

膀胱癌患者尿中可溶性 Fas 和可溶性 FasL 表达水平的意义

谢庆祥¹, 张阳根², 韩聪祥¹, 徐忠义², 黄宏伟¹, 李金雨¹, 林吓聪¹

Clinical Value of Urine Soluble Fas and Soluble FasL in Bladder Cancer

XIE Qin-guang¹, ZHANG Yan-gen², HAN Cong-xiang¹, XU Zhong-yi², HUANG Hong-wei¹, LI Jin-yu¹, LIN Xia-cong¹

1. Department of Urology, The 175th Hospital of PLA, Zhangzhou 363000, China; 2. Department of Clinical Laboratory

Abstract: Objective To examine the level of soluble Fas (sFas) and soluble FasL (sFasL) in urine of patients with bladder cancer and investigate their clinical value. **Methods** Enzyme-linked immunosorbent assays (ELISA) was available to detect the level of Fas and FasL in urine of 43 patients with bladder cancer and 12 cases of normal control. **Results** The urine level of Fas and FasL in bladder cancer were significantly higher than those in normal control, respectively. Level of Fas was positive association with tumor stage and grade, while level of FasL was positive association with tumor stage only. Level of Fas and FasL were significantly decreased after operation. The level of Fas was higher in recurrent patients after operation than that in non-recurrent patients. **Conclusion** sFas and FasL play important roles in development and progression of bladder cancer. They may serve as markers for biological behavior of bladder cancer.

Keywords: Bladder neoplasms; Soluble Fas; Soluble FasL; Apoptosis

摘要:目的 探讨可溶性 Fas (sFas) 和可溶性 FasL (sFasL) 在膀胱癌病人尿中的表达及其临床意义。方法 应用双抗体夹心 ELISA 法检测 43 例膀胱癌病人术前、术后和 12 例正常人尿中 sFas 和 sFasL 的表达水平。结果 膀胱癌病人尿 sFas 和 sFasL 水平均高于正常对照组, sFas 与肿瘤临床分期、病理分级正相关, sFasL 仅与肿瘤临床分期正相关。肿瘤切除术后 sFas 和 sFasL 水平均降低, 而且复发者术后 sFas 水平显著高于无复发者。结论 sFas 和 sFasL 参与膀胱癌的发生、发展, 在一定程度上可以反映膀胱癌生物学行为。

关键词: 膀胱肿瘤; 可溶性 Fas; 可溶性 FasL; 细胞凋亡

中图分类号: R737.14 文献标识码: A 文章编号: 1000-8578(2004)05-0252-03

0 引言

近年来, 随着细胞凋亡调控机制研究的深入, 肿瘤免疫逃避机制在恶性肿瘤发生发展过程中的重要作用为人们所接受, 其中 Fas 和 FasL 系统的作用更受重视^[1,2]。可溶性 Fas (sFas) 和可溶性 FasL (sFasL) 是 Fas/FasL 系统另外一种存在形式, 通过与 FasL 竞争结合而抑制 Fas 途径介导的细胞凋亡, 但目前对两者在恶性肿瘤发病中作用了解较少^[3]。本组采用双抗体夹心 ELISA 方法检测膀胱癌患者尿中 sFas 和 sFasL 表达水平并探讨其临床意义。

1 材料与方法

1.1 膀胱癌患者尿液标本

收稿日期: 2003-06-02; 修回日期: 2003-08-20
基金资助: 本课题受漳州市科技计划项目基金资助 (Z01085)
作者单位: 1. 363000 福建省漳州市解放军第 175 医院泌尿外科, 2. 检验科

43 例膀胱移行细胞癌, 年龄 26~73 岁, 男 34 例、女 9 例。31 例行开放性肿瘤切除, 5 例行膀胱部分切除, 3 例行全膀胱切除, 4 例行经尿道膀胱肿瘤电切。按 WHO 分级标准: Ⅰ级 14 例, Ⅱ级 17 例, Ⅲ级 12 例; 按 UICC 分期: T₀₋₁ 期 29 例、T₂₋₄ 期 14 例。均获随访 1 年以上, 复发 9 例。12 例健康者 (男 9 例、女 3 例) 作为正常对照, 年龄 18~61 岁。

1.2 实验方法

分别留取术前和术后 1 周病人的晨尿 5ml, 2000r/min 离心 10 分钟后分装, 放入 -70℃ 冰箱保存。成批采用双抗体夹心 ELISA 法测定尿液中 sFas 和 sFasL 水平, 试剂盒由深圳晶美生物工程公司提供 (美国 Genzyme 公司产品分装)。实验操作严格按照说明书要求进行。

1.3 统计方法

各组数据用均数 ± 标准差表示, 采用方差分析、

直线相关分析和 *t* 检验。

2 结果

正常对照组尿 sFas 水平为 43.5 ± 6.2 pg/ml, 膀胱癌病人尿 sFas 水平明显升高为 127.8 ± 16.5 pg/ml, $P < 0.001$ 。膀胱癌病人术后一周尿 sFas 水平明显低于术前 ($P < 0.001$)。T₀₋₁期膀胱癌尿 sFas 水平显著低于 T₂₋₄期病人 ($P < 0.001$)；级 + 级与 级相比较,后者显著高于前两者 ($P < 0.01$)；但复发者与无复发者术前 sFas 水平相比差异无显著性 ($P > 0.05$)，而术后 1 周复发者 sFas 水平显著高于无复发者 ($P < 0.001$)。sFas 水平与膀胱癌病人的年龄、性别、肿瘤大小和数目之间相关无显著性意义 ($P > 0.05$)，见表 1。

表 1 sFas 和 sFasL 在膀胱癌术前、术后中表达水平及与病理特征关系 ($\bar{x} \pm s$, pg/ml)

病理特征 例数	sFas 表达		sFasL 表达	
	术前	术后 1 周	术前	术后 1 周
膀胱癌	43	127.8 ± 16.5	70.3 ± 10.6	74.6 ± 10.8
分期				
级	14	120.3 ± 15.0	59.0 ± 8.9	70.8 ± 10.4
级	17	124.9 ± 15.8	67.8 ± 10.2	75.1 ± 11.3
级	12	140.6 ± 18.2	87.0 ± 12.3	78.3 ± 12.1
分期				
T ₀₋₁ 期	29	118.2 ± 13.5	62.8 ± 8.3	68.5 ± 9.1
T ₂₋₄ 期	14	147.7 ± 23.1	85.8 ± 10.6	87.2 ± 12.3
复发				
有	9	130.2 ± 17.8	92.6 ± 12.7	78.8 ± 11.7
无	34	127.2 ± 16.0	64.4 ± 9.5	73.5 ± 10.4

正常对照组尿 sFasL 水平为 20.4 ± 3.3 pg/ml, 显著低于膀胱癌病人的 74.6 ± 10.8 pg/ml, $P < 0.001$ 。膀胱癌病人术后 1 周尿 sFasL 水平显著低于术前 ($P < 0.001$)。T₀₋₁期 sFasL 水平显著低于 T₂₋₄期 ($P < 0.001$)；但 sFasL 水平与肿瘤病理分级、复发、年龄、性别、肿瘤大小和数目之间相关无显著性意义 ($P > 0.05$)，见表 1。

膀胱癌病人术前及术后 1 周尿 sFas 和 sFasL 水平之间相关性均分别无显著性意义 ($P > 0.05$)。膀胱癌术前 sFas/sFasL 比率为 1.93 ± 0.56 ，术后 1 周为 2.11 ± 0.64 ， $P > 0.05$ 。

3 讨论

细胞凋亡在恶性肿瘤的发病机制乃至预防、治疗中的作用日益受到重视。Fas 是一种属于肿瘤坏死因子受体超家族的 型膜蛋白,分子量为 45KD; FasL 则属于肿瘤坏死因子超家族的 型膜蛋白,分

子量为 40KD, 两者参与杀伤性 T 淋巴细胞和自然杀伤细胞介导的细胞毒作用,在介导细胞凋亡过程中起着重要的信号传递作用,是肿瘤免疫逃避机制中重要的因子,并参与恶性肿瘤的演变过程^[1,2]。

sFas 是经过交替剪切的 FasmRNA 突变体所编码翻译的缺乏跨膜编码序列功能区的蛋白质。这种突变是由于 Fas 基因内含子 7 外显子 8 区的插入缺失所致,发生这种突变后影响到凋亡反应,即 sFas 能够阻止 FasL 与膜受体 Fas 的结合,使肿瘤细胞逃避机体通过 Fas 系统途径的免疫清除机制,成为恶性肿瘤产生、存活及进展的重要潜在生物学原因^[3]。sFasL 则是跨膜型 FasL 被间质金属蛋白酶切割后,其膜外段脱落形成的,分子量为 26KD, 存在于细胞周围环境中^[4]。sFasL 具备 FasL 的生物学活性,也能够与 Fas 结合并向表达 Fas 的淋巴细胞传导凋亡信号。但 sFasL 诱导细胞凋亡的能力较 FasL 弱,因此 sFasL 被认为能够阻碍 FasL 与 Fas 结合,从而使靶细胞逃避 Fas 系统介导的细胞凋亡^[4]。

一些研究结果显示多种癌症病人的血清中 sFas 和 sFasL 水平升高,证实两者在恶性肿瘤免疫逃避中的重要作用^[5-7]。Mizutani 等^[8,9] 研究也发现膀胱癌病人血清 sFas 和 sFasL 水平均显著升高,而且水平低者预后明显好于水平高者;两者水平与外周血淋巴细胞抗肿瘤细胞活性负相关,上述结果表明了高水平的 sFas 和 sFasL 能够使肿瘤细胞逃避机体免疫监视及 Fas 细胞凋亡系统的清除。但目前有关膀胱癌病人尿 sFas 和 sFasL 水平及意义的研究尚未见报道。

本组结果显示膀胱癌病人尿 sFas 水平显著升高,肿瘤切除术后显著降低,提示尿 sFas 水平与肿瘤负荷有关,至于 sFas 是来源于肿瘤细胞本身或和肿瘤浸润细胞尚存争议^[5,8]。本组结果显示术前及术后的 sFas 水平均与肿瘤临床分期和病理分级密切正相关,提示尿 sFas 水平可以反映膀胱癌的浸润深度和恶性程度。虽然膀胱癌复发者与无复发者术前尿 sFas 水平差异无显著性,但术后复发者的 sFas 水平下降幅度显著低于无复发者,而且发现复发时间间隔越短、sFas 水平越高,这在一定程度上解释了肿瘤复发与逃避机体免疫监视有关,同时检测术后尿 sFas 水平有助于评价病人预后并制定合适的随访、治疗方案。

本组对膀胱癌病人尿 sFasL 水平进行检测,发现其 sFasL 水平显著高于正常健康人,术后 sFasL 水平下降,而且 sFasL 水平与肿瘤临床分期呈正相关,但与肿瘤分级及复发之间相关无显著性差异,提示 sFasL 参与膀胱癌发病过程,其水平反映肿瘤负

荷情况,也是预示肿瘤浸润深度的标记物。至于尿中 sFasL 是否来源于肿瘤细胞还是浸润淋巴细胞,有待于今后深入研究。

本组结果显示膀胱癌病人尿 sFas 和 sFasL 水平平均与病人年龄、性别、肿瘤大小及数目无关,这与血清中两者表达水平的研究相一致^[8,9]。虽然膀胱癌组织中 Fas 与 FasL 表达之间、血清中 sFas 与 sFasL 表达水平之间均存在相关性^[8,10],但本组膀胱癌病人术前及术后尿中 sFas 与 sFasL 表达水平之间均无显著相关性,而且术前与术后 sFas/sFasL 比率差别无显著性意义,提示两者分泌调控乃至作用机制的复杂性,还有待于进一步阐明。

综上所述,尿 sFas 和 sFasL 有可能成为膀胱癌一种新的肿瘤标记,通过抑制 sFas 和/或 sFasL 的形成,将提高肿瘤细胞对 Fas 介导的细胞凋亡的易感性和细胞毒淋巴细胞的杀伤活性,从而成为膀胱癌治疗新的靶点。

参考文献:

- [1] Nagata S. Fas and Fas ligand: a death factor and its receptor[J]. *Adv Immunol*, 1994, 57 (1): 129-144.
- [2] Cheng J, Zhou T, Liu C, et al. Protection from Fas-mediated apoptosis by a soluble form of the Fas molecule[J]. *Science*, 1994, 263 (5154): 1759-1762.
- [3] Kayagaki N, Kawasaki A, Ebata T, et al. Metalloprotease-mediated release of human Fas ligand[J]. *J Exp Med*, 1995, 182 (6): 1777-1783.
- [4] Suda T, Hashimoto H, Tanaka M, et al. Membrane Fas ligand kills human peripheral blood lymphocytes, and soluble Fas ligand blocks the killing[J]. *J Exp Med*, 1997, 186 (12): 2045-2450.
- [5] Nonomura N, Nishimura K, Ono Y, et al. Soluble Fas in serum from patients with renal cell carcinoma[J]. *Urology*, 2000, 155 (1): 151-155.
- [6] Hasegawa D, Kojima S, Tatsumi E, et al. Elevation of the serum Fas ligand in patients with hemophagocytic syndrome and Diamond-Blackfan anemia[J]. *Blood*, 1998, 91 (8): 2793-2799.
- [7] Bellone G, Smirne C, Carbone A, et al. Production and pro-apoptotic activity of soluble CD95 ligand in pancreatic carcinoma[J]. *Clin Cancer Res*, 2000, 6 (6): 2448-2455.
- [8] Mizutani Y, Yoshida O, Bonavida B. Prognostic significance of soluble Fas in the serum of patients with bladder cancer[J]. *J Urology*, 1998, 160 (2): 571-576.
- [9] Mizutani Y, Hong F, Sato N, et al. Significance of serum soluble Fas ligand in patients with bladder carcinoma[J]. *Cancer*, 2001, 92 (1): 287-293.
- [10] 谢庆祥,汪鸿,缪友仁,等.72例膀胱移行细胞癌中 Fas 和 FasL 的表达[J]. *癌症*, 2000, 19 (2): 156-158.

[编辑:李奇明;校对:刘红武]