文章编号:0253－3626(2003)01－0043－03

慢性心力衰竭患者血清可溶性 Fas 配体和可溶性 Fas 受体水平

李　刚[1]，魏良明[1]，邓翠华[1]，陈运贞[2]

(1.重庆医科大学第二临床学院心血管内科，重庆　400010；2.重庆医科大学临床学院心血管内科，重庆　400016)

【摘　要】目的：分析血清可溶性 Fas 配体(sFasL)和可溶性 Fas 受体(sFas)与慢性心力衰竭(CHF)的相关性。方法：采用酶联免疫吸附双抗体夹心法检测 33 例 CHF 患者(CHF 组，心功能Ⅱ－Ⅳ级，NYHA)血清 sFasL 和 sFas 浓度，并与 18 例心功能Ⅰ级(NYHA)组比较。结果：CHF 与心功能Ⅰ级组间 sFasL 浓度无显著统计学差异[231.50±84.50(心功能Ⅱ级 216.50±96.00，Ⅲ级 226.80±85.70，Ⅳ级 244.00±73.00) vs. 217.50±89.00 pg/ml，$P>0.05$]。而 CHF 组血清 sFas 浓度显著高于心功能Ⅰ级组[1353.30±507.71(心功能Ⅱ级 1154.85±371.20，Ⅲ级 1412.88±493.62，Ⅳ级 1875.67±806.10) vs. 983.11±461.26 pg/ml，$P<0.05$]。结论：血清 sFasL 与 CHF 无相关性。而血清 sFas 与 CHF 存在显著相关性。且 sFas 浓度增高的程度与 CHF 的严重程度相平行，sFas 浓度增高可能在 CHF 发病机制中起重要作用。

【关键词】充血性心力衰竭；Fas 配体；Fas 受体；可溶性

【中国图书分类法分类号】R543　　【文献标识码】A　　【收稿日期】2002－04－15

The serum levels of soluble Fas ligand and soluble Fas receptor in patients with chronic congestive heart failure

LI Gang, et al

(*Department of Cardiology, the Second College of Clinical Medicine, Chongqing Medical University*)

【Abstract】*Objective*: To investigate the association of soluble Fas ligand (sFasL) and soluble Fas receptor (sFas) with human chronic congestive heart failure (CHF). *Methods*: The serum level of sFasL and sFas in 33 patients with CHF (13 in cardiac function class Ⅱ, 17 in class Ⅲ, 3 in class Ⅳ, NYHA) was assessed with enzyme－linked immunosorbent assay, and was compared with that of 18 age, gender and blood pressure－matched patients with cardiac function class Ⅰ (NYHA). *Results*: There was no difference in the level of sFasL between the two groups [CHF group: 231.50±84.50 (cardiac function class Ⅱ 216.50±96.00, class Ⅲ 226.80±85.70, class Ⅳ 244.00±73.00) vs. cardiac function class Ⅰ group: 217.50±89.00 pg/ml, $P>0.05$]. However, the level of sFas was significantly higher in the patients with CHF than those of the cardiac function class Ⅰ group [CHF group: 1353.30±507.71 (cardiac function class Ⅱ 1154.85±371.20, class Ⅲ 1412.88±493.62, class Ⅳ 1875.67±806.10) vs. cardiac function class Ⅰ group: 983.11±416.26 pg/ml, $P<0.05$]. *Conclusion*: sFasL was not associated with human CHF. However, the elevation of serum level of sFas was proportionate to the severity of human CHF. sFas may play an important role in the pathogenesis of human CHF.

【Key words】Congestive heart failure; Soluble Fas ligand; Soluble Fas receptor; Solubility

可溶性 Fas 配体(sFasL)是 26kD 的糖蛋白，由金属蛋白酶样酶裂解 Fas 配体(FasL)细胞外区形成。sFasL 仍可与 Fas 受体结合，激活 caspase(一种蛋白酶)，导致细胞溶解，诱导细胞凋亡[1]。可溶性 Fas 受体(sFas)是 Fas 信使 RNA 的变异剪接片段 Fas△TM(编码跨膜区的外显子缺失)编译的一种缺乏跨膜区的可溶性血清蛋白，实验证实 sFas 可竞争抑制膜结合型 Fas 受体与 FasL/sFasL 的交联，抑制细胞凋亡[2]。FasL/Fas 系统可激活细胞凋亡，其适度表达对维持机体内环境稳定极其重要。该系统过度表达或表达不足，均将导致疾病。心肌等组织细胞可表达 FasL/Fas[3]，但表达过度可引起心肌等组织细胞破坏[4]，然而，FasL/Fas 在心脏病理生理中的作用仍然不清楚。研究发现原发性心肌病慢性心力衰竭(CHF)患者心肌细胞 FasL/Fas 表达上调，存

作者介绍：李　刚(1964－　)，男，副教授，博士，
主要研究方向：冠心病及并发症发病机制。

在心肌细胞凋亡[5]。而 sFasL/sFas 可反映 FasL/Fas 在机体内的激活状态。本研究对 CHF 患者血清 sFasL/sFas 浓度进行测定,以阐明其与 CHF 的严重程度及在 CHF 发生发展中的可能意义。

1 资料与方法

1.1 资料

2000 年 2~8 月连续收集冠心病 12 例及冠心病合并原发性高血压 39 例住院病例共 51 例,陈旧前壁心肌梗死 5 例,下壁心肌梗死 12 例,心绞痛 34 例,其中心功能Ⅱ-Ⅳ级(纽约心脏病学会分级法,NYHA)即 CHF 组 33 例:Ⅱ级 13 例(左心室射血分数 LVEF 0.43±0.04;左心室舒张末直径 LVDd 5.30±0.46cm),Ⅲ级 17 例(LVEF 0.40±0.05;LVDd 5.96±0.63cm),Ⅳ级 3 例(LVEF 0.33±0.04;LVDd 6.80±0.57cm),男 18 例,女 15 例,年龄 71.9±8.1(60~88)岁,血压(153.5±30.5)/(81.4±13.9)mmHg;CHF 组患者均常规给于洋地黄制剂,硝酸酯类,利尿剂等治疗。心功能Ⅰ级(NYHA)组:18 例(LVEF 0.55±0.05;LVDd 4.90±0.89cm),男 9 例,女 9 例,年龄 69.2±6.8(60~86)岁,血压(157.5±25.0)/(82.2±14.0)mmHg。较心功能Ⅰ级组,心功能Ⅱ级,Ⅲ级,Ⅳ级及 CHF 组的 LVEF 显著降低,LVDd 显著增加,具有显著统计学意义($t=2.21\sim2.57$, $P<0.05$)。各组间年龄,血压无显著统计学差异($t=0.694\sim1.76$, $P>0.05$)。急性心肌梗塞及合并糖尿病,严重感染,炎症性疾病,肿瘤,结缔组织病,结核,慢性阻塞性肺病,使用免疫抑制药物者均未纳入本研究。

1.2 方法

所有入选病例均于空腹 14h 后抽取外周血 3ml,静置 1h,离心后取血清,置-20℃冰箱保存,用时冻融。所用兔抗人 sFasL/sFas 单克隆抗体及酶联免疫试剂盒购自深圳晶美生物有限公司,均为法国 DIACLONE 公司产品。采用双抗体酶联免疫吸附夹心法检测 sFasL 浓度,具体方法如下:取出已包被抗人 FasL 单抗的 96 孔酶标板,平衡至室温,分别设立不同浓度的标准孔,空白孔和实验孔;除空白孔外,分别将不同浓度标准品或标本(100μl/孔)加入相应孔中,室温孵育 2h,使抗原抗体充分反应;洗板,去除游离成分;除空白孔外,每孔同时加入生物素(辣根过氧化物酶)化的抗人 FasL 抗体(50μl/孔),室温孵育 1h,产生牢固的免疫复合物;洗板,去除未结合游离成分;加入底物液(亲和素)过氧化氢和显色剂四甲基联苯胺(100μl/孔),避光室温孵育 15min,酶-底物充分反应后,加入终止液(1.8N 硫酸,100μl/孔),20min 内测量纳米光密度(OD_{450});sFasL 浓度与 OD_{450} 值间呈正比,通过绘制标准曲线求出标本中 sFasL 浓度。测定 sFas 浓度方法同上。

1.3 统计学处理

检测指标以 $\bar{x}\pm s$ 表示,并进行正态检验,两组间比较采用两样本均数的 t 检验。$P<0.05$ 为有显著统计学差异。

2 结 果

CHF 组较心功能Ⅰ级组血清 sFasL 浓度有增高趋势,但二组间血清 sFasL 浓度无显著统计学差异($P>0.05$);CHF 组较心功能Ⅰ级组血清 sFas 浓度显著增高,且与 CHF 的严重程度相关($P<0.05$)。见表 1。

表 1　血清 sFasL,sFas 浓度比较($\bar{x}\pm s$,pg/ml)

组　别	sFasL	sFas
无 CHF 组($n=18$)	217.50±89.00	983.11±461.26
CHF 组($n=33$)	231.50±84.50	1353.30±507.71
Ⅱ级($n=13$)	216.50±96.00	1154.85±371.20
Ⅲ级($n=17$)	226.80±85.70	1412.88±493.62
Ⅳ级($n=3$)	244.00±73.00	1875.67±806.10

注:与无 CHF 组比较:sFasL:心功能Ⅲ级组 $t=0.60$, $P>0.05$;Ⅲ级组 $t=0.68$, $P>0.05$;Ⅳ级组 $t=0.70$, $P>0.05$;CHF 组 $t=0.68$, $P>0.05$。sFas:心功能Ⅱ级组 $t=1.11$, $P>0.05$;Ⅲ级组 $t=2.66$, $P<0.05$;Ⅳ级组 $t=2.81$, $P<0.05$;CHF 组 $t=2.57$, $P<0.05$。

3 讨 论

本研究没有证实 CHF 患者血清 sFasL 浓度显著增高。但其它研究报道心肌细胞凋亡与原发性继发性心肌病 CHF 的发生发展均有密切关系[3,5],而 sFasL 在心肌细胞凋亡中起着重要作用[4]。sFasL 在离体在体情况下均具有生物活性,可与 Fas 受体结合而诱导心肌细胞凋亡[6]。有文献报道 CHF 患者血清 sFasL 浓度显著增高,且其增高的程度与 CHF 的严重程度相平行。该研究同时发现 CHF 患者冠状静脉窦(引流心脏静脉血)较主动脉内血清 sFasL 浓度显著增高。提示增高的外周血 sFasL 来源于 CHF 的心肌细胞。CHF 的心肌细胞可向外周循环分泌释放 sFasL。同时除外了增高的外周血 sFasL 来源于活化的杀伤性 T 淋巴细胞及自然杀伤细胞的可能性。CHF 血清 sFasL 浓度增高并不是某种特定心脏病的特征,但可能与心肌缺血缺氧,炎症反应,前后负荷增加,神经体液等因素改变有关联。增高的血清 sFasL 在 CHF 的进程中可能起着

重要作用,可引起 CHF 的心肌细胞凋亡,使 CHF 恶化[7]。寻找干预心肌细胞表达 sFasL 的措施可能对 CHF 的治疗具有崭新的意义。然而,本研究没有证实 Yamaguchi 等的报道发现 CHF 患者血清 sFasL 浓度显著增高[7]。而与 Nishigaki 等的报道一致[8]。这些研究结论差异的原因不清楚,与研究的设计可能有关系。Yamaguchi 等用健康者作对照[7],而本研究用心功能Ⅰ级患者作对照,此可解释本研究的阴性结果。sFasL 在 CHF 发病机制中的作用尚待澄清。

此外,本研究证实了 Okuyama 等的报道发现 CHF 患者血清 sFas 浓度显著增高,且其增高的程度与 CHF 的严重程度相平行[8~10]。提示 sFas 在 CHF 的病理生理机制中起着非常重要的作用。研究表明血清 sFas 浓度增高既可见于并发 CHF 的原发性心肌病,亦可见于并发 CHF 的原发性高血压及冠心病[8,9],本研究支持 CHF 血清 sFas 浓度增高程度与致 CHF 的心脏病无特异性,而与 CHF 的严重程度相关的观点。然而,CHF 血清浓度增高的 sFas 的来源及其意义尚未清楚。尽管 CHF 时,冠状静脉窦与主动脉内血清 sFas 浓度差异没有达到显著统计学意义,但有研究发现 CHF 时心肌细胞 sFas 表达上调[5,8],因此 CHF 时缺血缺氧的心肌细胞可向外周血合成释放 sFas 的可能性仍未除外。sFas 可竞争抑制 Fas 与 FasL/sFasL 结合,阻止心肌细胞凋亡[2]。CHF 时血清 sFas 浓度增高可能是心肌细胞对 Fas 与 FasL/sFasL 结合介导的心肌细胞凋亡增加的自身保护反应[9]。另一方面,Fas 作为致炎症细胞因子,可激活 T 淋巴细胞,导致炎症反应。外周血 sFas 浓度反应性增高亦提示 CHF 时机体内存在针对心肌细胞的免疫激活状态,炎症反应活跃,其对心肌细胞的抗损伤抗炎症作用可能在 CHF 的发生发展中具有重要意义[10,11]。

参 考 文 献

[1] Kayagaki N, Kawasaki A, Ebata T, et al. Metalloproteinase-mediated release of human Fas ligand[J]. J Exp Med, 1995;182(6):1777-1783.

[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] Olivetti G, Abbi R, Quaini F, et al. Apoptosis in the failing human heart[J]. N Engl J Med, 1997;336(16):1131-1141.

[4] Yamaoka M, Yamaguchi S, Suzuki T, et al. Apoptosis in rat cardiac myocytes induced by Fas ligand: priming for Fas-mediated apoptosis with doxorubicin[J]. J Mol Cell Cardiol, 2000;32(6):881-889.

[5] Yamamura T, Nakamura H, Yamamoto T, et al. Fas expression and apoptosis correlate with cardiac dysfunction in patients with dilated cardiomyopathy[J]. Jpn Circ J, 1999;63(3):149-154.

[6] Nagata S. Apoptosis by death factor[J]. Cell, 1997;88(3):355-365.

[7] Yamaguchi S, Yamaoka M, Okuyama M, et al. Elevated circulating levels and cardiac secretion of soluble Fas ligand in patients with congestive heart failure[J]. Am J Cardiol, 1999;83(10):1500-1503, A8.

[8] Nishigaki K, Minatoguchi S, Seishima M, et al. Plasma Fas ligand, an inducer of apoptosis, and plasma soluble Fas, an inhibitor of apoptosis, in patients with chronic congestive heart failure[J]. J Am Coll Cardiol, 1997;29(6):1214-1220.

[9] Okuyama M, Yamaguchi S, Nozaki N, et al. Serum levels of soluble form of Fas molecule in patients with congestive heart failure[J]. Am J Cardiol, 1997;79(12):1698-1701.

[10] Fiorina P, Astorri E, Albertini R, et al. Soluble antiapoptotic molecules and immune activation in chronic heart failure and unstable angina pectoris[J]. J Clin Immunol, 2000;20(2):101-106.

[11] Toyozaki T, Hiroe M, Saito T, et al. Levels of soluble Fas in patients with myocarditis, heart failure of unknown origin, and in healthy volunteers[J]. Am J Cardiol, 1998;81(6):798-800.