

Fas 介导细胞凋亡及相关免疫调节作用

陆 茜¹ 李宁丽^{1,2*}(¹上海交通大学医学院, ²上海市免疫学研究所, 上海 200025)

摘要 Fas/CD95 作为肿瘤坏死因子(TNF) / 神经生长因子(NGF) 分子受体超家族成员, 在细胞凋亡及体内免疫调节方面发挥重要的作用。细胞在接收到经 Fas 传递的凋亡信号后, 主要经胞浆 caspase 和线粒体两种途径引发细胞程序性死亡。Fas 介导 T/B 淋巴细胞的凋亡, 在这些细胞的早期分化发育和维持机体免疫平衡中起主要作用。CTL 和 NK 等杀伤细胞也通过 Fas-FasL 介导的细胞凋亡而发挥对靶细胞的杀伤效应。因此, Fas-FasL 系统在肿瘤、自身免疫性疾病、艾滋病等疾病过程中发挥重要的作用。

关键词 Fas/CD95; 细胞凋亡; 免疫调节

细胞凋亡是指在一定生理和病理情况下, 机体为维护内环境的稳定而发生的主动性细胞死亡过程, 是程序性死亡(programmed cell death)的主要形式。细胞凋亡与细胞增殖的动态平衡是维系生长发育、内环境稳定和免疫调节所必须的最基本过程, 在细胞的正常发育过程中约有半数以上的细胞通过凋亡途径被清除。

细胞内复杂的信号系统精细的调控着细胞凋亡过程, 其中包括凋亡激活基因 Bax、Bcl-Xs、ICE、Fas/APO-1、c-myc、nur 77、ich-1L、p53 等, 以及凋亡抑制基因 bcl-2、bcl-XL、ich-1s 等。Fas/CD95 作为肿瘤坏死因子(TNF) / 神经生长因子(NGF) 分子受体超家族成员, 在细胞凋亡及体内免疫调节方面发挥重要的作用。近年来, Fas 介导的细胞凋亡在免疫生理病理中的作用逐渐成为生命科学研究中的热点之一。本文对 Fas 系统的组成、信号转导以及其介导细胞凋亡的免疫因素等方面的研究进展作一综述。

1 Fas-FasL 系统

Fas 又称 CD95 或 APO-1, 是一种跨膜蛋白, 广泛表达在糖基化的细胞表面。其蛋白质结构具有 TNF/ NGF 分子受体超家族成员的共性。Fas 含有 335 个氨基酸残基, 其分子量约为 45 000~52 000。Fas 属于 I 型跨膜受体, 但它也可以通过转录水平的不同剪接, 产生可溶性的分子 sCD95 (soluble CD95)。Fas 可以在胸腺细胞, 活化的 T、B 淋巴细胞, NK 细胞及单核细胞等免疫细胞表面广泛地

表达, 也可存在于肝、肺等实体组织细胞表面。FasL 在结构上呈球状三聚体, 与 TNF 超分子家族同源^[1], 是 II 型跨膜受体。由激活的 T 细胞表达的 FasL 存在膜结合蛋白 P40 和可溶性蛋白 P27 两种形式。通常情况下, P40 以单体形式存在, 可溶性 FasL (sCD95L) 则以三聚体形式 P80 存在。FasL 主要在活化的 T 淋巴细胞表面表达^[2]。此外, 活化的白血病细胞和外周血液 T 细胞, 巨噬细胞, 甚至小鼠睾丸、gld 小鼠视网膜等非免疫组织也有 FasL 的表达。

2 Fas 介导的细胞凋亡途径

细胞在接收到经 Fas 传递的凋亡信号后, 主要经两种途径引发细胞程序性死亡, 据此将对 Fas 介导的细胞凋亡敏感的细胞分为两种: Fas I 型细胞和 Fas II 型细胞。I 型细胞, 如胸腺细胞, 通过 caspase 途径转导凋亡信号^[3]; 而 II 型细胞, 如肝细胞, 通过线粒体膜电势的消失, 粒体膜通透性增高, 细胞色素 c 释放, 细胞色素 c 与 Apaf-1、caspase-9 前体、ATP/dATP 形成凋亡体(apoptosome), 然后召集并激活 caspase-3, 进而引发 caspases 级联反应, 导致细胞凋亡。

通过 Fas 方式引起的细胞毒效应通常由细胞毒性 T 淋巴细胞(CTL) 来完成。其杀伤对象主要是受

收稿日期: 2005-11-11 接受日期: 2006-04-20

上海市科委重大项目(No.03DJ14009, No.05ZR14055, No.054319928), 上海市教委项目(No.T0206, No.05BZ26)资助

* 通讯作者。Tel: 021-64453149, Fax: 021-63846383, E-mail: ninglixiaoxue57@sjtu.edu.cn

病毒感染的细胞、肿瘤细胞和同种异体细胞。激活后的 CTL 可以分泌型、非分泌型两种方式杀伤靶细胞^[4, 5]。可以分为两个阶段:第一阶段是 CTL 识别靶细胞并活化诱发 FasL 表达;第二阶段是 CTL 表面的 FasL 与靶细胞表面的 Fas 结合, 激活启动靶细胞质内的“自杀程序”。靶细胞上的 Fas 识别并借助非共价键的结合与 CTL 表面的 Fas 配体形成 Fas/ FasL 复合物, 并通过构象改变向靶细胞传递细胞凋亡的信号^[6-8]。

3 Fas 相关免疫调节作用

3.1 T 细胞中 Fas 相关免疫调节

在 T 细胞分化过程中, 活化的 T 细胞对 Fas 介导的凋亡信号敏感性增加, 部分细胞可发生程序性死亡, 但仍有一部分 T 细胞不发生凋亡。在此过程中研究表明 TCR-CD3 在抑制凋亡发生中起到一定的作用。TCR-CD3 对于 T 细胞的活化和增生中发挥重要调节作用。已活化的 T 细胞再次接受来自 TCR-CD3 的信号后, 胞内可检测到死亡诱导信号复合体(death-inducing signaling complex, DISC) 中的 c-FLIP (细胞 FLICE 抑制蛋白长拼接体) 的轻微增加和 c-FLIPs (细胞 FLICE 抑制蛋白短拼接体) 的大量增多^[9]。有趣的是, Fas 死亡域结合蛋白(Fas-associated death domain protein, FADD)和 caspase-8 同样参与了 TCR 介导的 T 细胞增值过程, 研究表明 FADD 和 caspase-8 缺失的 T 细胞中, TCR 信号途径也发生阻断^[9]。同时, TCR-CD3 通过此途径抑制凋亡的作用可被 CD28 的协同刺激信号增强。

3.2 B 细胞中 Fas 相关免疫调节

在抗原呈递过程中, B 细胞 Fas 表达显著增多, 同时细胞对 Fas 介导的凋亡也更加敏感。自身反应性 B 细胞克隆受几个水平的调节。包括 BCR、CD40L 及细胞因子。低水平的自身抗原刺激可下调抗原受体信号系统, 使 B 细胞处于无反应状态或通过 CD40 介导上调的 Fas/FL 途径得以清除。过度活化的 B 细胞发生凋亡有利于保持机体免受过度免疫反应的损害。机体内多种信号机制共同发挥作用, 将 B 细胞的凋亡发生控制在适度范围内。Fas 与 FADD 发生交联并形成 DISC 是 Fas 介导细胞凋亡的第一步, 而 caspase-8 酶原裂解成具活性的 p20 片段是 caspase 级联活化反应的第一步, 这两个首要步骤均可通过 BCR 信号途径阻断, 或上调抗凋亡蛋白 c-FLIP 的水平^[10], 使 Fas 介导的细胞凋亡信号无

法继续传递, 从而对 B 细胞起到一定的保护作用。研究表明 TGF- β 1 能显著诱导前体 B 细胞中 Bcl-2 的表达, 但同时 c-FLIP、Bcl-XL、Bax 及 Bad 表达均无显著改变, 因而显著抑制 Fas 诱导的细胞凋亡过程, 并且其抑制作用主要通过 PI3K/Akt 信号转导途径^[11]。

3.3 细胞因子对 Fas 介导凋亡的调节作用

IL-12 是促进原始 Th 分化为 Th1 细胞过程中的重要细胞因子, 在 Fas 介导细胞凋亡过程中也具有一定的调节作用。在活化增生启动的几个周期后, 细胞往往会发生由 Fas 介导的自发性凋亡, 使免疫系统处于稳定状态。该凋亡过程与线粒体膜电势消失, 线粒体膜通透性增高, 细胞色素 c 释放及随后发生的 caspase 级联活化有关。IL-12 可通过 cFLIP 以及 caspase 信号途径对 TCR 介导的细胞死亡信号产生显著的抑制作用使 Th 细胞继续分化增殖。研究将 T 细胞与 IL-12 温育时, CD3 诱导的 Fas 凋亡显著减少, caspase-3 和 caspase-8 的激活受到抑制, 而 FLIPs 表达显著增加^[12]。

IFN 具有抗病毒、抗肿瘤和免疫调节的作用。在对 A549 肺上皮细胞的研究过程中发现: IFN 参与了对 Fas 介导的细胞凋亡的调节。在加入 Fas 抗体和 IFN 6 h 后可检测到 caspase-8 的裂解活化和细胞色素 c 的释放。研究表明 IFN 能够选择性的增加 caspase-7、caspase-8, 但对 caspase-2、caspase-3、caspase-9、caspase-10 没有影响^[13]。

4 Fas 介导细胞凋亡在疾病中的免疫调节作用

4.1 自身免疫病

细胞凋亡是维持机体免疫耐受和免疫平衡的重要形式。正常情况下免疫系统对自身成分不发生免疫应答, 这主要依赖于免疫系统对自身产生免疫耐受, 包括中枢耐受和外周耐受。其中 Fas/FasL 在免疫耐受的发生中起重要的作用。当自身耐受被打破, 免疫系统就会对自身成分产生免疫应答, 进而发展成为自身免疫病。自身免疫病患者的 T 细胞和 B 细胞活化后细胞凋亡水平下调, 并产生自身反应性的效应 T 细胞和自身抗体。Fas/FasL 介导的细胞凋亡下调的原因包括: Fas 和 FasL 的减少与突变; sFas 的增加; FasL 三聚体的减少或与 Fas 结合的减弱; Fas 信号的减弱以及抑制剂对 Fas 细胞凋亡途径的阻断等。

自身免疫性淋巴细胞增生综合征(autoimmune lymphoproliferative syndrome, ALPS; 也称 Canale Smith syndrome)是 Fas-FasL 体系功能紊乱造成的疾病之一。这是一种以淋巴结病和自身免疫为特征的儿童疾病。此病患者的淋巴结发生无恶性的增大, T 细胞群发生改变并扩大, 从而产生自身免疫。Poppema 等^[14]认为 ALPS 病症中 Fas-FasL 及其相关的凋亡基因 caspase-8、caspase-10 发生了基因变异, 导致正常 T 细胞和 B 细胞功能紊乱, 而多克隆化变异 T 淋巴细胞发生, 导致了肝脾肿大、淋巴结病变等一系列病症。

多发性硬化征(MS)是发生在北美和欧洲的一种最为常见的中枢神经系统疾病, 它可以使患者出现严重的长期无力现象。研究表明 MS 是自身免疫疾病, CD95-CD95L 通路和中枢神经系统的局部组织损伤有密切的关系^[15]。就现在的研究结果来看, CD95 表达量的减少以及在中枢神经系统中由 CD95 介导的细胞凋亡减少很可能导致组织损伤减少和疾病严重程度的减轻。

全身性红斑狼疮(SLE)等自身免疫疾病中, 由于细胞凋亡途径的缺陷, 自身反应性 B 细胞增殖, 产生病理性的自身抗体。检测 SLE 患者外周血单个核细胞 CD95 mRNA, 发现比正常人少 60 余个碱基, 表明产生了缺失突变。突变的 CD95 mRNA 可使 CD95 的跨膜部分丢失而不能在细胞表面表达, 而以可溶性形式(sCD95)存在于体液中。sCD95 可以与 CD95L 结合, 但不能传递跨膜信号, sCD95 与 CD95 竞争同 CD95L 的结合, 从而影响了细胞凋亡, 使正常的免疫下调失效, 自身反应性 B 细胞在体内积累增多, 产生了病理性的自身抗体^[16]。

由于 FasL 在正常中枢神经系统(central nervous system, CNS)表达较低, 在 MBP (myelin basic protein)所致的实验性自身免疫性脑脊髓炎(experimental autoimmune en. cephalomyelitis, EAE)鼠身上, 通过鞘内注射重组 FasL, 发现能够剂量依赖性地抑制急性 EAE, 减轻腰腹部脊髓的病理性炎症, 增加 CNS 中炎性细胞的凋亡, 但对 MBP 所诱导的免疫无抑制作用, 在体外亦发现, 致脑炎性的细胞对重组的 FasL 所诱导的凋亡高度敏感, 活化的巨噬细胞也易受影响, 而对正常表达 Fas 受体的脊髓神经元、星形细胞、少突细胞以及髓磷脂均无损伤。

4.2 肿瘤

Fas-FasL 系统在肿瘤病理过程中的作用一直是

人们研究的热点问题。肿瘤患者的免疫系统通常不能有效地杀伤肿瘤细胞, 而肿瘤细胞往往是通过逃避免疫监视和削弱免疫反应来获得生存。最新研究表明, 肿瘤细胞逃逸免疫系统攻击的重要机制之一就是由于存在 Fas/FasL 系统^[15], 表达 FasL 的肿瘤细胞还可攻击免疫效应细胞。例如, 黑色素瘤细胞和肝癌细胞均可通过表达 FasL 杀伤浸润的淋巴细胞^[17,18]。在早期胃中 MALT(与黏膜相连的淋巴组织)型淋巴瘤的形成中, 极为重要的一步就是由 MALT 型淋巴瘤 B 细胞的一个亚型发生变异而阻止 Fas 分子的活化, 逃避 Fas 通路的检查, 从而使 Fas 丧失调控功能来实现的^[18]。

免疫豁免是最近提出的概念, 包括两个不同的方面: 豁免部位, 是指体内的特定部位(如眼、睾丸等)植入外来组织后可持久存活; 豁免组织, 是指某些外来组织(包括病原体和肿瘤)植入非豁免部位而不发生免疫排斥反应。Fas/FasL 系统在免疫豁免与逃逸中具有重要意义。诸多研究都表明, Fas 系统在肿瘤细胞的免疫逃逸机制中起着重要作用。一方面, 肿瘤细胞可以通过主动表达 FasL 的方式对浸润的 CD95⁺ T 细胞进行杀伤, 削弱机体的免疫力; 另一方面, 由于肿瘤细胞本身只表达少量或不表达 Fas, 从而免受自身或 T 细胞表达的 FasL 的攻击, 并能使 T 细胞表达的 FasL 由于找不到靶细胞而作用于自身的 Fas, 引起 T 细胞的“自杀”, 借此达到免疫逃逸的目的。树突状细胞(DC)是最主要的抗原呈递细胞, Buonocore 等将编码小鼠 FasL 的重组逆转录病毒转导入野生型小鼠骨髓分化来源的 DC 中, 结果表达 FasL 的“杀伤者 DC”(“killer DC”)很快死亡。只有 lpr 小鼠的 IX; 在转导了 FasL 后能存活, 但在体内不能诱导耐受^[19]。

4.3 HIV

Fas 在人体免疫缺陷病毒(human immunodeficiency virus-1, HIV)感染病理过程中发挥重要的功能。获得性免疫缺陷病(acquired immunodeficiency syndrome, AIDS)病人中, HIV 直接的细胞病变作用并不能解释体内大量严重的 CD4⁺ T 细胞的凋亡。而 Fas-FasL 系统被认为是 HIV 非直接的病毒细胞病变作用中的关键分子, 引发了 T 细胞的自发性凋亡反应^[20]。HIV 感染者外周血和淋巴结中的 T 淋巴细胞在体外容易发生自发性凋亡、Fas 介导的凋亡及活化诱导的凋亡(activation-induced cell death, AICD), 这些被认为是 T 细胞功能改变及数量下降

的重要机制。AICD 被认为与艾滋病的进展有关, 自发性凋亡可能是促进疾病进展的一个机制, Fas/FasL 介导的细胞凋亡则与 T 细胞数量的平衡有关。

如果在细胞感染病毒之后、病毒复制之前能够使此类细胞发生凋亡, 那么就有可能限制入侵病毒的产物, 也可以此作为一种抗病毒的免疫机制^[21]。Fas 和 FasL 的交互作用可以强有力的调控 T 细胞的凋亡, 因此可能作为一种抗诸如 HIV 等 T 细胞病毒的有力免疫机制。比较感染了 HIV 病毒的患者和健康人的外周血单核细胞(PBMC)中 FasL 的研究发现, 前者的单核细胞表面没有可见的 FasL 分布而后者有。与之一致的是 FasL 的表达情况: 在感染了 HIV 病毒的患者 PBMC 的细胞表面, FasL 的活性是缺失的。体外实验中, 在患者的 PBMC 中加入拮抗 Fas 分子的抗体, 发现对 HIV 病毒产物的抑制大于 90%, 而且不影响淋巴细胞的功能, 调控 FasL 的活性有望作为一种治疗艾滋病的新疗法^[22,23]。

参考文献 (References)

- [1] Ou D *et al.* *Hum Immunol*, 2005, **66**: 799
- [2] Alonso R *et al.* *J Biol Chem*, 2005, **280**: 28439
- [3] Pellegrini M *et al.* *Blood*, 2005, **106**: 1581
- [4] Thiery J *et al.* *J Immunol*, 2005, **174**: 871
- [5] Yang S *et al.* *J Immunol*, 2004, **172**: 4599
- [6] Seki N *et al.* *J Immunol*, 2002, **168**: 3484
- [7] Krupnick AS *et al.* *J Heart Lung Transplant*, 2001, **20**: 218
- [8] Bergmann-Leitner ES *et al.* *J Immunol*, 2000, **164**: 4941
- [9] Chau H *et al.* *J Exp Med*, 2005, **202**: 405
- [10] Krueger A *et al.* *Blood*, 2006, in press
- [11] Lanvin O *et al.* *Eur J Immunol*, 2003, **33**: 1372
- [12] Lee SW *et al.* *J Immunol*, 2003, **170**: 2456
- [13] Kim KB *et al.* *Cytokine*, 2002, **20**: 283
- [14] Poppema S *et al.* *Leuk Lymphoma*, 2004, **45**: 423
- [15] 吴 乔. *细胞生物学杂志*, 2001, **23**: 7
- [16] Macchi B *et al.* *Neuroreport*, 2001, **12**: 4113
- [17] Al-Maini MH *et al.* *Lupus*, 2000, **9**: 132
- [18] Wohlfart S *et al.* *Am J Pathol*, 2004, **164**: 1081
- [19] Buonocore S *et al.* *Transplantation*, 2002, **73** (1 Suppl): S27
- [20] Lum JJ *et al.* *AIDS*, 2005, **19**: 1125
- [21] Lelievre JD *et al.* *J Virol*, 2005, **79**: 3195
- [22] Regulier EG *et al.* *Int Rev Immunol*, 2004, **23**: 25
- [23] Weinberg A *et al.* *Virology*, 2004, **330**: 313

Apoptosis and Potential Immunoregulation Mediated by Fas Molecular

Xi Lu¹, Ning-Li Li^{1,2*}

(²Shanghai Institute of Immunology, ¹Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 200025, China)

Abstract As a member of the tumor necrosis factor (TNF)/nerve growth factor (NGF) receptor superfamily, Fas (CD95) plays an important role in apoptosis and immunoregulation. Once Fas binds with its ligand, known as Fas ligand, the cells expressing Fas goes to program cell death or apoptosis. Apoptosis mediated by Fas-FasL involves in the clonal deletion of T cell and B cell in thymus and bone marrow at the early stage of the cell's differentiation. CTL and NK kill their target cells by Fas and FasL interaction. So the Fas and FasL are very important elements in maintaining immune system homeostasis of the human body and involved in autoimmune disorders, tumor development and acquired immune deficiency syndrome.

Key words Fas and FasL; immunoregulation; apoptosis

Received: November 11, 2005 Accepted: April 20, 2006

This work was supported by the Science and Technology Commission of Shanghai Municipality (No.03DJ14009, No.05ZR14055, No.054319928), Shanghai Municipal Education (No.05BZ26) and Shanghai Leading Academic Discipline Project (No.T0206)

*Corresponding author. Tel: 86-21-64453149, Fax: 86-21-63846383, E-mail: ninglixiaoxue57@sjtu.edu.cn