论著

文章编号:1000-5404(2010)12-1308-04

双歧杆菌脂磷壁酸对B16荷瘤小鼠Fas/FasL表达的影响

李芙蓉[1], 王 跃[2] (563003 贵州 遵义,遵义医学院免疫教研室[1];610031 成都,成都医学院检验系[2])

[摘要] **目的** 探讨双歧杆菌脂磷壁酸(lipoteichoic acid of bifidobacterium,BLTA)对黑色素瘤B16小鼠Fas/FasL表达的影响。**方法** 将黑色素瘤B16细胞接种于C57BL/6小鼠($n=40$)皮下,待触及肿块后于荷瘤小鼠瘤周注射不同剂量的BLTA。实验动物分为4组,每组10只:生理盐水(对照)组、低浓度BLTA(50 mg/L BLTA)组、中浓度BLTA(100 mg/L BLTA)组、高浓度BLTA(150 mg/L BLTA)组。采用MTT法检测荷瘤小鼠CTL杀伤活性;免疫组织化学染色检测肿瘤组织浸润的$CD4^+$、$CD8^+$淋巴细胞的表达情况;用RT-PCR检测肿瘤组织和脾脏组织Fas、FasL mRNA的表达变化;免疫组织化学染色和Western blot检测肿瘤组织和脾脏淋巴细胞Fas、FasL蛋白的表达变化。**结果** 与对照组比较,BLTA处理各组荷瘤小鼠的CTL杀伤率明显增加($P<0.05$),肿瘤组织内Fas、FasL mRNA和蛋白表达明显增加($P<0.05$),而荷瘤小鼠脾脏组织的Fas、FasL mRNA和蛋白表达明显下调($P<0.05$),肿瘤组织内$CD8^+$淋巴细胞的浸润增多($P<0.05$),并具有剂量依赖性。$CD4^+$淋巴细胞的浸润无明显增加($P>0.05$)。**结论** BLTA能够通过调节Fas/FasL系统,增强CTL细胞的杀伤活性,促进肿瘤细胞的凋亡,逆转荷瘤小鼠的肿瘤免疫逃逸现象,进而提高机体的抗肿瘤作用。

[关键词] 二裂菌属;磷壁酸类;黑色素瘤;抗原,CD95;T淋巴细胞;小鼠, 近交C57BL

[中图法分类号] R73-362; R738.1; R394.3 **[文献标志码]** A

Effects of lipoteichoic acid of bifidobacterium on Fas/FasL expression in B16 tumor-bearing mice

Li Furong[1], Wang Yue[2] ([1]Department of Immunology, Zunyi Medical College, Zunyi, Guizhou Province, 563003; [2]Faculty of Laboratory Medicine, Chengdu Medical College, Chendu, Sichuan Province, 610031, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the effect of lipoteichoic acid of bifidobacterium (BLTA) on the expressions of Fas/FasL in bearing melanoma B16 cancer mice. **Methods** Forty C57BL/6 mice were randomly divided into 4 groups ($n=10$), normal saline group (NS group), low-dose BLTA group (50 mg/L), middle-dose BLTA group (100 mg/L), and high-dose BLTA group (150 mg/L). Melanoma B16 cells (0.2 ml 5×10^9/L) were subcutaneously injected into the mice of the later 3 groups, and then, 0.2 ml BLTA at corresponding doses was injected subcutaneously at the sites around the mass once a day for 10 d when the tumor (at least 2 mm × 2 mm) was palpable. The NS group was given normal saline at same volume as in BLTA group. The changes of the killing activity of CTL was examined by MTT assay. The expression of the tumor-infiltrating $CD4^+$ and $CD8^+$ lymphocytes in tumor tissue were detected by immunohistochemistry. RT-PCR was used to detect the mRNA expression variance of the Fas and FasL in tumor and spleen tissue. The protein expression of Fas, FasL in tumor tissue and lymphocytes of spleen were detected by immunohistochemistry and Western blotting. **Results** Compared with the control group, BLTA significantly improved the CTL killing activity ($P<0.05$). The mRNA and protein expression of Fas and FasL were significantly up-regulated in the tumor tissue ($P<0.05$) whereas they were down-regulated in spleen tissue ($P<0.05$). There were significantly more $CD8^+$ lymphocyte infiltration in the tumor tissue in a dose-dependent manner ($P<0.05$), however, the infiltration of $CD4^+$ lymphocyte was not significantly increased ($P>0.05$). **Conclusion** BLTA enhances the killing activity of CTL by regulating Fas/FasL system, and thus, promotes apoptosis of tumor cells to suppress tumor immune escape in tumor-bearing mice, thereby it exerts anti-tumor effect further.

[Key words] bifidobacterium; teichoic acids; melanoma; antigens, CD95; T-lymphocytes; mice, inbred C57BL

Corresponding author: Wang Yue, Tel: 86-28-68289236, E-mail: wangyue_26@hotmail.com

Fas/FasL系统是CTL细胞除穿孔素/颗粒酶系统之外的另一条重要的细胞凋亡途径,在临床多种疾病的发生发展过程中具有重要作用[1]。双歧杆菌及其表面分子完整肽聚糖(whole peptidoglycan, WPG)和表面分子脂磷壁酸(lipoteichoic acid of bifidobacterium, BLTA)等是双歧杆菌发挥生物学活性的重要成分,能

[通信作者] 王 跃,电话:(028)68289236;E-mail: wangyue_26@hotmail.com

直接诱导肿瘤细胞的凋亡,发挥直接的抗肿瘤作用,具有明显的抗肿瘤和免疫增强效应[2]。本研究观察经 BLTA 处理后,荷瘤小鼠 CTL 的杀伤活性,肿瘤组织内 $CD4^+$、$CD8^+$ 淋巴细胞的浸润,以及肿瘤和脾脏组织 Fas、FasL mRNA 和蛋白水平表达的变化,以探讨 BLTA 能否通过影响 Fas/FasL 系统,逆转肿瘤免疫逃逸,从而实现其抗肿瘤的目的。

1 材料与方法

1.1 材料

小鼠黑色素瘤 B16 细胞株由本室保存,细胞用含 10% 小牛血清的 DMEM 培养液传代;BLTA 由本室从双歧杆菌中提取;清洁级 C57BL/6 小鼠,雌性,6 ~ 8 周龄,体质量(18 ± 2)g;小鼠淋巴细胞分离液(天津灏洋生物制品有限公司);总 RNA 提取试剂 RNAiso Reagent、RT-PCR 试剂盒 RNA PCR kit(AMV) Ver. 3.0 、DNA marker 和蛋白质 marker(日本 TaKaRa 公司);RIPA 蛋白提取液和增强型化学发光显色剂(美国 Cell Signal 公司);兔抗小鼠 Fas、FasL 多克隆抗体(美国 Santa Cruz 公司);兔抗小鼠 CD4、CD8 多克隆抗体,内参 β-actin 鼠源抗体,辣根酶标记羊抗兔二抗,辣根酶标记兔抗鼠二抗,DAB 显色试剂盒和 SABC 试剂盒(武汉博士德公司);MTT 和 ConA(美国 Sigma 公司);DMEM 干粉(美国 GIBCO 公司)。

1.2 方法

1.2.1 动物模型的建立与处理 C57BL/6 小鼠,采用随机数字表法分为 4 组,每组 10 只:生理盐水(对照)组、低浓度 BLTA(50 mg/L BLTA)组、中浓度 BLTA(100 mg/L BLTA)组、高浓度 BLTA(150 mg/L BLTA)组。取对数生长期的黑色素瘤 B16 细胞,胰酶消化后收集细胞,PBS 洗 2 次后调整细胞浓度为 5×10^9/L,于每只小鼠的右侧腋窝皮下接种 0.2 ml,待触及肿块后(5 ~ 7 d),肿块至少 2 mm × 2 mm,每日于小鼠瘤周注射不同剂量 BLTA 0.2 ml,连续 10 d,同时设阴性对照,于瘤周注射等量生理盐水。

1.2.2 特异性细胞毒性 T 细胞(CTL)杀伤实验 荷瘤小鼠无菌条件下取脾,用淋巴细胞分离液分离单个核脾细胞,制成脾细胞悬液,用含 10% 小牛血清的 DMEM 调整细胞浓度为 4×10^9/L,作为效应细胞,以 100 μl/孔加样于 96 孔细胞培养板中,加入 20 μl (55 mg/L) 刀豆蛋白(ConA,终浓度 5 mg/L)于 37 ℃、50 ml/L CO_2 条件下预刺激 3 d,设实验孔与效应细胞对照孔,各 3 个复孔。靶细胞取处于对数生长期的 B16 细胞,用 0.01 mol/L PBS 洗涤 3 次,以效靶比 50∶1 的比例加入上述预刺激的实验孔,同时设靶细胞对照孔,各 3 个复孔,37 ℃、50 ml/L CO_2 孵箱继续培养 24 h,实验结束前 4 h 加入 5 g/L MTT 10 μl,4 h 后去上清,加 200 μl 二甲亚砜振荡混匀,测定 D(490)值,计算杀伤率:杀伤率 = {1 - [实验孔 D(490) 值 - 效应细胞对照孔 D(490) 值]/ 靶细胞对照孔 D(490) 值} × 100% 。

1.2.3 RT-PCR 检测肿瘤和脾脏组织 Fas、FasL mRNA 的表达

按照总 RNA 提取试剂 RNAiso Reagent 说明书操作,从肿瘤和脾脏组织提取总 RNA,按 cDNA 合成条件进行。以 cDNA 为模板,进行 PCR 扩增。在 GenBank 查找小鼠的 Fas、FasL 基因和 β-actin, Fas 基因引物序列:上游 5′-GAAATCGCCTATG-GTTGTTG -3′,下游 5′-ATCTAAGGTTCTGCGCATTC- 3′ ,扩增片段长度为 401 bp; FasL 基因引物序列:上游 5′-CTACCACCGC-CATCACAACC-3′,下游 5′-GTTTAGGGGCTGGTTGTTGC-3′ ,扩增片段长度为 456 bp;β-actin 引物序列:上游 5′-TCATGAAGT-GTGACGTGGACATC-3′, 下游 5′-CAGGAGGAGCAATGATCTT-GATC-3′,扩增片段长度 156 bp ,上述引物均由上海 Invitrogen 公司合成。PCR 扩增体系为 50 μl,扩增条件:94 ℃ 预变性 2 min,94 ℃ 30 s,55℃ 30 s,72 ℃ 30 s,30 个循环(其中内参 β-actin 为 28 个循环);最后 72 ℃ 5 min。PCR 产物琼脂糖电泳分析。

1.2.4 免疫组织化学染色检测肿瘤组织和脾脏淋巴细胞 Fas、FasL 及肿瘤组织浸润的 $CD4^+$、$CD8^+$ 细胞的表达 解剖小鼠取肿瘤组织,制成石蜡切片后梯度酒精水化、抗原修复、3% H_2O_2 处理(此时将上述提取的脾单个核细胞滴加到已被多聚赖氨酸处理的洁净载玻片上,室温待干后相同 H_2O_2 处理)、封闭、加入一抗:Fas、FasL、CD4、CD8(稀释度均为 1∶200)4 ℃ 过夜,DAB 显色,苏木精复染,PBS 代替一抗作为阴性对照。用 Image-Pro Plus 5.0 软件分析统计平均光密度值。

1.2.5 Western blot 分析肿瘤和脾脏 Fas、FasL 蛋白表达

提取肿瘤和脾脏组织蛋白,电泳后转膜,半干转法将蛋白质(Fas: 48×10^3、FasL:40×10^3)转移至 PVDF 膜,封闭后分别将稀释的 Fas、FasL 一抗(1∶100)和 β-actin(1∶2 000)加入 PVDF 膜,4 ℃过夜; TBST 洗涤后与羊抗兔二抗结合,同上洗涤,ECL 增强发光试剂显色、曝光,采用 Quantity One 4.4.0 软件对图像进行光密度分析,并计算目的蛋白与 β-actin 蛋白的比值。

1.3 统计学分析

运用 SPSS 11.5 统计学软件包,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,完全随机设计的方差分析处理,组间比较采用单因素方差分析,用 SNK 检验。

2 结果

2.1 BLTA 对 B16 荷瘤小鼠 CTL 活性的影响

经 BLTA 处理后,B16 荷瘤小鼠脾脏淋巴细胞 CTL 杀伤活性明显增高,对照组,50、100、150 mg/L BLTA 组分别为 23.27%、23.68%、37.93%、45.91%,尤以中、高浓度(100、150 mg/L) BLTA 组增加更为明显,与对照组比较,差异具有显著性($P < 0.05$)。

2.2 BLTA 对 B16 荷瘤小鼠肿瘤组织浸润的 $CD4^+$、$CD8^+$ 淋巴细胞表达的影响

经 BLTA 处理后,荷瘤小鼠肿瘤组织浸润的 $CD8^+$ 淋巴细胞表达量明显增加,其中尤以 100、150 mg/L BLTA 组增加明显,与对照组比较,差异有显著性($P < 0.05$);肿瘤组织内 $CD4^+$ 淋巴细胞表达量仅轻度增加,与对照组比较,差异无显著性($P > 0.05$),见表 1。

表 1 不同浓度 BLTA 对荷瘤小鼠肿瘤组织浸润的 $CD4^+$、$CD8^+$ 淋巴细胞的影响($n = 10$, $\bar{x} \pm s$)

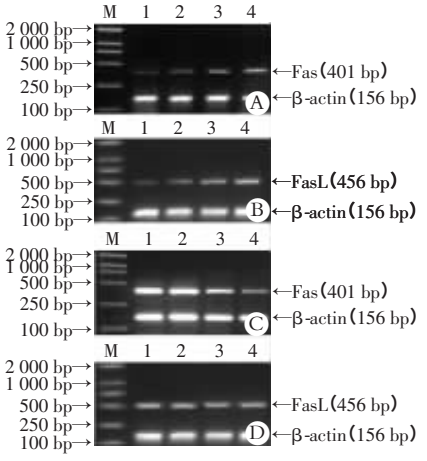
组别	$CD4^+$	$CD8^+$
对照组	0.14 ± 0.02	0.13 ± 0.02
50 mg/L BLTA 组	0.13 ± 0.03	0.16 ± 0.04
100 mg/L BLTA 组	0.15 ± 0.04	0.24 ± 0.02[a]
150 mg/L BLTA 组	0.16 ± 0.03	0.28 ± 0.04[a]

a:$P < 0.05$,与对照组比较

2.3 BLTA 对 B16 荷瘤小鼠肿瘤和脾脏组织 Fas、FasL mRNA 表达的影响

经 BLTA 处理后,肿瘤组织 Fas、FasL mRNA 表达量增加,

且随着 BLTA 剂量增加而更加明显，其中 100、150 mg/L BLTA 组分别与对照组比较，差异有统计学意义（$P<0.05$）；而脾脏 Fas、FasL mRNA 表达量减少，呈剂量依赖性，与对照组比较，差异有统计学意义（$P<0.05$）。见图1，表2。



M：标准；1：对照组；2：50 mg/L BLTA 组；3：100 mg/L BLTA 组；4：150 mg/L BLTA 组

A、B：肿瘤组织 Fas、FasL mRNA 表达；C、D：脾脏组织 Fas、FasL mRNA 表达

图1 RT-PCR 检测荷瘤小鼠肿瘤和脾脏组织 Fas、FasL mRNA 表达

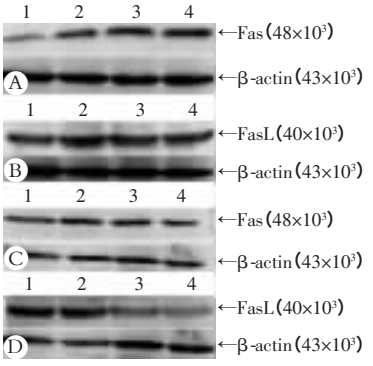
表2 荷瘤小鼠经不同浓度 BLTA 处理后肿瘤和脾脏组织 Fas、FasL mRNA 的表达量（$\bar{x}\pm s$，$n=10$）

组别	肿瘤组织		脾脏组织	
	Fas mRNA 表达	FasL mRNA 表达	Fas mRNA 表达	FasL mRNA 表达
对照组	0.26±0.04	0.48±0.03	0.82±0.04	0.54±0.04
50 mg/L BLTA 组	0.30±0.04	0.52±0.02	0.77±0.03	0.52±0.02
100 mg/L BLTA 组	0.47±0.03[a]	0.68±0.08[a]	0.58±0.05[a]	0.48±0.02[a]
150 mg/L BLTA 组	0.65±0.05[a]	0.76±0.09[a]	0.41±0.05[a]	0.48±0.02[a]

a：$P<0.05$，与对照组比较

2.4 BLTA 对 B16 荷瘤小鼠肿瘤组织和脾 Fas、FasL 蛋白表达的影响

Western blot 检测和免疫组织化学染色结果显示，经不同剂量 BLTA 处理后，B16 荷瘤小鼠肿瘤组织 Fas、FasL 蛋白表达量增加，而脾 Fas、FasL 表达量减少，其中尤以 100、150 mg/L BLTA 组变化明显（$P<0.05$），具有剂量依赖性。见图2，表3、4。



1：对照组；2：50 mg/L BLTA 组；3：100 mg/L BLTA 组；4：150 mg/L BLTA 组

A、B：肿瘤组织 Fas、FasL 蛋白表达；C、D：脾脏组织 Fas、FasL 蛋白表达

图2 Western blot 检测荷瘤小鼠肿瘤和脾脏组织 Fas、FasL 蛋白表达

表3 Western blot 检测肿瘤和脾脏组织 Fas、FasL 蛋白的表达（$n=10$，$\bar{x}\pm s$）

组别	肿瘤组织		脾脏组织	
	Fas 蛋白表达	FasL 蛋白表达	Fas 蛋白表达	FasL 蛋白表达
对照组	0.31±0.04	0.41±0.02	0.72±0.06	0.58±0.03
50 mg/L BLTA 组	0.30±0.06	0.43±0.02	0.74±0.04	0.55±0.04
100 mg/L BLTA 组	0.52±0.03[a]	0.49±0.02[a]	0.46±0.03[a]	0.44±0.03[a]
150 mg/L BLTA 组	0.65±0.06[a]	0.50±0.03[a]	0.35±0.04[a]	0.43±0.01[a]

a：$P<0.05$，与对照组比较

表4 免疫组织化学法检测肿瘤组织和脾淋巴细胞 Fas、FasL 蛋白的表达（$n=10$，$\bar{x}\pm s$）

组别	肿瘤组织		脾淋巴细胞	
	Fas 蛋白表达	FasL 蛋白表达	Fas 蛋白表达	FasL 蛋白表达
对照组	0.14±0.01	0.15±0.01	0.42±0.01	0.42±0.01
50 mg/L BLTA 组	0.14±0.03	0.17±0.01	0.40±0.01	0.41±0.01
100 mg/L BLTA 组	0.24±0.03[a]	0.25±0.02[a]	0.38±0.03[a]	0.38±0.01[a]
150 mg/L BLTA 组	0.29±0.01[a]	0.28±0.04[a]	0.34±0.03[a]	0.30±0.03[a]

a：$P<0.05$，与对照组比较

3 讨论

大多数良性肿瘤的 Fas 表达水平类似于它所来源的正常组织，而恶性肿瘤的 Fas 表达明显下调或丢失，通过 Fas 丢失，逃避体内免疫系统对其的清除作用。另一方面，肿瘤组织也可通过其表达的 FasL 与肿瘤组织内浸润的 Fas^+ 淋巴细胞结合，杀伤免疫细胞，从而实现肿瘤免疫逃逸。

Fas/FasL 介导的细胞凋亡与肿瘤的免疫逃逸关系密切。正常情况下，Fas 系统能有效去除过度激活的免疫活性细胞，下调免疫反应及 CTL 细胞的功能，在平衡机体免疫反应过程中发挥重要的作用。肿瘤可通过 Fas 表达降低或丢失，使细胞凋亡受阻，从而逃避体内免疫系统对其的清除作用[3]。刘海峰等[4]研究发现，Fas 基因表达异常增加可促进胃癌细胞凋亡，促进强度随胃癌细胞 Fas 基因表达水平升高而相应增加，认为 Fas 基因表达减少或丢失可能是胃癌细胞逃避凋亡、无限增殖的机制之一。此外，肿瘤细胞表达的 FasL，主动杀伤与之接触或浸润入肿瘤组织的高表达 Fas 抗原的激活的 T、B 淋巴细胞和 NK 细胞，使机体免疫系统的监视减弱，成为肿瘤免疫逃逸的重要基础。吴国英等[5]研究发现，肾癌细胞株 786-0 在化疗药物 5-氟尿嘧啶作用下，可以上调 Fas、FasL 表达，并且低、中剂量呈时间-剂量依赖关系。因此，调节 Fas/FasL 系统的表达，或影响其介导的细胞凋亡途径，可能会为肿瘤治疗提供新的思路。

但是，FasL 在肿瘤中却是一把双刃剑，其高水平表达能抵抗肿瘤，促发肿瘤排斥反应，而低水平容易促进肿瘤生长，且有可能阻止抗肿瘤免疫反应。Wada 等[6]建立表达不同水平 FasL 的 B16 黑色素瘤和 P29

肺癌模型,观察它们体内的致瘤性,结果组织学检测显示 FasL 低表达的肿瘤组织切片中存在淋巴细胞凋亡。Loeffler 等[7]设计鼠伤寒沙门菌表达促凋亡细胞因子 Fas 配体(FasL)来增强抗肿瘤效应。结果使用表达 FasL 的伤寒沙门菌能抑制早期 59% 的小鼠乳腺癌和 82% 的小鼠结肠癌肿瘤生长。Sarrabayrouse 等[8]研究发现,黑色素瘤细胞 B16F10 低表达 FasL,体外用他汀类药物能够促进 B16F10 细胞高表达 FasL,并能诱发伴随炎症反应的抗肿瘤效应,抑制 RhoA/ROCK 信号通路,达到促进肿瘤排斥反应的目的。

本研究发现,BTLA 能够上调肿瘤组织 Fas 和 FasL 的表达。我们以前的研究[9]显示,BLTA 可以通过抑制 PI3K/AKT 细胞信号通路的活性,促进 p53 的表达,抑制凋亡抑制蛋白 survivin 的活性,导致 caspases 酶活性升高,诱导 LoVo 细胞凋亡的发生。因此,我们推测,BLTA 通过增加 p53 表达,进而提高 caspases 酶活性,caspases 酶是 Fas/FasL 介导凋亡通路必需的酶,此酶活性的增加,能反馈调节 Fas/FasL 结合引起的细胞凋亡,或促进肿瘤组织 Fas/FasL 表达增加,最终实现 Fas/FasL 途径介导的抗肿瘤作用。

脾脏是人体最大的免疫器官,主要的单个核细胞是淋巴细胞。脾脏淋巴细胞 Fas 表达降低,可以减弱表达 FasL 的肿瘤细胞对淋巴细胞的杀伤,也可以控制 Fas 阳性淋巴细胞的自杀性凋亡[10]。本研究发现 BLTA 下调脾脏淋巴细胞 Fas/FasL 表达,是否说明 BLTA 可以通过减少淋巴细胞的杀伤而增加机体的抗肿瘤免疫,值得进一步研究。

目前认为,在肿瘤免疫治疗中,主要是激活 MHC I 类分子限制性 $CD8^+$ T 细胞。CTL 杀伤实验能直观地反映 $CD8^+$ T 淋巴细胞对靶细胞的直接杀伤作用。而且我们的前期研究[11,12]表明,双歧杆菌表面分子完整肽聚糖能有效促进重组乙肝表面抗原免疫小鼠脾淋巴细胞的增殖和脾淋巴细胞产生 IL-2 和 INF-γ,提高 CTL 的杀伤活性。本研究中荷瘤小鼠经 BLTA 处理后,脾脏淋巴细胞 CTL 杀伤活性增强,表明 BLTA 能有效诱导机体特异性的杀伤作用,引发宿主特异性的免疫应答,可能与抑制 CTL 细胞 Fas、FasL 表达、减少 CTL 细胞的自杀性凋亡有关,或因为淋巴细胞 Fas 表达减少,导致浸润至肿瘤组织内的淋巴细胞不因 FasL 阳性肿瘤细胞的结合,而导致淋巴细胞的凋亡[13]。也可能是 BLTA 作用于荷瘤小鼠,增进荷瘤小鼠脾淋巴细胞细胞因子 IL-2 和 INF-γ 的表达,INF-γ 是巨噬细胞激活因子,能激活单核-巨噬细胞并增强起摄取和处理抗原的能力,促进 CTL 成熟,成熟的 CTL 可以与高表达 Fas 的肿瘤细胞结合,激活 caspase-8, 导致肿瘤细胞凋亡。而且 CTL 还可通过其 TCR 识别肿瘤细胞表面的抗原肽-MCH Ⅰ类分子复合物后,胞质中颗粒以胞吐方式释放颗粒酶,在穿孔素作用下,使肿瘤细胞崩解。本实验中 BLTA 增强 B16 荷瘤小鼠脾脏 CTL 的杀伤活性,与增进荷瘤小鼠淋巴细胞中细胞因子 IL-2 和 INF-γ 的产生是否有直接联系,有待下一步研究。

同时,肿瘤组织 $CD8^+$ 淋巴细胞浸润的增多可增强淋巴细胞特别是 CTL 细胞对肿瘤细胞的杀伤作用,也进一步证明 BLTA 能诱导 T 细胞活化,促进宿主抗肿瘤的特异性细胞免疫应答。

参考文献:

[1] Bohana-Kashtan O, Civin C I. Fas ligand as a tool for immunosuppression and generation of immune tolerance[J]. Stem Cells, 2004, 22(6): 908-924.

[2] Triantafilon K, Triantafilon M, Dedrick R L. Interactions of bacterial lipopolysaccharide and peptidoglycan with a 70 kDa and an 80 kDa protein on the cell surface of $CD14^+$ and $CD14^-$ cells[J]. Hum Immunol, 2001, 62(1): 50-63.

[3] Muller M, Strand S, Hug H, *et al*. Drug-induced apoptosis in hepatoma cells is mediated by the CD95(APO-1/Fas) receptor/ligand system and involves activation of wild-type p53[J]. J Clin Invest, 1997, 99(3): 403-413.

[4] 刘海峰, 刘为纹, 陈刚, 等. 胃癌组织 Fas 基因表达与细胞凋亡和增殖的关系[J]. 第四军医大学学报, 2005, 26(8): 737-739.

[5] 吴国英, 李黔生, 聂志林. 5-氟尿嘧啶诱导肾癌细胞凋亡对 Fas/FasL 途径依赖性的研究[J]. 第三军医大学学报, 2009, 31(13): 1254-1257.

[6] Wada A, Tada Y, Kawamura K, *et al*. The effects of FasL on inflammation and tumor survival are dependent on its expression levels[J]. Cancer Gene Ther, 2007, 14(3): 262-267.

[7] Loeffler M, Le'Negrate G, Krajewska M, *et al*. Inhibition of tumor growth using salmonella expressing Fas ligand[J]. J Natl Cancer Inst, 2008, 100(15): 1113-1116.

[8] Sarrabayrouse G, Synaeve C, Leveque K, *et al*. Statins stimulate in vitro membrane FasL expression and lymphocyte apoptosis through RhoA/ROCK pathway in murine melanoma cells[J]. Neoplasia, 2007, 9(12): 1078-1090.

[9] 王跃, 麦涛, 刘明方, 等. 双歧杆菌脂磷壁酸对凋亡抑制因子 survivin 表达及其调控基因的影响[J]. 中华肿瘤杂志, 2007, 29(5): 325-328.

[10] Zhang M, liu F, He W, *et al*. Inhibition of Fas-mediated apoptosis in Yac-1 cell *via* Anti-Fas ribozyme[J]. Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai), 2004, 36(3): 199-205.

[11] 谢成彬, 王跃, 陈淑惠, 等. 双歧杆菌完整肽聚糖对重组乙肝表面抗原的佐剂效应[J]. 中华微生物学和免疫学杂志, 2006, 26(6): 521-525.

[12] 王跃, 谢成彬, 刘明方, 等. 双歧杆菌完整肽聚糖对重组乙肝表面抗原细胞免疫应答的影响[J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2006, 22(5): 617-619.

[13] Zhang Y, Liu Q, Zhang M, *et al*. Fas signal promotes lung cancer growth by recruiting myeloid-derived suppressor cells via cancer cell-derived PGE2[J]. J Immunol, 2009, 182(6): 3801-3808.

(**收稿**:2009-11-26;**修回**:2010-03-22)

(编辑 邓强庭)