

限,使我们无法将各个动点蛋白置于具体的细胞学功能环境中去了解其对染色体运动的调节,这大大限制了我们对有丝分裂机理的理解。利用酵母双杂交体系、荧光共振能量转移(fluorescence resonance energy transfer methods, FRET)等方法,我们将积累更多的动点蛋白分子相互作用的证据,随着人类基因组的完成和功能蛋白质组研究的进一步深入,我们将进一步了解动点的组成及各动点蛋白的功能,从而使我们将对有丝分裂的机理有更好的理解,甚至全面阐述有丝分裂的信号通路,乃至在试管内重组有丝分裂的全过程,那时人类随意调控细胞生长并遏制癌症梦想的实现将指日可待。

### 参 考 文 献

- [1] Rieder, C. L. and Salmon, E. D., 1998, *Trends Cell Biol.*, **8**:310-337.  
[2] Skibbens, R. V. and Hieter, P., 1998, *Annu. Rev.*

*Genet.*, **32**:307-337.

- [3] Walczak, C. E. et al., 1996, *Cell*, **84**:37-47.  
[4] Campbell, M. S. and Gorbsky, G. J., 1995, *J. Cell Biol.*, **129**:1195-1204.  
[5] Sugata, N. et al., 1999, *J. Biol. Chem.*, **274**(39):27343-27346.  
[6] Chan, G. K. T. et al., 1998, *J. Cell Biol.*, **173**:49-63.  
[7] Nicklas, R. B., 1997, *Science*, **275**:632-637.  
[8] Inoue, S., 1995, *Mol. Cell Biol.*, **6**:1619-1640.  
[9] Nasmyth, K. et al., 2000, *Science*, **288**:1379-1384.  
[10] Pennisi, E. et al., 1998, *Science*, **279**:477-480.  
[11] Yao, X. et al., 1997, *J. Cell Biol.*, **139**(2):435-447.  
[12] Zhu, X., 1999, *Mol. Cell Biol.*, **19**:1016-1024.  
[13] Yao, X. et al., 2000, *Nature Cell Biol.*, **2**(8):484-491.  
[14] Manney, T. et al., 1998, *J. Cell Biol.*, **142**:787-801.  
[15] Starr D. A., 1998, *J. Cell Biol.*, **142**:763-774.  
[16] Yao, X., K. F. Sullivan, and D. W. Cleveland, 2000, *Cell*, **100**:1.

## Fas/FasL 的特性及其与免疫系统和肿瘤细胞的相关性

吴 乔

(厦门大学肿瘤细胞工程国家专业实验室 厦门 361005)

研究肿瘤的最大困惑之一就是为什么体内免疫系统几乎不能消灭肿瘤细胞,肿瘤细胞如何逃免疫系统的监测而生存?最新研究表明,肿瘤细胞逃免疫系统的攻击的重要机制之一就是由于存在 Fas/FasL 系统<sup>[1,2]</sup>。本文就 Fas/FasL 的特性及其与免疫系统和肿瘤细胞的相关性作一综述。

### 一、Fas/FasL 的特性

Fas(也称为 AP0 或 CD95)为细胞表面的 I 型跨膜蛋白,分子量 45KD,属于 TNF/NGF 受体超家族成员。在 Fas 的胞内区有一段含 8 个氨基酸的片段,称为“死亡区域”,是传导细胞死亡信号所必需的。Fas 基因位于人染色体 10q 24.1 和小鼠第 19 号染色体。分析淋巴细

胞增生性 1pr 鼠和普通性淋巴细胞增生 g1d 鼠的 Fas 基因表明,编码 Fas 的基因发生突变,由此引起 T 细胞堆积,导致自身免疫性疾病,如鼠淋巴细胞综合征<sup>[3]</sup>。另外,人淋巴增多综合征及系统性红斑狼疮也是由于编码 Fas 的基因突变,使 Fas 不表达或丧失功能,导致机体淋巴细胞不平衡,外周自身耐受失调<sup>[4]</sup>。

FasL(Fas 配体)为细胞表面的 II 型跨膜蛋白,分子量为 40KD,属于 TNF 家族。FasL 的氨基酸序列与 TNF 家族成员高度同源,这些同源区域被限制在 C 端,也就是与 Fas 相互作用的胞外区<sup>[5]</sup>。FasL 结构与 TNF  $\alpha$  相似,在其胞外区的两个半胱氨酸通过类似 TNF  $\alpha$  上的二硫键相联接,还有 TNF  $\alpha$ 、TNF  $\beta$  和 FasL 都是通过三聚体的形成发挥功能作用的。尽管如

此,从兔子中克隆得到的 FasL 既不能结合到 55KD 人的 TNF 受体上,也不能激活小鼠中的 TNF 受体,表明它们的信号转导途径和调节机制不同。

## 二、Fas/FasL 和免疫豁免 (immune privilege)

免疫豁免现象是指某些特定部位不发生或少发生免疫活动,故而这些部位具有“免疫豁免权”。某些肿瘤由于可以通过一些机制杀死抗肿瘤的淋巴细胞,故而亦享受“免疫豁免权”而逃逸免疫攻击。CTL (cytotoxic T lymphocyte) 和 NK (natural killer) 细胞是抗肿瘤免疫的介导者,在肿瘤细胞攻击机体时发现并消灭它们,这是由于 T 淋巴细胞在识别肿瘤细胞过程中,CTL 被激活,并在细胞表面表达 FasL,然后 FasL 与靶细胞 (如肿瘤细胞和炎症细胞) 上的 Fas 结合,诱导靶细胞凋亡。当 T 淋巴细胞完成任务后,再利用 Fas/FasL 来诱导自身的凋亡而下调免疫应答反应,这是因为在 T 细胞表面同时存在 Fas, Fas 和 FasL 相互作用激活 T 淋巴细胞的自身凋亡 (图 1, A), 此现象称为激活诱导的细胞凋亡 (activation induced cell death), 是免疫系统自我调节、维持生理平衡的一个重要机制。

一些非免疫细胞也可以利用 Fas/FasL 系统。在机体免疫豁免的一些位点,如眼腔 (eye chamber)、部分神经系统和睾丸中,任何炎症反应都被削弱<sup>[7]</sup>, 因为在这些位点上的细胞,如眼基部细胞 (stroma cells of the eye)、部分神经细胞或睾丸支持细胞表达 FasL, 当表达 Fas 的炎症细胞进入这些位点时,就会与 FasL 相互作用,诱导炎症细胞凋亡。

## 三、Fas/FasL 和免疫逃逸 (immune evasion)

几年前,人们就发现一些肿瘤细胞也表达 FasL, 但无法解释 FasL 表达的意义,最近终于

认识到 FasL 的表达正是肿瘤细胞逃逸免疫系统攻击的途径之一<sup>[8]</sup>。有许多类型的肿瘤细胞,包括淋巴瘤细胞、白血病细胞、结肠癌细胞、肝癌细胞、黑色素瘤细胞等表达 FasL, 但低水平表达或不表达 Fas, 它们自身不接受死亡信号,但释放一个死亡信号。当表达 Fas 的 T 淋巴细胞遇到肿瘤细胞时,接收到了死亡信号,结果在攻击肿瘤细胞之前,就会发生凋亡,肿瘤细胞由此避开免疫系统的攻击 (图 1, B)。例如,将黑色素瘤细胞注射到淋巴增生性 1pr 鼠中,由于 1pr 鼠的 T 淋巴细胞不表达功能性的 Fas, 对肿瘤细胞表面的 FasL 不敏感,因而 T 淋巴细胞能够行使其免疫攻击功能消灭肿瘤细胞,结果在 1pr 鼠中的肿瘤发展速度显著慢于正常鼠,因为后者的 T 淋巴细胞表达 Fas, 会与肿瘤细胞表面的 FasL 相互作用而发生凋亡<sup>[9]</sup>。那么,肿瘤细胞为什么不会由于自身也表达 Fas 而被杀死? Strand 的报道中提到,在 22 例肝癌病人中,肝癌细胞 Fas 表达水平显著下调,而在正常人的肝细胞中 Fas 表达水平很高。在结肠癌和 LGL (large granular lymphocytic) 白血病细胞中,尽管 Fas 不断表达,但在细胞内存在一种抵抗 Fas 诱导凋亡的内在机制<sup>[10]</sup>, 所以,这些肿瘤细胞不仅不会被淋巴细胞杀死,反而能够杀死淋巴细胞。

## 四、Fas/FasL 和细胞凋亡相关基因

Fas 和 FasL 表达与细胞凋亡相关基因 Bcl-2、Bax 和 p53 等密切相关。在癌细胞中, Fas 的激活与 p53 的完整性有关,因为 Fas 基因启动子的激活直接依赖于 p53 基因的转录活性。在 p53 野生型的肝癌细胞中,抗癌药物 Bleomycin 可以诱导 p53 的积累和激活细胞表面 Fas 的表达,并且随着 Fas 的激活,细胞凋亡的诱导也随之加强。然而,在 p53 突变和 p53 缺失的肝癌细胞中, Bleomycin 不能诱导 Fas 的表达,因而也就不能加强 Fas 诱导的凋亡<sup>[11]</sup>。

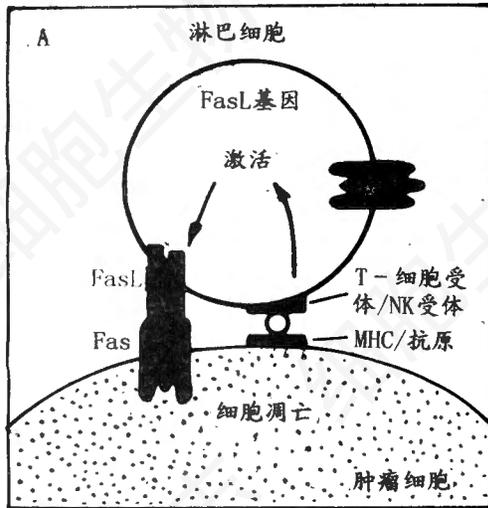
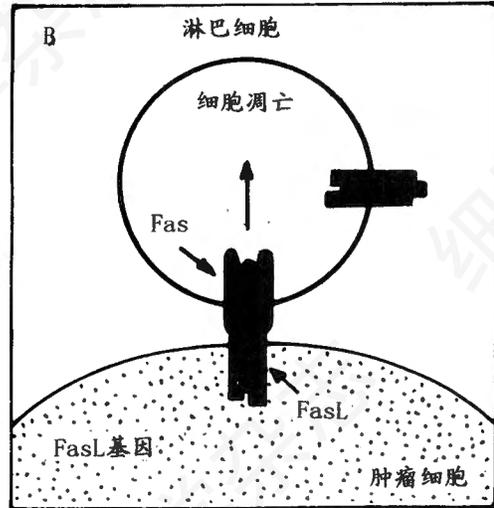


图1 A. 淋巴细胞对肿瘤细胞的攻击

Bcl-2 家族成员可以影响 p53 和 Fas/FasL 系统。在 Fas 敏感和 Fas 不敏感的前列腺癌细胞中, Bcl-2 的过度表达不会激活 Fas 的表达, Bcl-x 和 Bak 的表达水平也与 Fas 没有相关性, 而 Bax 蛋白在 Fas 不敏感和 p53 突变的细胞中不表达, 在 Fas 敏感和 p53 野生型的细胞中表达<sup>[12]</sup>, 提示在一些前列腺癌细胞中, p53 和 Bax 表达在 Fas 介导的凋亡中起着关键作用。在非恶性的上皮细胞中, Bax 高水平表达与 Fas 凋亡诱导相对应, 提示 Bax 可能是 Fas 介导凋亡的一个下游因子。

最近又发现, 一些调节蛋白与细胞对 Fas 诱导凋亡产生的抗性有关, 因为当用放线菌酮处理这些细胞时, 细胞会从 Fas 不敏感转为 Fas 敏感。ICE (interleukin-1-converting enzyme) 被认为可以通过激活核酸内切酶等重要靶子而影响凋亡过程, 因而是凋亡作用中的一个远端作用子<sup>[13]</sup>。调节蛋白 MACH 属于 ICE 蛋白酶家族的新成员, 存在几种亚类 (isoform), 其中负显性 (dominant-negative) 亚类可以阻止 Fas 介导的凋亡<sup>[14]</sup>, 因此, 癌细胞对 Fas 诱导的凋亡产生抗性可能与这类负显性调节蛋白的表达与否有关, MACH 可能在受体复合物和 ICE 相关蛋白酶之间提供一个功能性和生理性的连接<sup>[15]</sup>。



B. 肿瘤细胞对淋巴细胞的攻击(引自文献[6])

## 五、Fas 信号传导途径

Fas 信号传导途径十分复杂, 至今仍未阐明。首先死亡信号的触发必须以 Fas 和 FasL 的结合为基础。当 FasL 结合到靶细胞表面的受体 Fas 上, 就会引起受体结合成串, 然后一种结合体蛋白 (adaptor protein) 结合到成串的 Fas 分子上并补充一些未激活的 procaspase-8 分子, 后者再激活另一分子, 由此开始信号传递的级联反应 (cascade)<sup>[16]</sup>。procaspase 是一种未激活的 caspase 前体, caspase 属于蛋白酶 ced-3/ICE 家族的新成员<sup>[17]</sup>, 在其激活位点上都有半胱氨酸, 在细胞凋亡中, caspase 被激活后可以切割细胞中的特异蛋白而迅速杀死靶细胞。还有, 其他一些蛋白激酶和蛋白磷酸酶通过磷酸化、去磷酸化也可以调节 Fas 信号途径。FAST 是一种丝氨酸/苏氨酸激酶, 通过去磷酸化作用而被激活, 随后它又磷酸化核转录因子 TIA-1, 后者是核 RNA 结合蛋白, 参与凋亡信号的传导<sup>[18]</sup>。FAP-1 则是一种酪氨酸磷酸酶, Fas 激活后迅速诱导其活性, 并结合于 Fas C-末端上, 但远离 Fas 的死亡区域, 因而 FAP-1 是抑制而不是加强 Fas 介导的凋亡<sup>[19]</sup>。还有, 痘病毒蛋白 CrmA 和 bc1-2 家族成员可以在转录水平或翻译后修饰水平上通过抑制 ICE 或 ICE 样蛋

白酶阻断 Fas 介导的凋亡<sup>[19]</sup>。因此, Fas 信号传导途径受到多重调节。

## 六、Fas/FasL 与抗肿瘤药物

Fas/FasL 相互作用的结果为我们提供一条治疗肿瘤的新思路和新方向,它有可能在肿瘤细胞与淋巴细胞相互作用过程中,抑制肿瘤细胞 FasL 表达,或诱导肿瘤细胞表达 Fas 等。目前,一些抗癌药物的设计就是通过激活 Fas/FasL 途径攻击肿瘤的。如维生素 E 酯和 Doxorubicin 同时加强肿瘤细胞 Fas 和 FasL 表达,使 Fas 和 FasL 在各自细胞表面与其他肿瘤细胞相互作用,引起细胞凋亡而有效地杀死自己<sup>[20]</sup>。但是,全反式视黄酸引起细胞凋亡的途径就不同,它是抑制肿瘤表面的 FasL 表达,与 Fas 介导的死亡途径无关<sup>[21]</sup>。IFN- $\gamma$  则是通过诱导乳腺癌细胞表达 Fas 而被淋巴细胞杀死。当然,这些抗癌药物的作用具有组织和细胞特异性。可以相信,随着 Fas/FasL 作用机制的阐明,将为开发合成出更多更好的、以 Fas/FasL 为靶向的抗癌药物提供有力的依据。

## 七、小 结

综上所述,Fas/FasL 在免疫系统和肿瘤细胞中的作用途径有:

### 1. T 淋巴细胞 - T 淋巴细胞凋亡

T 淋巴细胞既表达 Fas 又表达 FasL,当它们被激活后,能够下调免疫反应,由此完成 T 细胞 - T 细胞凋亡的自杀过程。如果这个系统异常,将引起自身免疫性疾病。

### 2. T 淋巴细胞 - 靶细胞凋亡

T 淋巴细胞表达 FasL,可以诱导靶细胞表达 Fas,启动细胞凋亡,从而杀死靶细胞。这是 T 淋巴细胞杀死炎症细胞和肿瘤细胞的重要机制之一。

### 3. 靶细胞 - T 淋巴细胞凋亡

靶细胞(如肿瘤细胞)表达 FasL,通过与表达 Fas 的 T 淋巴细胞相互作用而诱导 T 淋巴细胞凋亡,这是肿瘤细胞逃逸免疫系统监测和攻击的重要机制之一。但并非所有的肿瘤细胞都表达 FasL,因此具有组织和细胞特异性。

### 4. 靶细胞 - 靶细胞凋亡

靶细胞既表达 Fas 也表达 FasL,它们通过细胞间的相互作用来诱导凋亡而完成自杀过程。但也有一些肿瘤细胞通过表达 Fas 和 FasL,驱动细胞自身对淋巴细胞 Fas/FasL 诱导的凋亡产生抗性。

## 参 考 文 献

- [ 1 ] Williams N. ,1996, *Science* ,**274**:1302 - 1304.
- [ 2 ] Toru K. et al. ,1997, *Nature Medicine* ,**3**: 409 - 413.
- [ 3 ] Motomu S. et al. ,1996, *BBRC* ,**228**:375 - 379.
- [ 4 ] Nagata S. et al. ,1995, *Immunology Today* ,**16**:39 - 43.
- [ 5 ] Takashi S. et al. ,1993, *Cell* ,**75**:1169 - 1178.
- [ 6 ] Nagata S. ,1996, *Nature Medicine* ,**2**:1306 - 1307.
- [ 7 ] Sang-Mo K. et al. ,1997, *Nature Medicine* ,**3**: 738 - 743.
- [ 8 ] Susanne S. et al. , 1996, *Nature Medicine* ,**2**: 1361 - 1366.
- [ 9 ] Hahne M. et al. ,1996, *Science* ,**274**:1363 - 1366.
- [ 10 ] Strand S. et al. ,1996, *Nature Medicine* ,**2**:1361 - 1366.
- [ 11 ] Martina M. et al. ,1997, *J. Clin. Invest.* ,**99**:403 - 413.
- [ 12 ] Oskar W. R. et al. ,1997, *Cancer Res.* ,**57**:1758 - 1768.
- [ 13 ] Duan H. et al. ,1996, *J. Biol. Chem.* ,**271**:1621 - 1625.
- [ 14 ] Boldin M. P. et al. ,1996, *Cell* ,**85**:803 - 815.
- [ 15 ] Muzio M. et al. ,1996, *Cell* ,**85**:817 - 827.
- [ 16 ] Martin R. 1998, *Nature* ,**396**:119 - 125.
- [ 17 ] Hengartner M. O. et al. ,1994, *Cell* ,**76**:665 - 676.
- [ 18 ] Tian Q. et al. ,1995, *J. Exp. Med.* **182**:865 - 874.
- [ 19 ] Sato T. et al. ,1995, *Science* ,**268**:411 - 415.
- [ 20 ] Jennifer M. T. et al. ,1997, *Cancer Res.* ,**57**:881 - 890.
- [ 21 ] Haili C. et al. ,1996, *Cell. Immuno.* ,**167**:276 - 284.

欢迎订阅《Cell Research》,邮发代号 4 - 645

编辑部联系地址:上海岳阳路 320 号 200031 e-mail:ceres@sunm.shnc.ac.cn