365-367

(12)

维普资讯 http://www.cqvip.com

文章编号：0253-3626(2000)04-0365-03

乙型肝炎患者血清可溶性Fas和可溶性Fas配体水平的研究

秦 波，张定凤，贾小平，任 红

（重庆医科大学病毒性肝炎研究所 重庆 400010）

R512.620.2

摘 要：目的 研究可溶性Fas(sFas)和可溶性Fas配体(sFasL)在乙型肝炎发病中的意义。**方法** 用ELISA双抗体夹心法检测39例各种类型乙型肝炎患者血清sFas和sFasL含量及其与病变的关系，并以8例健康献血员血清作对照。**结果** 慢性肝炎（中～重型）血清中sFas含量较高，与其它各组比较有显著性差异（$P<0.01$）；重型肝炎血清中sFasL含量较高，与其它各组比较亦有显著性差异（$P<0.01$）。血清中sFasL含量较高的患者病情较重、病死率较高；相反，血清sFas含量较高的患者病情活动一般亦较明显，但绝大部分预后较好。**结论** 血清sFas和sFasL含量与乙型肝炎病情密切相关，二者可作为判断病情和估计预后的重要指标，它们在肝细胞凋亡引致肝损害的发生中起重要作用。

关键词： 病毒性肝炎，乙型；Fas /Fas配体，可溶性；细胞凋亡

乙型肝炎，sFas，sFasL，

中国图书分类法分类号： R512.6 **文献标识码：** A **收稿日期：** 2000-01-03

The effect of serum soluble Fas and soluble Fas ligand in patients with hepatitis B

QIN Bo, et al

(Institute for Viral Hepatitis, Chongqing Medical University, 400016)

Abstract: Objective To evaluate the effect of soluble Fas antigen (sFas) and soluble Fas ligand (sFasL) in the pathogenesis of hepatitis B. **Methods** Serum sFas and sFasL were detected by ELISA in 39 patients with hepatitis B. 8 healthy persons served as normal control. These levels were compared with the index of disease activity, including ALT levels, STB and PT levels. **Results** Serum sFas levels in moderate and severe degree CHB patients (CAH, 5.38±3.50ng/ml) were significantly higher than those in other groups($P<0.01$), and serum sFasL levels in hepatic failure patients (FH, 2.76±0.49ng/ml) were notably higher than those in other groups($P<0.01$). Serum sFas and sFasL levels were correlated with disease activity, and most cases of the former had favourable prognosis. **Conclusion** The soluble form of Fas antigen in serum seemed to inhibit Fas-mediated apoptosis, and serum sFasL may reflect the severity of liver inflammation. They play important roles in hepatic apoptosis and necrosis, and may be responsible symbols for diagnosing pathogenetic condition and prognosis in hepatitis B.

Key Words: Hepatitis B; Soluble Fas; Soluble Fas ligand; Apoptosis

Fas是TNF受体（TNFR）家族成员之一，为细胞表面的I型膜蛋白。Fas与T淋巴细胞或其它细胞表面的II型膜蛋白Fas配体（FasL）或Fas抗体结合，可以诱导表达Fas的靶细胞凋亡，这是病毒性肝炎肝损害重要原因之一[1]。我们以前的研究发现，肝细胞可能通过直接自杀方式或自分泌、旁分泌机制引起肝细胞损害，而Fas和FasL可能在其中起重要作用[2]。因跨膜区缺失，Fas和FasL均可脱落形成可溶形式，亦即sFas和sFasL。为探讨sFas和sFasL在肝细胞凋亡引起肝细胞损害中的作用，我们对39例各种类型乙型肝炎患者血清sFas、sFasL进行了检测，并分析其与临床的关系，现报告如下。

1 材料与方法

1.1 标本、试剂和仪器

1.1.1 标本 选用我科住院的1997~1998年乙型肝炎患者血清标本39例，其中急性肝炎（AH）8例，慢性肝炎（轻型，CPH）11例，慢性肝炎（中～重型，CAH）和重型肝炎（FH）各10例，FH包括急性重型肝炎1例、亚急性重型肝炎2例、慢性重型肝炎7例。诊断标准均采用1995年“第五次全

基金项目： 国家自然科学基金资助项目(367634)；

作者介绍： 秦 波（1966- ），男，主治医师，博士

维普资讯 http://www.cqvip.com

国传染病寄生虫病学术会议修订标准”[3]。患者中男性30例，女性9例，年龄15～76岁。另选用8例健康献血员作为正常对照（NH）。

1.1.2 试剂 sFas检测ELISA药盒[sFas（S）ELISA Kit]购自日本Medical & Biological Laboratories Co.,Ltd.（MBL）公司，抗FasL抗体和FasL标准品购自美国Santa Cruz Biotechnology公司，兔抗羊酶标二抗及显色底物购自福州迈新公司。

1.1.3 酶标仪

1.2 方法

1.2.1 sFas检测 采用ELISA双抗体夹心法。先用抗Fas抗体包被96孔细胞培养板，然后加稀释的血清标本室温孵育1h，再加酶标的抗Fas抗体室温孵育1h，最后加底物(TMB / H_2O_2)显色和2N H_2SO_4终止液终止反应，于酶标仪450nm处读取光密度值。如上方法，用不同浓度sFas标准品绘制其标准曲线，即可在该曲线上用所测得的标本光密度值求得相应的sFas浓度。

1.2.2 sFasL检测 与sFas测定相似，也采用ELISA双抗体夹心法。

1.2.3 对照组 用8例健康献血员血清作对照，分别检测其sFas和sFasL含量，并用缓冲液分别代替Fas和FasL抗体作阴性对照检测。

1.2.4 统计学处理 采用计量资料的方差分析和q检验方法。

2 结 果

表1 正常人和各型乙肝患者血清sFas/sFasL检测

类型	n	sFas *(ng/ml)	sFasL**(ng/ml)
NH	8	1.75±0.59	0.55±0.04
AH	8	3.21±1.40	1.58±0.33
CPH	11	2.14±1.24	2.06±0.42
CAH	10	5.38±3.50	1.96±0.51
FH	10	2.90±1.46	2.76±0.49

* F=4.8 P<0.01，** F=30.41 P<0.01，n表示样本数

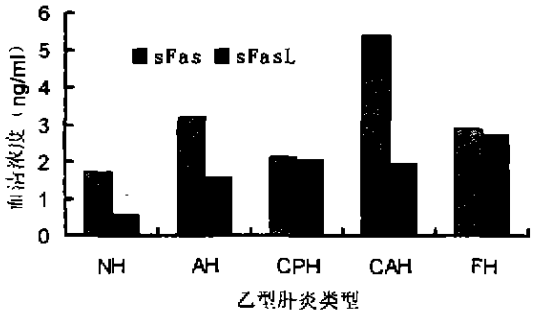


图1 不同类型乙型肝炎患者血清sFas和sFasL含量比较

2.1 sFas含量检测

血清sFas含量在中/重度慢性肝炎（CAH）最高，其次是急性肝炎（AH）、重型肝炎（FH）、轻度慢性肝炎（CPH），正常人（NH）血清亦有少量sFas存在。经统计学处理，CAH与NH、AH、CPH、FH之间有显著性差异（P<0.01）；而NH、AH、CPH及FH之间的sFas含量差异无显著性意义（P>0.05）。见表1和图1。

2.2 sFasL含量检测

血清sFasL含量在重型肝炎（FH）最高，其次是轻度慢性肝炎（CPH）、中/重度慢性肝炎（CAH）、急性肝炎（AH）、正常人（NH）。经统计学处理，FH与NH、AH、CAH、CPH、NH之间有显著性差异（P<0.01）；而NH、AH、CPH、CAH之间无显著性差异（P>0.05）。见表1和图1。

2.3 血清sFas、sFasL含量与乙肝病情的关系

通过对临床资料分析发现，患者血清sFasL含量较高者病情多数较重，病死率较高，所有病例中死亡的4例患者血清sFasL含量均较高（平均值为2.79±0.58ng/ml）；血清sFas含量较高者多数病情亦较活动，但患者预后较好，病情一般较快恢复至正常。部分病例sFas和sFasL含量均较高，其中多数患者病情较重，并有1例最后死于肝衰竭。

我们对sFas和sFasL分别与反映乙肝病情的几个指标（血清转氨酶ALT、血清总胆红素TB、凝血酶原时间PT）进行相关分析，结果发现sFas与ALT、TB及PT均无明显相关性；sFasL与TB和PT之间呈显著正相关性，但sFasL与ALT之间无明显相关性。sFas与sFasL相比较，二者亦无相关性。结果见表2及图2、图3。

3 讨 论

细胞凋亡是在自然界广泛存在的一种生物现象，可见于许多生理或病理情况。已有研究表明，Fas系统介导的细胞凋亡在病毒性肝炎的发病中起重要作用，可能与病变的活动甚至暴发性肝衰竭相关[4]。细胞凋亡的发生除与靶细胞上表达的Fas抗原和相应的Fas抗体或Fas配体（FasL）作用有关外，血清中存在的Fas和FasL的可溶形式（sFas/sFasL）也可能发挥重要作用[5,6]。

本研究结果表明，sFas和sFasL在各种类型乙型肝炎均可有不同程度的增高，与病变的活动和肝

维普资讯 http://www.cqvip.com

表2 sFas、sFasL与ALT、TB、PT之间的相关分析

	R	P
sFas-ALT	-0.044	>0.05
sFas-TB	-0.047	>0.05
sFas-PT	0.174	>0.05
sFasL-ALT	-0.019	>0.05
sFasL-TB	0.558	<0.001
sFasL-PT	0.494	<0.01
sFas-sFasL	-0.114	>0.05

功能的损害有一定关系。sFas既是肝病活动的指标，亦可能为肝细胞凋亡重要的抑制因素，可在一定程度上阻止病变的进展，似可作为判断乙型肝炎病情及预后的重要指标。Natoli等认为由于选择性加板变异而编码形成的可溶性Fas（Fas delta TM）可能中和Fas抗体或FasL的作用，从而对抗Fas介导的肝细胞凋亡[7]，Kondo等将sFas应用于HBsAg转基因小鼠可阻止FasL介导的肝损害[8]。Iio及Gama在对乙肝和丙肝患者临床研究中也有类似发现[9,10]。我们的结果还提示，sFasL为乙型肝炎病情加重的重要因素，它既可能在分泌细胞的附近发挥作用，也可以通过循环系统在远处与表达Fas的靶细胞相互作用并启动其凋亡信号，从而造成肝细胞的损害。因此，研究采用sFas或其它方法以阻止sFasL介导的肝损伤可能具有一定前景。

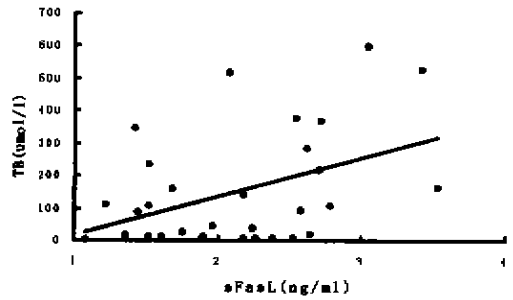


图2 sFasL-TB相关曲线

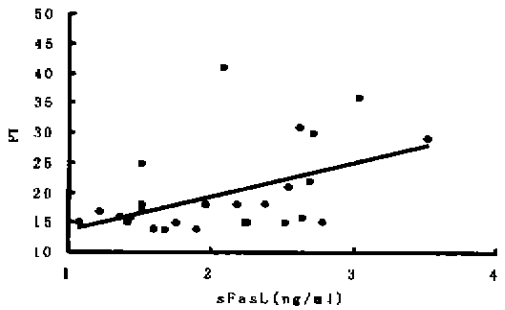


图3 sFasL-PT相关曲线

本研究结果还表明，部分患者同时有血清sFas和sFasL水平的增高，且多数病例病情较重，是否有sFas和sFasL免疫复合物参与了肝损害的发生，尚需进一步研究。值得注意的是，血清sFasL的增高并不总是伴有严重的肝损害；同时，血清sFas水平的增高亦不总是与病情好的转归相平行，推测可能还有其它因素的参与，如TNF及其受体、ICE蛋白酶抑制剂等，可进行相关研究阐明。另外，乙型肝炎患者血清中可能存在干扰素诱生抑制因子，其血清抑制活性似和乙型病毒性肝炎肝损害程度呈正比，其中又以重型肝炎最为明显[11]。干扰素诱生抑制因子的性质目前尚不明确，与血清中sFasL有何联系抑或二者即为同一性质的物质，也需进一步研究阐明。

参 考 文 献

[1] Ogasawara J, Watanabe-Fukunaga R, Adachi M, et al. Lethal effect of the anti-Fas antibody in mice[J]. Nature.1993; 364:806-809.

[2] 秦 波，张定凤，马 英，等. 乙型肝炎患者肝组织Fas/FasL表达及其在肝细胞凋亡中的作用[J]. 中华肝脏病杂志，1997; 5(2):88-90.

[3] 病毒性肝炎防治方案（试行）[J]. 中华内科杂志，1995; 34(11):788-791.

[4] Ryo K, Kamogawa Y, Ikeda I, et al. Fas and Fas ligand strongly expressed in liver of fulminant hepatisis patients[J]. Hepatology, 1995;22:230a.

[5] Iio S, Hayashi N, Mita E, et al. Serum levels of soluble Fas antigen in chronic hepatitis C patients[J]. J Hepatol, 1998; 29(4): 517-523.

[6] Tanaka M, Suda T, Haze K, et al. Fas ligand in human serum[J].Nature Medicine,1996;2(3):317-322.

[7] Natoli G, Ianni A, Costanzo A, et al. Resistance to Fas-mediated apoptosis in human hepatoma cells[J]. Oncogene, 1995; 11(6):1157-1164.

[8] Kondo T, Suda T, Fukuyama H, et al. Essential roles of the Fas ligand in the development of hepatitis[J]. Nat-Med, 1997;3(4): 409-413.

[9] Iio S, Mita E, Mochizuki K, et al , Elevated serum level of soluble Fas antigen in chronic hepatitis B and C patients[J]. Hepatology, 1996;24(4):526a.

[10] Gama H, Ishii M, Lgarashi T, et al. Detection of Fas messenger RNA deleting transmembrane domain in the liver of patients with viral hepatitis and hepatocellular carainoma[J]. Hepatology, 1996;24(4):367a.

[11] 张定凤，刘邦媛，潘澄清，等. 乙型肝炎病人血清中抑制因子对干扰素诱生的影响[J]. 中华医学杂志，1984;64(5):273-276.