

[文章编号] 1007-385X(2006)03-0224-03

## Fas系统与肿瘤免疫逃逸的研究进展

### Fas system and tumor immune evasion: An update

郝颖<sup>1,2</sup>综述; 刘晓平<sup>1</sup>, 徐勤<sup>2</sup>, 魏小勇<sup>2</sup>审阅(1. 北京大学深圳医院肝胆腔镜外科, 深圳 518036; 2. 广州中医药大学基础医学院, 广州 510405)

**[摘要]** Fas, 又名 CD95 或 APO-1, 是细胞凋亡信号受体, 通过与 FasL 结合诱导细胞凋亡。肿瘤细胞既可通过表达 FasL 的 T 细胞凋亡而逃逸免疫监视; 又可通过 cFLIP 调控 DISC 水平, 上调凋亡抑制基因及诱导 Fas 基因突变等抑制 Fas 介导的细胞凋亡。基于上述机制, 可从免疫细胞层面和肿瘤细胞层面两方面调节肿瘤免疫治疗。免疫细胞抗肿瘤凋亡作用可采用激动性抗体阻断其 Fas 表达、FasL 基因或 Fas 反义寡核苷酸或抗凋亡基因的转入、利用细胞因子保护作用及 Caspase 蛋白酶抑制剂阻断其凋亡。在肿瘤细胞方面, 应用抗 Fas 抗体、FasL 反义寡核苷酸、Fas 或 Bax 基因转入肿瘤细胞及某些化疗药物与细胞因子等作用, 增加肿瘤细胞 Fas 敏感性, 使之容易被免疫细胞诱导凋亡。

**[关键词]** Fas 系统; 肿瘤; 免疫逃逸; 凋亡

**[中图分类号]** R730 **[文献标识码]** A

机体发生肿瘤时, 肿瘤细胞可以凭借多种方式逃避机体免疫系统的监控、攻击而继续增殖生长, 即肿瘤的免疫逃逸 (immune evasion)。Fas 属于细胞凋亡信号受体, 与其配体 FasL (Fas ligand, FasL) 结合后诱导 Fas 所在细胞的凋亡。Fas 系统在肿瘤的发生、发展中起重要的作用, 是肿瘤免疫逃逸机制之一。研究如何抑制肿瘤的 Fas 反击 (counterattack), 并利用 Fas 系统促进肿瘤细胞的凋亡是肿瘤治疗的重要思路。本文就近年来 Fas 系统与肿瘤免疫逃逸的关系和 Fas 系统在肿瘤生物治疗中的应用现状作一综述。

#### 1 Fas 和 FasL 的分子结构与生物学特性

Fas, 又名 CD95 或 APO-1, 为典型的死亡受体, 属于肿瘤坏死因子受体 (TNFR) 和神经生长因子受体 (NGFR) 家族。Fas 是一个相对分子质量为 45 000 的 I 型膜蛋白, 其在细胞膜上分为胞内区、跨膜区和胞外区。人 Fas 基因定位于第 10 号染色体长臂 2 区 (10q24.1), 包含 8 个内含子和 9 个外显子, 全长 25 kb, cDNA 为 2 534 bp, 可编码 319 个氨基酸。机体中许多组织细胞可表达或经激活诱导表达 Fas, 以免疫系统的表达最丰富, 如胸腺细胞、外周 T 细胞、B 细胞、NK 细胞、单核细胞等, 在肝、肾、心、肺、皮肤等组织中也有较高水平的 Fas 表达, 特别是成纤维细胞、内皮细胞和上皮细胞。

Fas 配体 (FasL) 是一种相对分子质量约 40 000 的三聚体 II 型跨膜糖蛋白。人 FasL 基因定位于第 1 号染色体长臂 2 区 3 带 (1q23), 基因长度约 8.0 kb, 含 TATA 盒, 4 个外显子和 3 个内含子。其编码的 FasL 分子为 II 型跨膜蛋白, 属于 TNF 家族成员, 由 281 个氨基酸残基组成。FasL 不仅在免疫豁免器官如睾丸和眼睛中表达, 还可在多数肿瘤细胞和上皮细胞表面表达。FasL 以膜结合蛋白 (mFasL) 和可溶性蛋白 (sFasL) 两种形式存在。

Fas 具有 3 个富含半胱氨酸的胞外区和 1 个称为死亡结

构域 (death domain, DD) 的胞内区。FasL 与 Fas 结合后, Fas 三聚化使胞内的 DD 区构象改变, 然后与接头蛋白 FADD (Fas-associated death domain) 的 DD 区结合, 而后 FADD 的 N 端 DED 区 (death effector domain) 就能与 caspase-8 或 caspase-10 的前体蛋白结合, 形成 DISC (death-inducing signaling complex), 引起 caspase-8、caspase-10 通过自身剪切激活, 它们启动 caspase 的级联反应, 使 caspase-3、caspase-6、caspase-7 激活<sup>[2]</sup>, 这几种 caspase 可降解胞内结构蛋白和功能蛋白, 最终导致细胞凋亡。

#### 2 Fas 系统与肿瘤免疫逃逸

机体的许多疾病过程中都有 Fas 系统的表达异常或是功能缺陷, 如病毒感染性疾病、肿瘤及自身免疫性疾病等。体内的大量实验表明, 多种癌细胞表达的 FasL 均能诱导表达 Fas 的淋巴细胞凋亡, 提示肿瘤也可能为免疫豁免区; 另外, 许多肿瘤细胞对 Fas 介导的凋亡具有抵抗性<sup>[3]</sup>。肿瘤细胞正是由于这两种特性表达 FasL 杀伤易感的免疫活性细胞, 即 Fas 反击和抵抗 Fas 介导的凋亡, 使得肿瘤能够逃避机体免疫系统的攻击, 在体内生存及发展。

##### 2.1 Fas 反击

在人体有些恶性实体瘤如食管癌、肺癌、乳腺癌、前列腺癌、肝癌均证实有较高的 FasL 表达, 可明显诱导 Fas 敏感的淋巴细胞发生凋亡。即当 Fas 敏感的肿瘤浸润淋巴细胞侵入肿瘤组织内, 不仅不能杀伤肿瘤细胞, 反过来可与肿瘤细胞表达的高 FasL 相结合, 受到肿瘤细胞的攻击被诱导凋亡。肿瘤细胞的这一作用被称为 Fas 反击 (counterattack)<sup>[4]</sup>。

**[作者简介]** 郝颖 (1980-), 女, 山东淄博人, 硕士, 主要从事肿瘤基础和临床方面的研究

**[通讯作者]** 刘晓平, E-mail: ninliu@163.com  
徐勤, E-mail: xuqin@163.com

Ibrahim等<sup>[5]</sup>在对子宫颈癌组织研究中发现,其中94%的癌细胞表达FasL。正常的子宫颈组织FasL的表达局限在基底细胞层,基底上层没有发现FasL的表达,使得基底细胞层成为一个免疫豁免区。而在宫颈非典型增生和鳞状上皮癌标本中检测到FasL的持续表达,这说明FasL的持续表达使子宫颈癌细胞反击杀伤表达Fas的淋巴细胞,从而逃避免疫系统的监视。Eberl等<sup>[6]</sup>对小鼠进展期肿瘤(PROB)和退化期肿瘤(GERB)两种细胞系的研究发现:这两种细胞系表达同样水平的Fas,但PROB上的表达FasL水平高于GERB上的表达,并证实肿瘤细胞表达FasL有利于肿瘤的免疫逃逸。Mottolose等<sup>[7]</sup>研究发现,在良性乳腺增生中FasL表达为22%,而乳腺癌中表达有一半以上为阳性。如果乳腺组织FasL表达上升提示有发生乳腺癌的危险,并且还证实FasL上调与淋巴结转和肿瘤大小相关。

## 2.2 肿瘤细胞抵抗Fas介导的凋亡

正常情况下,Fas高度表达于各种组织细胞,而在人类肿瘤发展的过程中常伴有肿瘤细胞Fas表达缺失或功能丧失,如结肠癌、黑素瘤、食管癌、肺癌、乳腺癌、肝细胞癌。这些肿瘤细胞表面Fas表达减少甚至不表达,由于主动减少了Fas受体,肿瘤细胞对FasL阳性的肿瘤浸润淋巴细胞敏感性降低,所以肿瘤细胞凋亡不能被启动,避免了T细胞的攻击,使肿瘤细胞得以逃逸。肿瘤细胞抵抗Fas介导凋亡敏感性的可能机制是:(1)Fas基因突变。Ravandi等<sup>[8]</sup>发现,慢性髓性白血病(CML)中瘤细胞Fas表达的水平较高,但对淋巴细胞表达的FasL并不敏感,使瘤细胞凋亡受阻,检测Fas的基因型已经发生突变;(2)DISC水平的调控(通过c-FLIP<sub>L</sub>蛋白的表达);(3)凋亡抑制基因的高表达,常见的有bcl-2家族、Fas相关的磷酸酶1(FAP-1);(4)凋亡抑制分子(IAP)的表达上调;(5)启动子区的甲基化使caspase-8表达下调<sup>[9]</sup>。Teitz等<sup>[10]</sup>发现成神经细胞瘤能够通过启动子区的甲基化下调caspase-8的表达,导致基因转录水平的降低,从而降低了caspase-8蛋白的表达,最终导致caspase-8激活的凋亡信号通路的阻断,使肿瘤细胞抵抗Fas介导的凋亡;(6)血清sFas(soluble Fas)水平升高。sFas区别于Fas之处在于:sFas分子跨膜区有363 bp缺失,使sFas分子跨膜区的17个氨基酸和膜外区5个氨基酸丢失,由于翻译产物缺乏跨膜区而呈可溶性分泌。结肠癌细胞分泌的sFas与淋巴细胞表面的FasL结合可竞争性抑制结肠癌细胞与淋巴细胞表面的FasL结合,通过此途径抑制Fas介导的细胞凋亡<sup>[11]</sup>。

## 3 Fas系统在肿瘤生物治疗中的应用

如上所述,表达FasL的肿瘤细胞可诱导表达Fas的T细胞的凋亡而逃避免疫监视;另一方面,肿瘤细胞也可能因为其表达的Fas缺乏胞质内信号传导序列或过度表达抗凋亡基因而逃逸凋亡。这一机制的阐明,为肿瘤治疗提供了新策略,其可能途径有:

### 3.1 免疫细胞层面的研究

有多种措施,如采用激动性抗体阻断Fas;导入FasL基

因;应用Fas的反义寡核苷酸或淋巴细胞转入抗凋亡基因;细胞因子的保护作用,如IL-2和IL-12等;应用caspase蛋白酶抑制剂等阻断细胞凋亡过程。Hofmann等<sup>[12]</sup>应用逆转录病毒载体将鼠的FasL基因导入Fas缺陷型C57BL/6小鼠的成肌细胞使之表达功能性FasL用于抗癌治疗,对人横纹肌肉瘤细胞株的Fas表达进行分析,然后两者进行共培养实验,绝大多数表达Fas的肉瘤细胞被迅速杀伤。张虹等<sup>[13]</sup>构建pcDNA3-反义Fas真核表达载体,经脂质体转染Jurkat细胞,用流式细胞术、RT-PCR方法检测卵巢癌细胞3AO中Fas和FasL的表达,用MTT体外杀伤实验观察3AO对Jurkat细胞杀伤变化。结果发现,pcDNA3-反义Fas基因可以使Jurkat细胞表达Fas量下降,并部分阻断Fas单抗诱导的Jurkat细胞凋亡,3AO对其的杀伤减弱。说明了卵巢癌细胞表达FasL可能是其逃避免疫监视并产生对淋巴细胞攻击的原因之一;应用反义技术阻断Fas表达,可部分阻断Fas单抗诱导Jurkat细胞凋亡,可削弱肿瘤细胞对淋巴细胞的攻击。

### 3.2 肿瘤细胞层面的研究

增加肿瘤细胞Fas的敏感性,如应用TNF- $\alpha$ 、IFN- $\gamma$ 等细胞因子、激动性抗Fas抗体、FasL的反义寡核苷酸、肿瘤细胞转入Fas或Bax基因及某些化疗药物等。Lee等<sup>[14]</sup>研究发现,体外培养的小鼠肾癌细胞对Fas介导的杀伤作用不敏感,但经IFN- $\gamma$ 和TNF- $\alpha$ 处理后其Fas表达上调,并且对Fas介导的杀伤作用变得敏感。在IFN- $\gamma$ 存在时,肾癌细胞生长减慢,是由于表达FasL的T细胞诱导了肾癌细胞的凋亡。Chen等<sup>[15]</sup>报道激活的巨噬细胞所分泌的TNF- $\alpha$ 、IFN- $\gamma$ 能上调脑胶质瘤细胞Fas及FasL的表达,增加肿瘤细胞凋亡。Longley等<sup>[16]</sup>发现,氟尿嘧啶使乳腺癌细胞和结肠癌细胞的Fas表达上调,增强了Fas系统介导的凋亡。氟尿嘧啶与Fas抗体同时应用起协同作用,能进一步增强肿瘤细胞的凋亡。Aragane等<sup>[17]</sup>用巨细胞病毒作为载体将Fas基因导入表达FasL的黑素瘤细胞中,结果Fas蛋白表达上调,16 h后出现凋亡的形态学变化,与对照组相比,凋亡率明显提高,而且诱导凋亡的效率与细胞FasL表达有关。为了证明体内转Fas基因的功效,将肿瘤细胞注入裸鼠体内成瘤后,用脂质体包裹的Fas表达质粒直接注入瘤体内,28 d后发现瘤体重量明显轻于对照组。免疫组化的结果显示肿瘤细胞Fas的表达明显上调。Ryan等<sup>[18]</sup>研究发现通过反义技术抑制结肠肿瘤细胞中FasL的表达,体外检测显示,FasL表达的下调对肿瘤的生长没有作用。但是,同源免疫活性小鼠中肿瘤的生长受到明显抑制,肿瘤的大小明显降低。同时发现淋巴细胞浸润性的提高和肿瘤细胞FasL表达的降低有关。他们的研究表明,结肠肿瘤细胞中FasL的高表达,能够提高体内的抗肿瘤免疫反应。

## 4 展望

Fas诱导凋亡的作用已经得到广泛的研究,而且越来越多的研究结果证实了Fas系统在肿瘤发展中起了重要的作用。然而,这种死亡受体除了它的促凋亡作用外,最新研究

结果还显示,Fas 可以激活多种非凋亡信号途径,而这些通路的激活可以使致瘤性和转移性增高<sup>[19]</sup>。人的大多数肿瘤细胞对 Fas 介导的凋亡有抵抗作用,而肿瘤细胞在早期对 Fas 介导的凋亡有高度的敏感性。最近研究发现肿瘤细胞抵抗 Fas 介导的凋亡的确需要非凋亡信号的转导,这些信号包括 NF- $\kappa$ B 途径和 MAP 激酶途径(包括 ERK1/2,p38 和 JNK1/2)等<sup>[20]</sup>。许多研究者已经开始对肿瘤细胞中 Fas 激活的非凋亡通路、激活通路中所包含的分子以及阻断这些通路的机制进行研究。相信这些深入的研究将会为肿瘤基因治疗展示出一个崭新的前景。

[ 参 考 文 献 ]

[ 1 ] Timmer T, de Vries EG, de Jong S. Fas receptor-mediated apoptosis: a clinical application[ J ]? J Pathol, 2002, 196( 2 ): 125-134.

[ 2 ] Liu JJ, Nilsson A, Oredsson S, et al. Boswellic acids trigger apoptosis via a pathway dependent on caspase-8 activation but independent on Fas/Fas ligand interaction in colon cancer HT-29 cells [ J ]. Carcinogenesis, 2002, 23( 12 ): 2087-2093.

[ 3 ] Green DR. Death deceiver[ J ]. Nature, 1998, 396( 6712 ): 629-630.

[ 4 ] Cefai D, Favre L, Wattendorf E, et al. Role of Fas Ligand expression in promoting escape from immune rejection in a spontaneous tumor model[ J ]. Int J Cancer, 2001, 91( 4 ): 529-537.

[ 5 ] Ibrahim R, Frederickson H, Parr A, et al. Expression of FasL in squamous cell carcinomas of the cervix and cervical intraepithelial neoplasia and its role in tumor escape mechanism[ J ]. Cancer, 2006, 106( 5 ): 1065-1077.

[ 6 ] Eberl LP, Valdenaire O, Saintgiorgio V, et al. Endothelin receptor blockade potentiates fas-induced apoptosis in rat colon carcinoma cells[ J ]. Int J Cancer, 2000, 86( 2 ): 182-187.

[ 7 ] Mottolese M, Buglioni S, Bracalenti C, et al. Prognostic relevance of altered fas( CD95 )-system in human breast cancer[ J ]. Int J Cancer, 2000, 89( 2 ): 127-132.

[ 8 ] Ravandi F, Kantarjian HM, Talpaz M, et al. Expression of apoptosis proteins in chronic myelogenous leukemia: associations and significance[ J ]. Cancer, 2001, 91( 11 ): 1964-1972.

[ 9 ] Owen-Schaub L, Chan H, Cusack JC, et al. Fas and Fas ligand

interactions in malignant disease[ J ]. Int J Oncol, 2000, 17( 1 ): 5-12.

[ 10 ] Teitz T, Wei T, Valentine MB, et al. Caspase 8 is deleted or silenced preferentially in childhood neuroblastomas with amplification of MYCN[ J ]. Nat Med, 2000, 6( 5 ): 529-535.

[ 11 ] Petak I, Tillman DM, Harwood FG, et al. Fas-dependent and -independent mechanisms of cell death following DNA damage in human colon carcinoma cells[ J ]. Cancer Res, 2000, 60( 10 ): 2643-2650.

[ 12 ] Hofmann A, Blau HM. Death of solid tumor cells induced by Fas ligand expressing primary myoblasts[ J ]. Somat Cell Mol Genet, 1997, 23( 4 ): 249-257.

[ 13 ] 张 虹, 冯 捷, 付天云, 等. 转染反义 Fas 阻断 T 细胞凋亡及对肿瘤的治疗意义[ J ]. 解剖学报, 2001, 32( 1 ): 55-60.

[ 14 ] Lee JK, Sayers TJ, Brooks AD, et al. IFN-gamma-dependent delay of *in vivo* tumor progression by Fas overexpression on murine renal cancer cells[ J ]. J Immunol, 2000, 164( 1 ): 231-239.

[ 15 ] Chen GG, Chak EC, Chun YS, et al. Glioma apoptosis induced by macrophages involves both death receptor-dependent and independent pathways[ J ]. J Lab Clin Med, 2003, 141( 3 ): 190-199.

[ 16 ] Longley DB, Allen WL, McDermott U, et al. The roles of thymidylate synthase and p53 in regulating Fas-mediated apoptosis in response to antimetabolites[ J ]. Clin Cancer Res, 2004, 10( 10 ): 3562-3571.

[ 17 ] Aragane Y, Maeda A, Cui CY, et al. Inhibition of growth of melanoma cells by CD95 ( Fas/APO-1 ) gene transfer *in vivo*[ J ]. J Invest Dermatol, 2000, 115( 6 ): 1008-1014.

[ 18 ] Ryan AE, Shanahan F, O'Connell J, et al. Fas ligand promotes tumor immune evasion of colon cancer *in vivo*[ J ]. Cancer Biol Ther, 2006, 5( 3 ): 246-249.

[ 19 ] O'Brien DI, Nally K, Kelly RG, et al. Targeting the Fas/Fas ligand pathway in cancer[ J ]. Expert Opin Ther Targets, 2005, 9( 5 ): 1031-1044.

[ 20 ] Wajant H. The Fas signaling pathway: more than a paradigm[ J ]. Science, 2002, 296( 5573 ): 1635-1636.

[ 收稿日期 ] 2006 - 04 - 25                      [ 修回日期 ] 2006 - 06 - 05  
 [ 本文编辑 ] 韩 丹

· 读 者 · 作 者 · 编 者 ·

文稿中数字用法的要求

本刊严格执行国家标准《出版物上数字用法的规定》,文稿中凡是可以使用阿拉伯数字且很得体的地方,均应使用阿拉伯数字。(1)公历世纪、年代、年、月、日和时、时刻必须使用阿拉伯数字,如 20 世纪 90 年代、2006 - 02 - 15、5 h、30 min、30 s、14:36:08 等;年份不能用简称,“1998 年”不能写作“98 年”。(2)物理量量值必须使用阿拉伯数字。(3)非物理量量词前面数字一般也应使用阿拉伯数字,如 3 支、5 根等。(4)数值范围的表达要求:5 万至 10 万应写成 5 万 ~ 10 万,不能写成 5 ~ 10 万;  $3 \times 10^9$  至  $5 \times 10^9$  应写成  $3 \times 10^9 \sim 5 \times 10^9$ , 或  $(3 \sim 5) \times 10^9$ , 不能写成  $3 \sim 5 \times 10^9$ ; 60% 至 70% 不能写成 60 ~ 70%, 应写成 60% ~ 70%;  $25.5 \pm 0.5$  mg 应写成  $(25.5 \pm 0.5)$  mg。(5)带单位的量值相乘时,每个数值后单位不能省略,如 4 mm  $\times$  2 mm  $\times$  3 mm, 不能写成  $4 \times 2 \times 3$  mm 或  $4 \times 2 \times 3$  mm<sup>3</sup>。(本刊编辑部)