DOI:10.16016/j.1000-5404.2001.05.017
第23卷第5期 第三军医大学学报 Vol. 23, No. 5
530 2001年5月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE May. 2001

论著

文章编号:1000-5404(2001)05-0530-03

FasL蛋白在人类非小细胞肺癌中的表达及其临床意义

林一丹,蒋耀光,王如文 (第三军医大学附属大坪医院野战外科研究所胸心外科,重庆 400042)

提 要:目的 探讨Fas配体(FasL)在人类非小细胞肺癌(NSCLC)中的表达及临床意义。方法 应用免疫组织化学方法检测FasL蛋白在32例手术切除的NSCLC中的表达情况。结果 FasL在本组32例NSCLC中的阳性表达百分数为3.0%~98.7%,平均(62.0±32.0)%,其中在肺腺癌中的平均阳性表达百分数为(80.5±21.2)%,在肺鳞癌中为(52.3±32.8)%,FasL蛋白在两种不同病理类型的肺癌中阳性表达水平差异显著($P<0.05$)。但在不同分化程度和不同外科病理分期(Pathological TNM stage, pTNM)的NSCLC中FasL蛋白表达差异不显著($P>0.05$)。结论 FasL在NSCLC中的表达提示NSCLC具有反杀伤免疫细胞的能力,并可能是肺腺癌较易发生早期转移的重要原因。

关键词:非小细胞肺癌;Fas配体;反杀伤
中图法分类号:R392.31;R734.2 文献标识码:A

Expression of Fas ligand protein in human non-small cell lung cancer and its clinical significance

LIN Yi-dan, JIANG Yao-guang, WANG Ru-wen (Department of Thoracic and Cardiovascular Surgery, Daping Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400042, China)

Abstract: Objective To explore the expression of Fas ligand (FasL) protein in human non-small cell lung cancer (NSCLC) and its clinical significance. Methods Expression of FasL protein was detected by immunohistochemical method in 32 resected tumors of NSCLC. Results FasL protein was detected in all of these 32 resected tumors with variant positive expression levels ranging from 3.0% to 98.7% [mean (62.0±32.0)%]. There was significant difference between the tumors of different pathological types no significant difference was found between the tumors of different differentiation nor among the tumors of different pTNM stages ($P>0.05$). Conclusion The results indicated that NSCLC can counter-attack the immune cells of the body and may be the molecular basis for the easily metastasis of adenocarcinoma to in the early stage.

Key words: non-small cell lung cancer; fas ligand; counterattack

Fas配体(Fas ligand, FasL)为肿瘤坏死因子(Tumor necrosis factor, TNF)家族成员,其受体为Fas,当两者结合后就会导致Fas阳性的靶细胞凋亡。在肿瘤免疫中人们过去认为FasL-Fas途径是细胞毒T淋巴细胞(Cytotoxic T lymphocyte, CTL)杀伤肿瘤的重要机制之一,但最近研究发现人类的某些肿瘤细胞表达FasL,并能够借助FasL-Fas凋亡途径反杀伤淋巴细胞,从而使肿瘤成为一个免疫特赦部位。国人非小细胞肺癌(Non-small cell lung cancer, NSCLC)是否表达FasL尚无报道,我们使用免疫组织化学方法检测了32例NSCLC中的FasL蛋白的表达情况,以探讨国人NSCLC是否具有反杀伤免疫细胞的分子基础。

1 材料与方法

1.1 材料

标本取自我科及重庆医科大学第一附属医院胸外科在2000年8至12月手术切除的非小细胞肺癌共32例,男性26例,女性6例,年龄31~73岁,平均(57.8±10.1)岁。所有患者术前均未接受化疗、放疗或免疫治疗。标本采用4%多聚甲醛固定,石蜡包埋,制成4μm厚切片。经HE染色,组织学观察并按照WHO分类标准进行病理分型,其中鳞癌21例,腺癌11例。肺癌pTNM分期依据1997年修定的肺癌TNM国际分期[1]进行:Ⅰ期16例(ⅠA期3例,ⅠB期13例),Ⅱ期7例(ⅡA期1例,ⅡB期6例),Ⅲ期9例(ⅢA期6例,ⅢB期3例)。并与远癌及癌旁组织进行对比。

1.2 免疫组织化学染色

兔抗人FasL多克隆抗体及SABC复合物均购自武汉博士德生物工程有限公司。按常规SABC法进行免疫组化检测,DAB染色,苏木素复染,具体方法参照说明书进行。每批染色设立阴性空白对照(以PBS代替一抗),并用每一批染色中FasL阳性表达的肿瘤浸润淋巴细胞做为阳性对照[2]。

1.3 结果判定

FasL蛋白主要定位于细胞浆和细胞膜,凡细胞浆和/或细胞膜显示棕黄色颗粒者为阳性。结果判定时,每张切片在400倍光镜下顺序找5~10个视野,每个视野数100~200个细胞,共计1 000个细胞,计算出每张切片上FasL蛋白阳性表达的百分数。

1.4 统计学处理

各组之间FasL蛋白阳性表达百分数的差异采用非参数统计方法[3]的Wilcoxon检验和Kruskal-Wallis检验,统计软件为美国计算机资源中心研制的Stata 4.0。

2 结果

2.1 FasL蛋白在肺癌、癌旁及远癌组织中的表达情况

FasL蛋白在本组32例肿瘤标本中存在不同程度的阳性表达,FasL蛋白弥漫性的分布于肿瘤细胞的胞浆及细胞膜表面,

作者简介:林一丹(1973-),男,四川省乐山市人,硕士,医师,主要从事胸部肿瘤免疫方面的研究,发表论文5篇。电话:(023)68757241

收稿日期:2001-01-06;修回日期:2001-03-01

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

阳性表达百分数为 3.0% ~ 98.7%, 平均(62.0±32.0)%, 其中阳性表达百分数在 10%以上者 29 例(占 96.7%), 60%以上者 20 例(占 62.5%), 80%以上者 16 例(占 50.0%)。我们还在部分癌旁及远癌组织的支气管管腔被覆上皮细胞的顶端(即上皮细胞朝向支气管管腔一侧的胞浆和胞膜)以及个别肺泡上皮细胞的胞浆中观察到 FasL 阳性表达。

2.2　FasL 蛋白表达水平与 NSCLC 组织学类型的关系

本组腺癌 11 例, FasL 阳性表达百分数为 25.7% ~ 98.7%, 平均(80.5±21.2)%; 鳞癌 21 例, FasL 阳性表达百分数为 3% ~ 96.4%, 平均(52.3±32.8)%, Wilcoxon 检验提示 FasL 蛋白在肺腺癌中的表达水平显著高于肺鳞状细胞癌($P<0.05$)。

2.3　FasL 蛋白表达水平与 NSCLC 分化程度的关系

本组中-高分化癌 18 例, FasL 蛋白阳性表达百分数 4% ~ 98.2%, 平均(62.3±34.2)%, 低分化癌 14 例, FasL 蛋白阳性表达百分数 3.0% ~ 96.4%, 平均(61.6±30.2)%, Wilcoxon 检验提示 FasL 蛋白在不同分化程度的肺癌中表达差别不显著($P>0.05$)。

2.4　FasL 蛋白表达水平与 NSCLC pTNM 分期的关系

本组 I 期肺癌 16 例, FasL 蛋白阳性表达百分数 3.0% ~ 96.4%, 平均(55.4±33.6)%; II 期肺癌 7 例, FasL 蛋白阳性表达百分数 25.7% ~ 98.7%, 平均(73.4±25.4)%; III期肺癌 9 例, FasL 蛋白阳性表达百分数 4.0% ~ 98.7%, 平均(64.8±34.1)%。Kruskal-Wallis 检验提示 FasL 蛋白在不同 pTNM 分期的肺癌中表达差别不显著($P>0.05$)。

3　讨论

我们通过免疫组织化学方法研究并发现 FasL 蛋白在国人 NSCLC 中高度表达。FasL 为 TNF 家族成员, 其受体为 Fas, 当两者结合后就会导致 Fas 阳性的靶细胞凋亡。FasL-Fas 凋亡途径介导多种细胞的凋亡, 是调控细胞生死的重要机制[4], 它还对维持机体免疫系统的自稳态起重要作用[5], 并是细胞毒性 T 细胞发挥杀伤作用的重要途径[6]。现已证实, 角膜和睾丸组织表达 FasL, 并能通过 FasL-Fas 凋亡途径促使浸润淋巴细胞凋亡, 从而使上述器官成为免疫特赦(Immune privilege)部位[7]。最近研究发现在人类的一些肿瘤, 如黑色素瘤、食管癌、结肠癌、脑星形细胞瘤等, 的细胞膜表面和细胞浆中 FasL 高度表达[2,8~10], 但体外实验证实肿瘤表达的 FasL 并不能介导肿瘤细胞自身凋亡, 相反却能通过 FasL-Fas 凋亡途径杀伤 Fas 阳性的肿瘤浸润免疫细胞。这揭示了一种新型的肿瘤免疫逃避机制, 即肿瘤反杀伤(Counterattack)机制, 它使得肿瘤成为一个免疫特赦部位[2,8~11]。已证实免疫效应细胞被激活后其细胞表面 Fas 表达上调, 使得激活的免疫细胞更易发生 FasL 诱导的细胞凋亡以维持免疫系统的自稳态[5]。据此我们推测, 当 FasL 高度表达于肿瘤细胞表面时可能使这些激活的免疫细胞更易受到肿瘤细胞的反杀伤, 从而导致抗肿瘤免疫下降。肿瘤细胞表达 FasL 对免疫系统的影响可能不仅限于肿瘤局部, 已在白血病和某些淋巴瘤患者的血液中检测出可溶性 FasL, 它们是否能够造成患者全身免疫能力下降有待进一步研究。

与所有恶性肿瘤一样, 肺癌的发生、发展和转移亦须免疫逃避机制的参与, 最近研究发现 FasL 在肺癌中高度表达, 提示肺癌具有反杀伤免疫细胞的能力, 是一种新发现的肺癌免疫逃避机制。已发现在 PC9、EBC-1、QG90、H1299、H157 等 27 种人类鳞癌、腺癌、腺鳞癌、小细胞肺癌以及大细胞肺癌的细胞系中 FasL 蛋白及 mRNA 高度表达。Niehans 等[12] 检测 28 例手术切除的 NSCLC 标本, 其中 23 例(占 82.1%)FasL 蛋白阳性表达百分数在 10%以上; 但体外实验发现 FasL-Fas 途径并不介导肺癌细胞自身凋亡[13], 相反却能够反杀伤 Fas 阳性的浸润淋巴细胞, 并且这种反杀伤作用能够被 FasFc(一种 FasL 拮抗分子)所阻抑[12]。为研究国人 NSCLC 是否亦表达 FasL 蛋白从而具备反杀伤浸润免疫细胞的分子基础, 我们通过免疫组织化学方法研究了 FasL 蛋白在国人 NSCLC 的表达情况, 结果表明 FasL 蛋白在国人 NSCLC 中高度表达, 平均阳性表达百分数为(62.0±32.0)%, 有 50%(16/32)的病例阳性表达百分数在 80%以上。结合其他学者的研究成果我们认为, FasL 蛋白在人类肺癌中的高度表达是一种普遍现象, 其意义在于协助肿瘤细胞反杀伤免疫活性细胞, 造成肿瘤局部乃至全身免疫力下降, 从而促进肿瘤的发展和转移, 并且也是导致肿瘤免疫治疗效果不佳的原因之一。

肿瘤转移是涉及多种机制的复杂过程, 包括免疫逃避、血管生成、瘤细胞粘附等, 但不同起源或不同病理类型的肿瘤发生转移时所依赖的机制并不完全相同或各有侧重。Sikora 等[14] 发现与肺鳞状细胞癌相比, 血管生成在肺腺癌发生转移时起更加重要的作用。Shiraki 等[15] 发现结肠腺癌肝转移灶中 FasL 蛋白表达显著高于结肠腺癌原发灶, 认为腺癌借助其高度表达的 FasL 杀伤正常的肝细胞, 为腺癌在肝脏中的生长创造有利条件。我们的研究发现 FasL 蛋白在肺腺癌中的表达显著高于在肺鳞状细胞癌中的表达, 前者平均阳性表达百分数为(80.5±21.2)%, 后者为(52.3±32.8)%, 因而推测这可能是肺腺癌更易发生早期转移的原因之一。

我们还观察到 FasL 蛋白可集中表达于部分正常支气管腔面被覆上皮细胞的顶端, 但在肺鳞状细胞癌和腺癌细胞中 FasL 蛋白则弥漫性的表达于肿瘤细胞的胞浆和胞膜表面。Nakamura 等[16] 发现 FasL 蛋白在唾液腺腺腔上皮顶端表达, 认为 FasL 蛋白的这种表达方式对腺上皮细胞起保护作用。我们认为气管、支气管是一个开放性的器官, FasL 蛋白表达于支气管腔面被覆上皮的顶端可能对上皮细胞起保护作用。但是, 为什么 FasL 蛋白在肺癌细胞中的表达方式不同于正常支气管上皮细胞? 其意义何在? 值得进一步研究。本研究尚未发现 FasL 蛋白表达水平与肺癌的分化程度或 pTNM 分期相关, 但有报道在肾细胞癌中发现

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

FasL在转录水平的表达与肿瘤的分期和分化程度相关[17]。NSCLC中FasL在转录水平的表达情况如何？FasL基因有否突变或扩增等改变？等一系列问题值得进一步研究。

参考文献：

[1] Mountain C F, Dresler C M. Revisions in the international system for staging lung cancer[J]. Chest, 1997, 111(6): 1 710—1 717.

[2] Bennett M W, O'Connell J, O'Sullivan G C, *et al*. The Fas counterattack *in vivo*: apoptotic depletion of tumor-infiltrating lymphocytes associated with Fas ligand expression by human esophageal carcinoma[J]. J Immunol, 1998, 160(11): 5 669—5 675.

[3] 郭祖超 主编. 医学统计学[M]. 北京: 人民军医出版社, 1999. 63—75.

[4] Nagata S, Golstein P. The Fas death factor[J]. Science, 1995, 267(5 203): 1 449—1 456.

[5] Lenardo M, Chan F K, Hornung F, *et al*. Mature T lymphocyte apoptosis-immune regulation in dynamic and unpredictable antigenic environment[J]. Annu Rev Immunol, 1999, 17(1): 221—253.

[6] Berke G. The CTL's kiss of death[J]. Cell, 1995, 81(1): 9—12.

[7] Chen J J, Sun Y, Nabel G J. Regulation of the proinflammatory effects of Fas ligand (CD95L)[J]. Science, 1998, 282(5 394): 1 714—1 717.

[8] Hahne M, Rimoldi D, Schroter M, *et al*. Melanoma cell expression of Fas (Apo-1/CD95) ligand: implications for tumor immune escape[J]. Science, 1996, 274(5 291): 1 363—1 366.

[9] 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): 1 075—1 082.

[10] Saas P, Walker P R, Hahne M, *et al*. Fas ligand expression by astrocytoma *in vivo*: maintaining immune privilege in the brain[J]? J Clin Invest, 1997, 99(6): 1 173—1 178.

[11] 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.

[12] Niehans G A, Brunner T, Frizelle S P, *et al*. Human lung carcinomas express Fas ligand[J]. Cancer Res, 1997, 57(6): 1 007—1 012.

[13] Kawasaki M, Kuwano K, Nakanishi Y, *et al*. Analysis of Fas and Fas ligand expression and function in lung cancer cell lines[J]. Eur J Cancer, 2000, 36(5): 656—663.

[14] Sikora J, Slodkowska J, Radomyski A, *et al*. Immunohistochemical evaluation of tumor angiogenesis in adenocarcinoma and squamous cell carcinoma of lung[J]. Rocz Akad Med Bialymst, 1997, 42(Suppl 1): 271—279.

[15] Shiraki K, Tsuji N, Shioda T, *et al*. Expression of Fas ligand in liver metastases of human colonic adenocarcinomas[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1997, 94(12): 6 420—6 425.

[16] Nakamura H, Koji T, Tominaga M, *et al*. Apoptosis in labial salivary glands from Sjogren's syndrome (SS) patients: comparison with human T lymphotropic virus-I (HTLV-I)-seronegative and-seropositive SS patients[J]. Clin Exp Immunol, 1998, 114(1): 106—112.

[17] 魏金星, 武玉东, 刘会凡, 等. Fas配体基因在肾细胞癌中的表达及其意义[J]. 中华实验外科杂志, 2000, 17(3): 215—216.

（编辑 谢义霞）

个案与短篇

文章编号：1000-5404(2001)05-0532-01

宫腔镜对难取性宫内节育器的诊断和治疗分析

Analysis on the diagnosis and treatment of patients undergoing difficult removal of interuterine device by hysteroscope

钟 玲，付杰科，况明英 （重庆医科大学附属二院妇产科，重庆 400010）

难取性宫内节育器（Intrauterine device, IUD）是临床上常见的一种安环术后并发症。如强行盲取，容易造成宫环断裂、扭曲，甚至可以造成宫颈、子宫内膜的损伤，给置IUD妇女带来痛苦及心理障碍。宫腔镜下直视取环，可以避免盲目性，同时可了解宫腔内有无病变，对围绝经期及绝经后妇女的IUD更显示其优越性。现将我院宫腔镜应用于难取性IUD的临床资料报告如下。

1 资料与方法

1997年2月至2000年8月在外院及本院常规取环失败，经B超或X线检查，怀疑嵌顿、断裂、残留，而后在我院用宫腔镜取环者43例，其中常规取环失败一次的有26例，失败两次的有11例，失败三次的有6例；生育期妇女10例，围绝经期妇女24例和绝经期妇女9例，绝经年限1～10年。取环原因多为不规则阴道出血。

采用日本奥林巴斯7 mm直径全景式宫腔镜，带电视显示系统，膨宫介质用5%葡萄糖液，膨宫压力15～20 kPa。术前半小时给阿托品0.5 mg肌肉注射，消毒准备同宫腔操作，术时用2%的利多卡因5 ml分3:00、9:00处作宫颈封闭，用宫颈扩张器扩宫颈至7.5号，宫腔镜检查了解IUD的类型，在宫腔的位置、断裂部位、嵌顿情况、宫腔内有无病变等状况，再用取环钩或妇科钳、小卵圆钳取出IUD，取环后再次用宫腔镜视察宫腔有无环残留，同时取宫内膜送病理检查。

2 结果

2.1 宫腔镜检查所见IUD类型与状态

本组病例中非金属环8例，其中T型环3例，硅胶鱼型环5例。金属环35例，其中圆环27例，宫型环8例。金属环在宫腔内形态位置正常的有14例，嵌顿扭曲有9例，断裂9例，部分残

（下转535页）

作者简介：钟 玲（1957－），女，四川省隆昌县人，副主任医师，主要从事妇科内窥镜临床应用方面的研究。电话：(023)63849075-2071

收稿日期：2000-01-15；修回日期：2000-03-17

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net