N-CAM) in most cases of extrahepatic biliary atresia. *Am J Surg Pathol* 2003; 27: 1454-1457.
26. Fujisawa M, Notohara K, Tsukayama C, et al. CD56-positive cells with or without synaptophysin expression recognized in the pancreatic duct epithelium: a study with adult and fetal tissues and specimens from chronic pancreatitis. *Acta Med Okayama* 2003; 57: 279-284.
27. Bendtsen JD, Nielsen H, Heijne G, Brunak S. Improved prediction of signal peptides: SignalP 3.0. *J. Mol. Biol.*, 2004; 340:783-795,