

综述

Fas ligand在宫颈癌形成中的作用及机制研究进展

范效东¹ 张彬洁² 华毅伟¹ 陈帅博³ 董丽³ 刘小春^{2*}

(¹山西医科大学公共卫生学院, 太原 030001; ²山西医科大学第三医院(山西白求恩医院, 山西医学科学院, 同济山西医院), 太原 030032; ³山西大学生物医学研究院, 太原 030006)

摘要 FasL(Fas ligand)是一种II型膜蛋白, 属于肿瘤坏死因子家族, 在体内参与诱导细胞凋亡, 发挥一定生理作用。同时, FasL在许多肿瘤组织中高表达, 在宫颈癌的发生发展、转移及侵袭中发挥重要作用, 其具体作用机制涉及多条信号通路, 包括参与肿瘤细胞的被动逃逸与主动攻击、维持机体炎症状态以及发出非凋亡信号促进肿瘤发生等。FasL高表达会导致不良的肿瘤预后, 降低患者生存率。由于FasL可参与肿瘤细胞免疫逃逸, 因此, 针对FasL的靶向治疗可能为肿瘤基因治疗或免疫治疗提供一个新的方向。该文对FasL在宫颈癌发生发展中的作用机制及其在治疗方面的应用加以综述, 从而为探索新的宫颈癌治疗靶点提供科学依据。

关键词 Fas ligand; 宫颈癌; 细胞凋亡; 生物学机制

Research Progress on the Role and Mechanism of Fas Ligand in Cervical Cancer Formation

FAN Xiaodong¹, ZHANG Binjie², HUA Yiwei¹, CHEN Shuaibo³, DONG Li³, LIU Xiaochun^{2*}

(¹School of Public Health, Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, China; ²Third Hospital of Shanxi Medical University, Shanxi Bethune Hospital, Shanxi Academy of Medical Sciences, Tongji Shanxi Hospital, Taiyuan 030032, China; ³Shanxi University Biomedical Research Institute, Taiyuan 030006, China)

Abstract FasL (Fas ligand) is a type II membrane protein that belongs to the tumor necrosis factor family and plays a certain physiological role in inducing apoptosis. Meanwhile, FasL is highly expressed in many tumor tissues and plays an important role in the development, metastasis and invasion of cervical cancer. The mechanism involves multiple signaling pathways, including participation in passive escape and active attack of tumor cells, maintenance of inflammation, and sending non-apoptotic signals to promote tumorigenesis. High FasL expression is associated with a poor tumor prognosis and a lower survival rate. Since FasL can be involved in tumor cell immune escape, targeted therapy against FasL may provide a new direction for cancer gene therapy or immunotherapy. This paper review the mechanism of FasL in cervical carcinogenesis and its application in the treatment of cervical can-

收稿日期: 2023-01-09 接受日期: 2023-03-16

国家自然科学基金(批准号: 81971365、82273718)、山西省重点研发计划(国际科技合作)(批准号: 201903D421060)、山西省回国留学人员科研教研资助项目(批准号: HGKY2019095)、山西省留学人员科技活动项目择优资助(重点项目)(批准号: 20200007)和山西省回国留学人员科研项目(批准号: 2021-020)资助的课题

*通讯作者。Tel: 13934226668, E-mail: tyxchliu@163.com

Received: January 19, 2023 Accepted: March 16, 2023

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.81971365, 82273718), the Key Research and Development Program of Shanxi Province (International Scientific and Technological Cooperation) (Grant No.201903D421060), the Research Project Supported by Shanxi Scholarship Council of China (Grant No.HGKY2019095), the Fund Program for the Scientific Activities of Selected Returned Overseas Professionals in Shanxi Province (Grant No.20200007), and the Research Project for Returned Overseas Professionals in Shanxi Province (Grant No.2021-020)

*Corresponding author. Tel: +86-13934226668, E-mail: tyxchliu@163.com

cer, so as to provide a scientific basis for exploring new therapeutic targets for cervical cancer.

Keywords Fas ligand; cervical cancer; cell apoptosis; biological mechanism

宫颈癌是最常见的妇科恶性肿瘤之一,在发展中国家尤为多见,且近年来其发病呈年轻化趋势,严重损害了女性健康^[1]。目前认为,增殖和凋亡之间的平衡失调是宫颈癌发生的重要病因之一。凋亡配体FasL(Fas ligand)可通过与其细胞表面受体Fas结合,诱导细胞凋亡,从而杀伤异常细胞,而异常细胞也可利用Fas系统攻击机体免疫细胞而逃避免疫监视。本文将对FasL在宫颈癌变中的作用与机制及其在治疗中的应用等进行综述,旨在阐明FasL在宫颈癌形成中的作用机制以及为其临床转化和拓展应用提供科学依据。

1 FasL的生物学特点

FasL是一种40 kDa的II型膜蛋白^[2],属于肿瘤坏死因子家族,又名CD95L或TNFSF6。FasL基因定位于人1号染色体长臂2区3带,包含3个内含子和4个外显子,基因长度约8.0 Kb^[3]。FasL胞外区包含配体二聚体和受体结合区[TNF同源结构域(TNF homology domain, THD)],而FasL胞内区则参与多种信号通路,尤其是在T细胞激活过程中作为T细胞受体共刺激分子存在时^[4]。

FasL在组织中有三种存在形式,分别为膜结合性FasL(membrane FasL, mFasL)、可溶性FasL(soluble FasL, sFasL)和微管相关性FasL(vFasL),在体内主要以膜结合形式(mFasL)存在^[5]。FasL在活化的T细胞、NK细胞以及豁免区如眼睛前房、睾丸滋养细胞表面等中表达^[6]。FasL与其受体Fas可通过FADD(Fas-associated death domain,一种具有死亡结构域的Fas相关蛋白)触发细胞凋亡途径^[7],导致细胞凋亡,二者的相互作用调节了许多由程序性细胞死亡介导的生理和病理过程^[8]。此外,如在子宫内膜癌、浆液性卵巢癌、绒癌等肿瘤组织中也可见FasL的高表达,其通过激活多种分子途径参与疾病的形成^[9-11]。

2 FasL在宫颈癌变中的作用

2.1 FasL参与宫颈癌病变的进展

FasL在宫颈癌的发展、转移及侵袭中有重要作用。CARLA等^[12]分析了140例宫颈癌、鳞状上皮内病变和正常宫颈组织病理学样本中的FasL表达情

况,证实了FasL蛋白阳性率会随宫颈病变程度的增加而增加,其中宫颈癌患者局部组织中FasL表达量最高。王瑞娇等^[13]发现,有淋巴结转移的宫颈癌患者FasL表达率明显高于无淋巴结转移者,且所有宫颈癌转移患者皆存在FasL的高表达。FasL参与转移的机制可能是高表达FasL的肿瘤细胞通过主动表达FasL,对Fas阳性淋巴细胞进行杀伤,使转移到他处的肿瘤细胞逃脱免疫监视,同时削弱机体的免疫力,使其更具有侵袭力和转移力。另有研究也证实了FasL通过增强肿瘤细胞运动性和侵袭性来促进肿瘤的形成,具体途径为FasL刺激抗凋亡肿瘤细胞激活下游信号级联反应,其过程涉及尿激酶纤溶酶原激活剂^[14]。MERZ等^[15]通过体外和小鼠脑组织培养物中进行的三维球状体侵袭实验发现,将胶质母细胞瘤模型中的FasL基因敲除后,其迁移和侵袭能力显著降低,这验证了FasL在宫颈癌细胞的迁移和侵袭中起着重要作用。这一现象同样可见于胃癌和乳腺癌细胞中^[16-17]。这充分说明FasL过表达能够促进肿瘤细胞的迁移及浸润。

2.2 FasL可提示宫颈癌的恶性程度

FasL表达水平与宫颈癌的病理分级和患者的临床分期有关。FasL表达的阳性率可以初步反映其恶性程度。ZHOU等^[18]发现在不同临床分期的鳞状上皮细胞癌患者中,FasL蛋白阳性率随着分级的增加而增加。有学者搜集了2001年—2008年子宫手术或宫颈活检组织标本共112例,内含宫颈癌样本47例,其中Ia期5例,Ib-IIa期39例,IIb-III期3例,证实了FasL在宫颈癌组织中的阳性表达率可以反映病变的恶性程度和疾病的进展情况^[19]。另有研究通过实时荧光定量PCR和蛋白质印迹方法验证了FasL表达量增加程度与乳腺肿瘤恶性程度呈正相关^[20]。FasL在宫颈癌、乳腺癌和卵巢癌等多种肿瘤疾病中呈现高表达状态,其表达量与肿瘤的分级或患者的临床分期相关,且高表达量提示较差的临床分期。这些相关性表明FasL有望作为恶性肿瘤筛查和辅助诊断的指标。

2.3 FasL与宫颈癌预后的关系

FasL高表达不仅与较差的临床分期、病理分级、肿瘤转移和侵袭有关,而且会导致不良的肿瘤

预后, 其患者生存率较低。LIANG等^[21]在对宫颈癌患者的研究中发现, 无癌生存期和总生存时间与FasL的表达之间存在相关性, FasL表达与累积生存率呈显著负相关。同样, REIMER等^[22]对215例人类乳腺癌患者随访了54个月, 发现当肿瘤组织中FasL/*Fas* mRNA值 >1 时, 其无病生存期及总生存率显著下降, FasL高表达的患者相对生存期较短。其他多项研究也表明, FasL在多种恶性肿瘤细胞中的高表达均会影响患者的预后^[23-25], 上述研究表明FasL可作为宫颈癌患者预后指标之一。其可能机制为随着年龄的增加, 机体自我免疫调节能力减弱, 加剧了FasL蛋白的表达紊乱, 导致年龄越大的患者预后越差, 越易产生不良影响。因此, FasL的表达情况对某些肿瘤患者的预后具有一定的判定价值。

3 FasL在宫颈癌形成和进展中的作用机制

3.1 Fas/FasL系统参与肿瘤的免疫逃逸

3.1.1 Fas/FasL系统可以诱导细胞凋亡 FasL与Fas结合, 形成由Fas/FADD/procaspase-8/-10组成的死亡诱导信号复合物(death-inducing signaling complex, DISC), 诱导caspase-8/-10的活化, 继而启动细胞凋亡(图1)。其基本过程如下: ①Fas胞质区转录后修饰, 诱导其阻抑结构域脱离Fas结合磷酸酶1, 同时诱导Fas分子中的死亡结构域形成三聚体并募集到脂筏, 其死亡结构域与连接蛋白分子FADD(Fas-associated death domain)中的死亡结构域结合; ②FADD分子的另一端含有可与胱天蛋白酶原(procaspase)-8/-10相结合的死亡效应结构域, 而procaspase-8/-10中亦有, 两者通过同源蛋白结构域的相互

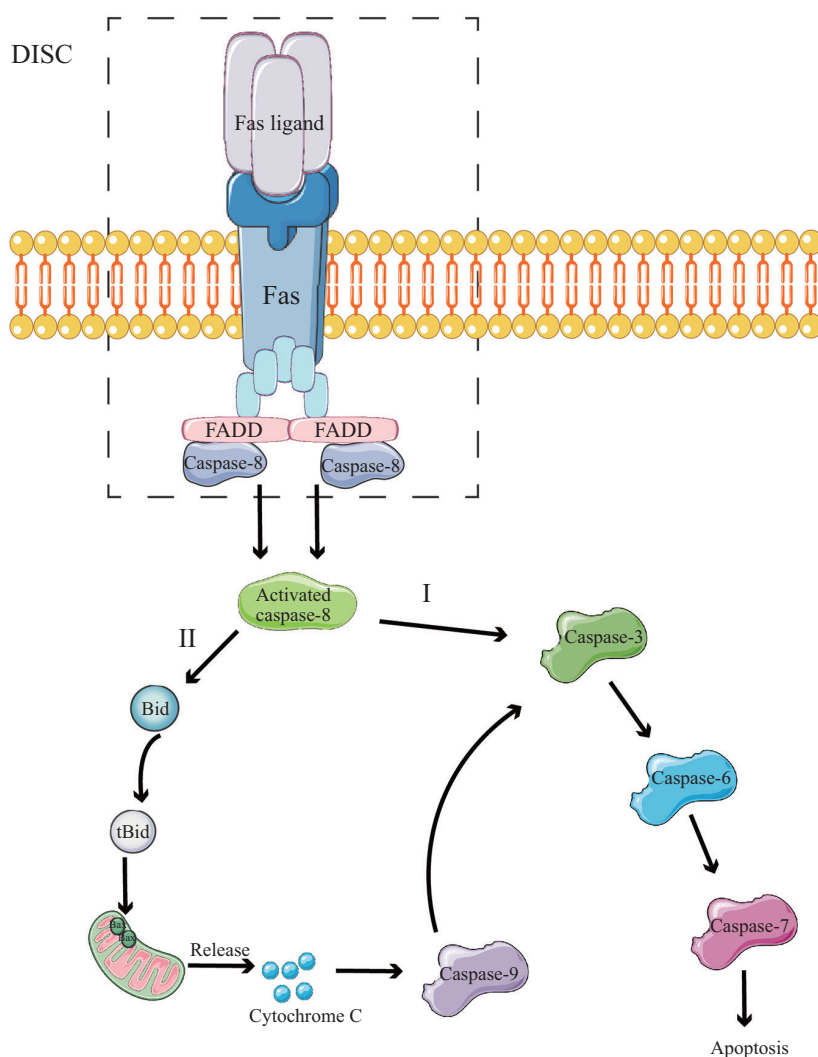


图1 Fas/FasL系统诱导细胞凋亡示意图

Fig.1 Schematic diagram of Fas/FasL system inducing cell apoptosis

作用形成死亡诱导信号复合物^[26]; ③procaspase聚集导致其自身水解、活化, 形成有活性的caspase-8/-10, 后者可次第激活其下游的procaspase-3/-6/-7; ④caspase-3是细胞凋亡信号转导中的关键效应酶, 其活化最终诱发细胞凋亡。caspase活化的DNA酶抑制剂剪接成caspase活化的DNA酶后移入核内降解染色质DNA, 进而完成细胞凋亡过程^[27]。在I型细胞中, caspase-8/-10直接活化下游的caspase-3/-6/-7从而诱导细胞凋亡; 在II型细胞中, 活化的caspase-8/-10激活Bid(Bcl-2 interacting domain)转变为tBid, 之后tBid转位到线粒体外膜并活化其上的Bax/Bak, 从而使线粒体释放细胞色素C入胞质, 继而激活内源性凋亡途径^[26]。Fas/FasL系统通过上述内外两条途径来诱导细胞凋亡。

3.1.2 肿瘤细胞表面Fas下调或缺失使其躲避机体免疫清除 许多肿瘤细胞表面失去了Fas蛋白, 导致肿瘤细胞对表达FasL的T淋巴细胞杀伤活性的敏感性降低^[23]。STRAND等^[28]在22例肝细胞癌患者中研究了Fas系统, 研究结果表明癌细胞均部分或完全失去了正常肝细胞所表达的Fas, 借此来躲避Fas介导的杀伤。这一作用机制是Fas⁺肿瘤细胞的必备属性。即使肿瘤细胞表面有Fas蛋白残留, 其通常也对Fas介导的细胞凋亡产生抵抗力^[23]。

3.1.3 影响Fas信号转导的因素 细胞表面表达FasL并不意味着其对Fas介导的细胞凋亡敏感, 这一凋亡信号是否被转导受到了很多因素的影响^[29]。一些研究表明, 抑癌基因可以影响Fas的信号转导^[30]。OWEN等^[31]研究了外源性抑癌基因P53对P53等位基因纯合缺失和含有野生型P53的人肿瘤细胞系表达Fas/APO-1的影响, 结果表明P53可诱导Fas/APO-1上调从而促进细胞凋亡, 而依赖于P53的细胞凋亡可能是肿瘤发生的关键调节因素。同时, 负调控蛋白如B细胞淋巴瘤-2(B cell lymphoma-2, Bcl-2)、Fas相关磷酸酶-1(Fas-associated phosphatase-1, FAP-1)、FADD样白介素 β 转换酶(FADD-like interleukin-1 β converting enzyme, FLICE)抑制蛋白(FLICE-inhibitory protein, FLIP)和凋亡抑制因子(inhibitor of apoptosis, IAP)等的上调, 均可影响凋亡信号的正常转导^[30,32-34]。以Bcl-2为例, Bcl-2具有很强的抗细胞凋亡作用, 在体外和体内均能抑制Fas介导的细胞凋亡。WELLER等^[35]的研究结果显示Fas⁺的胶质瘤细胞株对FasL介导的杀伤的敏感性与抗凋亡原癌基因

Bcl-2的表达呈负相关。

3.2 肿瘤细胞通过表达FasL主动攻击机体免疫系统

肿瘤细胞可以表达FasL, 主动诱导Fas⁺T淋巴细胞凋亡, 从而破坏机体的免疫功能。肿瘤细胞上的FasL消除了产生的肿瘤抗体, 减少了细胞毒性T细胞的数量, 并降低了机体对肿瘤细胞的免疫力。这一机制被称为“肿瘤反击”。对于活化的T细胞, 其表面Fas表达量增加; 因此, 当它们与表达FasL的肿瘤细胞相互作用时, 更容易被诱导凋亡^[36-37]。WHITESIDE等^[34]在共培养实验中发现, 只有当肿瘤细胞在细胞表面表达FasL时, T细胞中 α 链的显著降解和DNA的断裂才被证明。RABINOWICH等^[38]在实验研究中发现, 在FasL特异性抗体的存在下, FasL⁺肿瘤细胞在Jurkat细胞中诱导的信号分子丢失和DNA断裂都被阻止, 说明这两种事件是由FasL介导的。

3.3 Fas/FasL系统可通过维持炎症促进肿瘤发生

肿瘤与炎症相关, 持续存在的炎症可促进肿瘤的生长。Fas会诱导肿瘤细胞产生包括IL-6、MCP-1和IL-8在内的促炎细胞因子和趋化因子, 从而招募更多炎性细胞^[39-40]。SÉBASTIEN等^[41]研究发现, 慢性炎症性疾病患者表现出高水平的可溶性FasL。尽管这种可溶性FasL不能触发细胞死亡, 但它诱导了一条依赖于钙/c-yes/PI3K的信号通路, 促进T淋巴细胞跨内皮屏障的转运, 从而导致局部或全身组织损伤。KRZYZOWSKA等^[42]通过原代小胶质细胞的体外模型实验, 发现在未感染病毒的小胶质细胞培养中加入FasL可显著上调TNF- α 的表达, 表明Fas/FasL通路可调节小胶质细胞的非凋亡性炎症反应。

3.4 Fas发出的非凋亡信号可能促进肿瘤的进展

Fas发出的致瘤信号包括(但不限于)激活NF- κ B和ERK1/2、P38和JNK1/2等MAPK通路^[43]。BARNHART等^[14]研究确定, Fas至少激活了三条途径, 而在肿瘤细胞中引发了非凋亡反应: 激活caspase-8、ERK1/2和NF- κ B。这些途径调节基因表达, 可增强细胞侵袭性和运动性。他们还发现, caspase-8的活性是某些肿瘤细胞侵袭力增加所必需的, 抑制caspase-8可完全阻断Fas诱导的某些细胞的侵袭性, 而不干扰MCF7乳腺癌细胞中NF- κ B或任何MAPK通路的激活。虽然不能完全排除caspase-8在基因诱导中的作用, 但分析表明, caspase-8作用于基因诱导的下游, 可能参与肿瘤细胞的迁移。

4 FasL在宫颈癌治疗中的应用前景

鉴于肿瘤细胞过表达FasL从而逃避机体免疫监视的作用机制,因此靶向FasL可能是发展肿瘤基因治疗或免疫治疗的一个有前景的策略。

4.1 FasL的癌症疫苗

近年来有研究团队提出了以癌症疫苗的形式抑制Fas/FasL复合物以及进行免疫治疗的方法。这种癌症疫苗以蛋白质或其片段的形式包裹癌抗原,或以编码该蛋白质的RNA或DNA来刺激免疫系统对抗癌抗原^[44]。此外,MING等^[45]建立了由GM-CSF、FasL以及两基因共同转导的肺癌细胞模型,经过体内测试发现,后两组小鼠中均无肿瘤发生。该研究表明,FasL和GM-CSF双基因转染可能是一种更有效的抑制肺癌细胞生长的肿瘤疫苗。这些结果表明研发靶向FasL的癌症疫苗具有良好的发展前景,但其具体作用机制仍需进一步研究。

4.2 FasL的重组蛋白

4.2.1 FasL的融合蛋白 近年来,有关FasL融合蛋白的研究极为广泛,包括CTLA4-FasL、hcc49scFv-FasL、ScFvRit:sFasL、CD40 FasL、RGD-FasL、Fc:FasL融合体等。开发FasL融合蛋白可以更好地诱导FasL寡聚化,从而实现Fas的肿瘤局部激活以及将sFasL人工固定到肿瘤区域^[46]。有研究发现,CTLA4-FasL能够诱导B细胞系恶性细胞凋亡,同时保留非恶性细胞;并且通过在小鼠和非人类灵长类动物体内使用不同剂量重复给药后,发现其具有良好的耐受性^[47-48]。另外几项研究报道了hcc49scFv-FasL、ScFvRit:sFasL、CD40 FasL等融合蛋白对恶性B细胞系、口腔鳞状细胞癌等的作用,并发现ScFvRit:sFasL的促凋亡活性要优于与利妥昔单抗和Fas激动剂共同治疗时的效果;CD40 FasL和CTLA4-FasL的效应都比其各自组成部分更强^[49-51]。这表明这些融合蛋白或可成为用于靶向和特异性肿瘤细胞杀伤的药物,具有一定的发展前景。

4.2.2 FasL前药 若靶向抗原不仅在肿瘤区域内表达,或者细胞表面的靶向结构域具有聚集倾向导致其不能与相应融合蛋白结合,从而引起非特异性激活,则需要构建具有选择性和肿瘤特异性的FasL前药给予治疗。有相关研究表明,FasL前药在与细胞表面癌抗原结合并由肿瘤特异性蛋白酶进行蛋白水解处理后,Fas会被肿瘤局部激活^[52]。KASSAHN等^[53]发现FasL前药无任何非特异性毒性,仅在表达

肿瘤抗原和激活前药的蛋白酶的肿瘤细胞上被激活。通过单链抗体特异性地将FasL靶向至肿瘤细胞,此时FasL被其同源受体Fas中和并灭活,若在发现肿瘤细胞生长并达到蛋白酶敏感位点时将其释放,就能使其在肿瘤细胞上激活。WATERMANN等^[54]通过基因工程产生了FasL的蛋白质前药,证实了该前药满足靶向限制性抗肿瘤作用的基本标准,且没有显示具有任何急性全身毒性。但是肿瘤抗原、蛋白酶和FasL的表达水平以及肿瘤细胞是否对FasL的表达敏感等问题都将限制前药在治疗时的活性。因此,基于FasL的前药可能需要进一步的研究与完善。

4.3 FasL基因治疗

4.3.1 腺病毒递送 FasL基因治疗最流行的方法之一是腺病毒递送FasL转基因,其治疗癌症的潜力在十多年前就已经得到证实。ZHENG等^[55]将FasL基因用腺病毒包装后转染人胃癌细胞(SGC-7901细胞),将转染后的细胞接种到小鼠的背部皮下组织,结果出现致瘤性下降的现象;GOPALAN等^[56]发现黑色素瘤分化相关基因-7(melanoma differentiation associated gene-7,MDA-7)通过转录因子刺激FasL基因的转录,用抗FasL抗体NOK-1对其进行阻断,结果发现人卵巢癌细胞增殖被抑制。已有研究证明,FasL向小鼠前列腺肿瘤的特异性腺病毒递送可有效抑制肿瘤生长且无细胞毒性^[57]。这一方法同样在膀胱癌、结肠癌和肾癌等多种不同类型癌症中得到证实^[58]。上述研究结果表明,靶向FasL基因治疗能够获得高临床疗效,显著抑制体内癌细胞生长,同时保持高安全性和耐受性标准。

4.3.2 FasL工程细胞递送 2022年最新一项研究报告了用FasL基因改造的小鼠工程化过继性T细胞来治疗卵巢癌的小鼠模型,发现T细胞增殖加强、存活时间延长^[59]。HO等^[60]利用FasL-HSV-1转导来治疗小鼠胶质瘤模型,发现与直接接种病毒载体相比,该疗法有更好的生存结果,且在体内无细胞毒性。SYMES等^[61]通过对前列腺癌细胞的研究,也证实了逆转录病毒转导的表达FasL的鼠T淋巴细胞对癌细胞具有有效杀伤力。近年来有研究团队提出了用嵌合抗原受体(chimeric antigen receptor,CAR)转导的T细胞的过继转移来治疗B细胞恶性肿瘤。嵌合抗原受体T细胞(chimeric antigen receptor T cell,CAR-T)通过上调FasL,导致其程序性细胞死亡,并且与抗原介导的T细胞抗原受体(T cell receptor,TCR)或CAR

激活无关。这强调了FasL在CAR-T细胞诱导的凋亡中的重要作用。总之,这些观察结果为FasL在癌症免疫治疗领域的应用提供了新的研究思路^[62]。

4.4 化疗药物诱导Fas/FasL信号

有学者发现,目前应用最广泛的抗癌药物阿霉素诱导的细胞凋亡是由FasL的表达所介导的^[63]。顺铂、依托泊苷、5-氟尿嘧啶和甲氨蝶呤等其他几种细胞毒性药物均显示出上调癌细胞中FasL的能力^[64-65]。另外,有研究还证实了FasL和多种抗癌药的联合应用具有潜在的克服肿瘤耐药性的能力。如BRANDS等^[66]通过FasL和SMAC模拟物联合治疗头颈部鳞状细胞癌,结果发现其细胞株的凋亡敏感性增加,从而增强治疗效果。LIU等^[67]发现FasL与阿霉素联合用药治疗肝细胞癌能够显著增强抗肿瘤反应。顺铂和盐霉素的联合用药使胃癌细胞中的FasL表达水平增高,可诱导人胃癌细胞的凋亡^[68]。这些研究结果提示,FasL与其他化疗药物联合治疗可能是提高恶性肿瘤化疗疗效的新途径。

4.5 选择性阻断FasL作为新的潜在治疗靶点

APG101(Asunercept)选择性阻断FasL是目前最有前景的一种肿瘤治疗方法,已进入临床试验阶段。一项针对复发恶性胶质瘤患者的II期临床试验表明,APG101对FasL的选择性阻断可以抑制FasL介导的胶质瘤细胞在体内外的侵袭^[69-70]。APG101结合聚焦放疗(radiation therapy, RT)可抑制肿瘤生长、降低基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMP)活性并延长荷瘤小鼠的生存时间。另外,WICK等^[71]也发现,APG101与放疗联合使用疗效更佳。类似的选择性阻断FasL信号的方法已在其他研究进行了测试,如在骨髓增生异常综合征(myelodysplastic syndrome, MDS)中,APG101通过抑制FasL活性保留了红细胞的分化能力,减少了红细胞前体的凋亡,使MDS患者的输血需求减少^[72-73]。近年来,越来越多的证据表明,FasL在肿瘤细胞发生发展中具有不可忽视的作用,这使其成为一个重要的免疫检查点。因此通过选择性抑制靶向FasL途径,以及与传统干预措施(如RT、化疗和其他免疫检查点抑制剂)的联合使用,为肿瘤治疗提供了一种具有发展前景的治疗方法。

5 展望

FasL作为一种II型膜蛋白,属于肿瘤坏死因子

家族,在肿瘤的发生、发展、转移及侵袭过程中通过参与诱导细胞凋亡发挥重要作用,其在宫颈癌发生发展过程中的作用机制主要有:(1) Fas/FasL系统可通过诱导细胞凋亡及下调肿瘤细胞表面Fas的表达或Fas的缺失来参与肿瘤细胞的免疫逃逸;(2) 肿瘤细胞可通过表达FasL主动攻击机体免疫系统;(3) Fas/FasL系统可通过维持机体炎症状态从而促进肿瘤细胞生长等。其具体作用机制涉及多条信号通路,包括参与肿瘤细胞的被动逃逸与主动攻击、维持炎症以及发出非凋亡信号促进肿瘤发生等,但在许多方面的机制尚不明确,如FasL参与调控肿瘤微环境变化、FasL影响外泌体功能的作用机制等。我们仍需在细胞水平、动物模型以及临床相关研究中深入推进这些机制,完善FasL肿瘤调控机制的理论体系。

由于FasL在肿瘤细胞表面高表达的特性,其有望成为预测恶性肿瘤患者预后的标记物,亦可广泛应用于恶性肿瘤的预防、监测、诊断和治疗中。现有研究提示,FasL的分布与表达量可作为辅助指标整合到临床诊断中,但其在肿瘤诊断的可靠性及检测的灵敏性仍需要进一步探索和验证。鉴于肿瘤细胞过表达FasL从而逃避机体免疫监视的作用机制,通过研究以FasL为靶点的基因治疗或免疫治疗,如癌症疫苗、融合蛋白和FasL前药、FasL腺病毒递送和工程细胞递送、化疗药物联合用药等,为恶性肿瘤的治疗提供了新的思路。其中APG101选择性阻断FasL是目前最有前景的一种方法。然而此方法在临床治疗应用转化方面仍处于探索阶段,还需通过大规模的人群研究和机制的技术研究来支持并验证其可靠性。

总之,FasL在宫颈癌的形成中发挥着重要作用,其在宫颈癌的辅助诊断、基因/免疫治疗、预后预测等方面有较大的开发潜能,深入了解分析其相关作用机制是该领域应用转化的重点和难点,尚需更多的机制研究予以探讨和验证,这对于今后研究不同类型肿瘤的发生发展、治疗以及预后都有着重要价值。随着人们对FasL认识的逐渐深入,以其为靶向的肿瘤病因学与治疗学研究将具有更加广阔的应用前景。

参考文献 (References)

- [1] BRAY F, FERLAY J, SOERJOMATARAM I, et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortal-

- ity worldwide for 36 cancers in 185 countries [J]. *CA Cancer J Clin*, 2018, 68(6): 394-424.
- [2] SUDA T, TAKAHASHI T, GOLSTEIN P, et al. Molecular cloning and expression of the Fas ligand, a novel member of the tumor necrosis factor family [J]. *Cell*, 1993, 75(6): 1169-78.
 - [3] TAKAHASHI T, TANAKA M, INAZAWA J, et al. Human Fas ligand: gene structure, chromosomal location and species specificity [J]. *Int Immunol*, 1994, 6(10): 1567-74.
 - [4] ZHU J, PETIT P F, VAN DEN EYNDE B J. Apoptosis of tumor-infiltrating T lymphocytes: a new immune checkpoint mechanism [J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2019, 68(5): 835-47.
 - [5] YONEHARA S, ISHII A, YONEHARA M. A cell-killing monoclonal antibody (anti-Fas) to a cell surface antigen co-downregulated with the receptor of tumor necrosis factor [J]. *J Exp Med*, 1989, 169(5): 1747-56.
 - [6] YAMADA A, ARAKAKI R, SAITO M, et al. Dual role of Fas/FasL-mediated signal in peripheral immune tolerance [J]. *Front Immunol*, 2017, 8: 403.
 - [7] STRASSER A, JOST P J, NAGATA S. The many roles of FAS receptor signaling in the immune system [J]. *Immunity*, 2009, 30(2): 180-92.
 - [8] NAGATA S. Fas ligand-induced apoptosis [J]. *Annu Rev Genet*, 1999, 33: 29-55.
 - [9] 王彦秋, 郑爱华, 段丽艳. 子宫内膜癌中FasL和Ki67的表达及临床意义[J]. *现代肿瘤医学*(WANG Y Q, JIA A H, DUAN L Y. Expression of FasL and Ki67 in endometrial carcinoma and its clinical significance [J]. *Journal of Modern Oncology*), 2019, 27(11): 1979-83.
 - [10] 马莉, 康石清, 苗莉, 等. 凋亡相关基因Bax、FasL、c-FLIP在浆液性卵巢癌中的表达[J]. *现代肿瘤医学*(MA L, KANG S Q, MIAO L, et al. Expression of apoptosis related gene Bax, FasL, c-FLIP in serous ovarian carcinoma [J]. *Journal of Modern Oncology*), 2015, 23(7): 904-7.
 - [11] 肖发菊, 黄爱华. Fas及FasL在滋养细胞、葡萄胎及绒癌中的表达[J]. *现代仪器与医疗*(XIAO F J, HUANG A H. Expression of Fas and FasL in trophoblast, mole and choriocarcinoma [J]. *Modern Instruments & Medical Treatment*), 2016, 22(3): 97-8,101.
 - [12] CONTRERAS-OCCHOA C O, BAHENA-ROMAN M, LOPEZ-DIAZ L Y, et al. Fas and Fas ligand are highly expressed in lymphocytes from cervical intraepithelial neoplasia and cervical cancer patients: a possible role for immune escaping [J]. *Iran J Basic Med Sci*, 2022, 25(3): 383-9.
 - [13] 王瑞姣, 秦玲, 李慧. Fas-L在宫颈癌中的表达及其临床意义[J]. *中外医疗*(WANG R J, QIN L, LI H. Immunohistochemical analysis of Fas-L protein in carcinogenesis [J]. *China Foreign Medical Treatment*), 2010, 29(15): 4-5,7.
 - [14] BARNHART B C, LEGEMBRE P, PIETRAS E, et al. CD95 ligand induces motility and invasiveness of apoptosis-resistant tumor cells [J]. *EMBO J*, 2004, 23(15): 3175-85.
 - [15] MERZ C, STRECKER A, SYKORA J, et al. Neutralization of the CD95 ligand by APG101 inhibits invasion of glioma cells *in vitro* [J]. *Anticancer Drugs*, 2015, 26(7): 716-27.
 - [16] LI Y, XU D F, JIANG D, et al. Significance of Fas and FasL protein expression in cardiac carcinoma and local lymph node tissues [J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2015, 8(9): 11915-20.
 - [17] KOLBEN T, JESCHKE U, REIMER T, et al. Induction of apoptosis in breast cancer cells *in vitro* by Fas ligand reverse signaling [J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2018, 144(2): 249-56.
 - [18] ZHOU J H, CHEN H Z, YE F, et al. Fas-mediated pathway and apoptosis in normal cervix, cervical intraepithelial neoplasia and cervical squamous cancer [J]. *Oncol Rep*, 2006, 16(2): 307-11.
 - [19] WU S F, ZHANG J W, QIAN W Y, et al. Altered expression of survivin, Fas and FasL contributed to cervical cancer development and metastasis [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2012, 16(15): 2044-50.
 - [20] MUSCHEN M, MOERS C, WARSKULAT U, et al. CD95 ligand expression in dedifferentiated breast cancer [J]. *J Pathol*, 1999, 189(3): 378-86.
 - [21] LIANG S N, HUANG Y J, LIU L L, et al. Study on the correlation between the expression of Ki67 and FasL and prognosis of cervical carcinoma [J]. *Genet Mol Res*, 2015, 14(3): 8634-9.
 - [22] REIMER T, KOCZAN D, MILLER H, et al. Tumour Fas ligand: Fas ratio greater than 1 is an independent marker of relative resistance to tamoxifen therapy in hormone receptor positive breast cancer [J]. *Breast Cancer Res*, 2002, 4(5): R9.
 - [23] ANGGRAENI T D, RUSTAMADJI P, AZIZ M F. Fas ligand (FasL) in association with tumor-infiltrating lymphocytes (TILs) in early stage cervical cancer [J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2020, 21(3): 831-5.
 - [24] BEN BAHRIA-SEDIKI I, CHEBIL M, SAMPAIO C, et al. Prognostic value of soluble death receptor ligands in patients with transitional cell carcinoma of bladder [J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2018, 19(4): 476-84.
 - [25] PETERLE G T, SANTOS M, MENDES S O, et al. FAS ligand expression in inflammatory infiltrate lymphoid cells as a prognostic marker in oral squamous cell carcinoma [J]. *Genet Mol Res*, 2015, 14(3): 11145-53.
 - [26] GU GAN J P, GINESTIER C, CHARAFE-JAUFFRET E, et al. CD95/Fas and metastatic disease: what does not kill you makes you stronger [J]. *Semin Cancer Biol*, 2020, 30: 121-31.
 - [27] GOLSTEIN P, GRIFFITHS G M. An early history of T cell-mediated cytotoxicity [J]. *Nat Rev Immunol*, 2018, 18(8): 527-35.
 - [28] STRAND S, HOFMANN W J, HUG H, et al. Lymphocyte apoptosis induced by CD95 (APO-1/Fas) ligand-expressing tumor cells: a mechanism of immune evasion [J]? *Nat Med*, 1996, 2(12): 1361-6.
 - [29] O'CONNELL J, O'SULLIVAN G C, COLLINS J K, et al. The Fas counterattack: Fas-mediated T cell killing by colon cancer cells expressing Fas ligand [J]. *J Exp Med*, 1996, 184(3): 1075-82.
 - [30] O'CONNELL J, BENNETT M W, O'SULLIVAN G C, et al. The Fas counterattack: a molecular mechanism of tumor immune privilege [J]. *Mol Med*, 1997, 3(5): 294-300.
 - [31] OWEN-SCHAUB L B, ZHANG W, CUSACK J C, et al. Wild-type human p53 and a temperature-sensitive mutant induce Fas/APO-1 expression [J]. *Mol Cell Biol*, 1995, 15(6): 3032-40.
 - [32] HU S, VINCENZ C, NI J, et al. I-FLICE, a novel inhibitor of tumor necrosis factor receptor-1- and CD-95-induced apoptosis [J]. *J Biol Chem*, 1997, 272(28): 17255-7.
 - [33] IRMLER M, THOME M, HAHNE M, et al. Inhibition of death receptor signals by cellular FLIP [J]. *Nature*, 1997, 388(6638): 190-5.

- [34] WHITESIDE T L, RABINOWICH H. The role of Fas/FasL in immunosuppression induced by human tumors [J]. *Cancer Immunol Immunother*, 1998, 46(4): 175-84.
- [35] WELLER M, MALIPIERO U, AGUZZI A, et al. Protooncogene Bcl-2 gene transfer abrogates Fas/APO-1 antibody-mediated apoptosis of human malignant glioma cells and confers resistance to chemotherapeutic drugs and therapeutic irradiation [J]. *J Clin Invest*, 1995, 95(6): 2633-43.
- [36] CONTRERAS-OCCHOA C O, BAHENA-ROM N M, L PEZ-D AZ L Y, et al. Fas and Fas ligand are highly expressed in lymphocytes from cervical intraepithelial neoplasia and cervical cancer patients: a possible role for immune escaping [J]. *Iran J Basic Med Sci*, 2022, 25(3): 383-9.
- [37] 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): 1065-77.
- [38] RABINOWICH H, REICHERT T E, KASHII Y, et al. Lymphocyte apoptosis induced by Fas ligand-expressing ovarian carcinoma cells. Implications for altered expression of T cell receptor in tumor-associated lymphocytes [J]. *J Clin Invest*, 1998, 101(11): 2579-88.
- [39] CHOI C, BENVENISTE E N. Fas ligand/Fas system in the brain: regulator of immune and apoptotic responses [J]. *Brain Res Brain Res Rev*, 2004, 44(1): 65-81.
- [40] PETER M E, BUDD R C, DESBARATS J, et al. The CD95 receptor: apoptosis revisited [J]. *Cell*, 2007, 129(3): 447-50.
- [41] TAUZIN S, CHAIGNE-DELALANDE B, SELVA E, et al. Correction: the naturally processed CD95L elicits a c-Yes/Calcium/PI3K-driven cell migration pathway [J]. *PLoS Biol*, 2019, 17(10): e3000521.
- [42] KRZYZOWSKA M, KOWALCZYK A, SKULSKA K, et al. Fas/FasL contributes to HSV-1 brain infection and neuroinflammation [J]. *Front Immunol*, 2021, 12: 714821.
- [43] GU GAN J P, LEGEMBRE P. Nonapoptotic functions of Fas/CD95 in the immune response [J]. *FEBS J*, 2018, 285(5): 809-27.
- [44] RISSO V, LAFONT E, LE GALLO M. Therapeutic approaches targeting CD95L/CD95 signaling in cancer and autoimmune diseases [J]. *Cell Death Dis*, 2022, 13(3): 248.
- [45] HO M Y, SUN G H, LEU S J, et al. Combination of FasL and GM-CSF confers synergistic antitumor immunity in an *in vivo* model of the murine Lewis lung carcinoma [J]. *Int J Cancer*, 2008, 123(1): 123-33.
- [46] SCHNEIDER P, HOLLER N, BODMER J L, et al. Conversion of membrane-bound Fas (CD95) ligand to its soluble form is associated with downregulation of its proapoptotic activity and loss of liver toxicity [J]. *J Exp Med*, 1998, 187(8): 1205-13.
- [47] MAKDASI E, AMSILI S, ARONIN A, et al. Toxicology and pharmacokinetic studies in mice and nonhuman primates of the nontoxic, efficient, targeted hexameric FasL: CTLA4-FasL [J]. *Mol Cancer Ther*, 2020, 19(2): 513-24.
- [48] ARONIN A, AMSILI S, PRIGOZHINA T B, et al. Highly efficient, *in-vivo* Fas-mediated apoptosis of B-cell lymphoma by hexameric CTLA4-FasL [J]. *J Hematol Oncol*, 2014, 7: 64.
- [49] CHIEN M H, CHANG W M, LEE W J, et al. A Fas ligand (FasL)-fused humanized antibody against tumor-associated glycoprotein 72 selectively exhibits the cytotoxic effect against oral cancer cells with a low FasL/Fas ratio [J]. *Mol Cancer Ther*, 2017, 16(6): 1102-13.
- [50] BREMER E, TEN CATE B, SAMPLONIUS D F, et al. Superior activity of fusion protein scFvRit:sFasL over cotreatment with rituximab and Fas agonists [J]. *Cancer Res*, 2008, 68(2): 597-604.
- [51] ORBACH A, RACHMILEWITZ J, SHANI N, et al. CD40.FasL and CTLA-4.FasL fusion proteins induce apoptosis in malignant cell lines by dual signaling [J]. *Am J Pathol*, 2010, 177(6): 3159-68.
- [52] WAJANT H, GERSPACH J, PFIZENMAIER K. Engineering death receptor ligands for cancer therapy [J]. *Cancer Lett*, 2013, 332(2): 163-74.
- [53] KASSAHN D, NACHBUR U, BRUNNER T. CD95L pro-drug: a novel Swiss Army Knife in cancer therapy [J]? *Cell Death Differ*, 2007, 14(3): 393-4.
- [54] WATERMANN I, GERSPACH J, LEHNE M, et al. Activation of CD95L fusion protein prodrugs by tumor-associated proteases [J]. *Cell Death Differ*, 2007, 14(4): 765-74.
- [55] ZHENG S Y, LI D C, ZHANG Z D, et al. Adenovirus-mediated FasL gene transfer into human gastric carcinoma [J]. *World J Gastroenterol*, 2005, 11(22): 3446-50.
- [56] GOPALAN B, LITVAK A, SHARMA S, et al. Activation of the Fas-FasL signaling pathway by MDA-7/IL-24 kills human ovarian cancer cells [J]. *Cancer Res*, 2005, 65(8): 3017-24.
- [57] LI X, LIU Y H, ZHANG Y P, et al. Fas ligand delivery by a prostate-restricted replicative adenovirus enhances safety and antitumor efficacy [J]. *Clin Cancer Res*, 2007, 13(18 Pt 1): 5463-73.
- [58] LINKERMANN A, QIAN J, LETTAU M, et al. Considering Fas ligand as a target for therapy [J]. *Expert Opin Ther Targets*, 2005, 9(1): 119-34.
- [59] ANDERSON K G, ODA S K, BATES B M, et al. Engineering adoptive T cell therapy to co-opt Fas ligand-mediated death signaling in ovarian cancer enhances therapeutic efficacy [J]. *J Immunother Cancer*, 2022, 10(3): e003959.
- [60] HO I A, NG W H, LAM P Y. FasL and FADD delivery by a glioma-specific and cell cycle-dependent HSV-1 amplicon virus enhanced apoptosis in primary human brain tumors [J]. *Mol Cancer*, 2010, 9: 270.
- [61] SYMES J C, SIATSKAS C, FOWLER D H, et al. Retrovirally transduced murine T lymphocytes expressing FasL mediate effective killing of prostate cancer cells [J]. *Cancer Gene Ther*, 2009, 16(5): 439-52.
- [62] TSCHUMI B O, DUMAUTHIOZ N, MARTI B, et al. CART cells are prone to Fas- and DR5-mediated cell death [J]. *J Immunother Cancer*, 2018, 6(1): 71.
- [63] FRIESEN C, HERR I, KRAMMER P H, et al. Involvement of the CD95 (APO-1/FAS) receptor/ligand system in drug-induced apoptosis in leukemia cells [J]. *Nat Med*, 1996, 2(5): 574-7.
- [64] THAPA B, KC R, ULUDAĞ H. TRAIL therapy and prospective developments for cancer treatment [J]. *J Control Release*, 2020, 326: 335-49.
- [65] FRIESEN C, FULDA S, DEBATIN K M. Cytotoxic drugs and the CD95 pathway [J]. *Leukemia*, 1999, 13(11): 1854-8.
- [66] BRANDS R C, SCHEURER M J J, HARTMANN S, et al. Apoptosis-sensitizing activity of birinapant in head and neck squamous

- cell carcinoma cell lines [J]. *Oncol Lett*, 2018, 15(3): 4010-6.
- [67] LIU Z, LIU R, QIU J, et al. Combination of human Fas (CD95/Apo-1) ligand with adriamycin significantly enhances the efficacy of antitumor response [J]. *Cell Mol Immunol*, 2009, 6(3): 167-74.
- [68] ZHANG Z, ZHAO J, PANG Q, et al. An *in vitro* study on the effects of the combination of salinomycin with cisplatin on human gastric cancer cells [J]. *Mol Med Rep*, 2017, 16(2): 1031-8.
- [69] BLAES J, THOME C M, PFENNING P N, et al. Inhibition of CD95/CD95L (FAS/FASLG) signaling with APG101 prevents invasion and enhances radiation therapy for glioblastoma [J]. *Mol Cancer Res*, 2018, 16(5): 767-76.
- [70] KRENDYUKOV A, GIEFFERS C. Asunercept as an innovative therapeutic approach for recurrent glioblastoma and other malignancies [J]. *Cancer Manag Res*, 2019, 11: 8095-100.
- [71] WICK W, FRICKE H, JUNGE K, et al. A phase II, randomized, study of weekly APG101+reirradiation versus reirradiation in progressive glioblastoma [J]. *Clin Cancer Res*, 2014, 20(24): 6304-13.
- [72] RAIMBAULT A, PIERRE-EUGENE C, ROUQUETTE A, et al. APG101 efficiently rescues erythropoiesis in lower risk myelodysplastic syndromes with severe impairment of hematopoiesis [J]. *Oncotarget*, 2016, 7(12): 14898-911.
- [73] BOCH T, LUFT T, METZGEROTH G, et al. Safety and efficacy of the CD95-ligand inhibitor asunercept in transfusion-dependent patients with low and intermediate risk MDS [J]. *Leuk Res*, 2018, 68: 62-9.