

[文章编号] 1007-385X(2003)02-0154-03

## 以 TRAIL 为靶点的肿瘤生物治疗研究

庄国洪 综述, 朱 迅 审阅 (吉林大学基础医学院免疫教研室, 长春 130021)

[摘要] TRAIL 是 TNF 家族的新成员, 目前已经确认 TRAIL 有两类受体: 死亡受体及“诱骗”受体, 其中 TRAIL 通过与死亡受体结合而诱导靶细胞凋亡, 这种凋亡作用具有选择性。TRAIL 可以大量、快速地杀伤肿瘤细胞, 而人体的正常细胞对 TRAIL 诱导的凋亡耐受, 这一特性为肿瘤的治疗提供新的靶点。本文就 TRAIL 及其受体, TRAIL 诱导凋亡的机制以及影响凋亡的因素和途径, 以 TRAIL 为靶点的肿瘤治疗的研究现状作一全面综述, 为肿瘤生物治疗提供新的方法和途径。

[关键词] TRAIL; 肿瘤; 治疗

[中国分类号] R730.5 [文献标识码] A

TNF 相关的凋亡诱导配体 (TNF related apoptosis inducing ligand, TRAIL) 属于 II 型跨膜蛋白质, 是 Wiley 等<sup>[1]</sup>从人心肌 cDNA 文库中克隆出来的, 因其氨基酸顺序具有 TNF 超家族的结构特征, 并能诱导 Jurkat 细胞, EB 病毒转化的人类淋巴细胞凋亡而得名。TRAIL 具有大量、快速诱导凋亡的作用, 并且, 仅诱导转化细胞、肿瘤细胞、病毒感染细胞发生凋亡, 正常细胞逃逸其杀伤作用。这一特性预示着它在治疗病毒感染以及肿瘤患者中广阔的应用前景。

### 1 TRAIL 及其受体

人类 TRAIL 基因定位在染色体 3q26, cDNA 全长 1.05 kb, 编码 281 个氨基酸, 鼠 TRAIL 基因可编码 291 个氨基酸, 与人类有 65% 的同源性<sup>[1]</sup>。TRAIL 蛋白分子量是 32.5 kD, 其功能部位是胞膜外区第 119 ~ 241 位氨基酸, 其中第 230 位有一个不配对的半胱氨酸 (C230), 这是一个重要的功能基团。TRAIL 可以在许多组织中表达, 如胎盘、胎儿肺、肝、肾等组织及成人的脾、胸腺、前列腺、卵巢、小肠、结肠、心肌、肺、骨骼肌、甲状腺等组织和活化的外周血淋巴细胞。多种刺激因子可诱导 TRAIL 的表达: 丝裂原、CD3McAb、细胞因子, 尤其是当 IFN 与 CD3McAb 共同刺激时, TRAIL 的表达量增加; 葡萄球菌等细胞毒素、肠毒素能诱导组织、细胞表达 TRAIL; Halaas 等研究表明脂多糖能促进人类单核细胞和巨噬细胞的 TRAIL 的表达。

目前已经确认了 TRAIL 的 5 种不同受体, 它们均定位在人类第 8 号染色体。根据功能不同分为: ①死亡受体 (death receptor, DR), 包括 TRAIL-R1 (DR4), TRAIL-R2 (DR5), 均含死亡结构域并能向细胞内传递死亡信号, 当 TRAIL 与 DR 结合时可以诱导细胞死亡。②“诱骗”受体 (decoy receptor, DcR), 包括 TRAIL-R3 (DcR1) 和 TRAIL-R4 (DcR2), DcR1 和 DcR2 的胞外区均由 2 个与 DR4、DR5 高度同源的富含半胱氨酸的重复序列, 能与 TRAIL 结合, 但 DcR1 缺少含有死亡结构域的胞浆区; DcR2 的胞膜内的死亡结构域不完整, 呈无功能的截断状态。因此, DcR1 和 DcR2 与 TRAIL 结合后不

能传导凋亡信号, 当 TRAIL 与 DcR 结合时可以逃逸 TRAIL 诱导的凋亡。③OPG (Osteoprotegerin), 一种分泌性蛋白质, 主要作用是减少破骨细胞的数量, 增加骨密度促进骨质沉积。Emry 认为 OPG 与 TRAIL 之间可能存在相互调节的机制, 因此, OPG 可以认为是 TRAIL 的一种受体, 其作用机制有待进一步研究。

### 2 TRAIL 诱导凋亡的机制以及影响凋亡的因素及途径

#### 2.1 TRAIL 诱导凋亡的机制

目前对 TRAIL 诱导的凋亡通路还没有完全搞清, 研究表明, TRAIL 通过 2 条不同的信号通路调控凋亡, 其一是通过 caspase 传导凋亡信号, 其二是通过活化 NF- $\kappa$ B 进行基因诱导调控。

死亡受体 DR4 或 DR5 通过其胞外区与结构域结合并活化后, 其胞内的死亡结构域相互聚集, 并进一步通过同嗜作用募集结合器蛋白 (参与 TRAIL 诱导的凋亡是哪种结合器蛋白目前尚无定论), 结合器蛋白接受死亡受体传递的凋亡信号后, 将引起胞内 caspase 的前体即 procaspase 在其末端的局部募集和串联结合, 从而形成“TRAIL-DR4、DR5-接头蛋白-procaspase 分子”大分子复合体, 即凋亡酶体 (apoptosome)。凋亡酶体形成后, 其分子中的 procaspase 通过自身水解而成为有活性的 caspase, 并进一步激活 caspase 级联反应。

#### 2.2 影响 TRAIL 作用的因素及途径

由于一些肿瘤对 TRAIL 耐受或敏感度低, 大大限制了 TRAIL 的应用范围, 所以针对其机制及影响因素进行了研究, 现已证实多种因素可影响 TRAIL 的功能活性。

##### 2.2.1 TRAIL 受体

感染 CMV、呼肠病毒等可以通过上调 DR4 和 DR5 的表达等途径, 大大增强病毒感染细胞对 TRAIL 的敏感性。因此, TRAIL 选择性杀伤病毒感染细胞而保持非感染细胞的完整性, INF- $\gamma$  以通过上调 TRAIL 和 TRAIL-R 的表达强化这一效应。

##### 2.2.2 caspase

Clarke 等<sup>[2]</sup>证实呼肠弧病毒通过 caspase-8 途径诱导人乳腺、肺、子宫癌细胞株凋亡。呼肠弧病毒感染可以协同, 特异性敏感 TRAIL 对肿瘤的杀伤, 使耐受的肿瘤细胞对 TRAIL 敏感; 使敏感性的细胞对 TRAIL 的需要量减少。

TRAIL 通过激活效应 caspase 对白血病细胞诱发细胞毒性而直接诱导凋亡; 通过刺激 NO 的产生介导细胞循环异常, 两种机制对 TRAIL 介导细胞毒性都是基本的。

### 2.3 线粒体

deAlmodovar 等<sup>[3]</sup>证实在人乳腺癌细胞株(MCF-7), TRAIL 通过线粒体途径诱导 MCF-7 的凋亡, 其过程包括细胞色素 C 的释放及 caspase-9 的激活。

Gibson 等<sup>[4]</sup>论述内皮生长因子通过激活上皮细胞 AKT 抑制线粒体释放细胞色素 C 而保护胚胎肾细胞 HEK293, 乳腺癌细胞 MDA, MB231 免受 TRAIL 诱导的凋亡。

### 2.4 FLIP

FLIP (FLICE-inhibitory protein) 是 caspase 活性抑制剂, 它通过与 caspase-8 竞争性结合凋亡通路上的接合器蛋白分子, 封闭凋亡通路, 阻止 caspase 活化, 从而使细胞逃避 TRAIL 诱导的凋亡。

Olsson 等<sup>[5]</sup>经分析证实慢性 B 淋巴细胞白血病(B-CLL) 细胞尽管有死亡受体表达却相对耐受 TRAIL 的凋亡作用, 而放线菌素 D 通过下调 FLIP 表达, 增加 B-CLL 对 TRAIL 敏感性。提示在 B-CLL 可能有 FLIP 调控 TRAIL 介导的凋亡。

### 2.5 抗凋亡蛋白

Park 等<sup>[6]</sup>研究缺氧对 TRAIL 诱导凋亡的影响时证实: 缺氧增加实体肿瘤中抗凋亡蛋白家族成员 Bcl-2, Bcl-XL, IAP 的表达。这将作为调节 TRAIL 治疗癌症的方法。Bcl-XL 抑制 TRAIL 对胰腺癌细胞的杀伤。

de Almodovar 等<sup>[3]</sup>研究表明 MCF-7 细胞株对 TRAIL 诱导凋亡的耐受性取决于 Bcl-2 的表达水平, 提高 Bcl-2 在肿瘤细胞的表达可以使其对化疗药物及 TRAIL 敏感性降低。

### 2.6 NF- $\kappa$ B

抑制 TRAIL 诱导的 NF- $\kappa$ B 活化可增强 TRAIL 诱导的凋亡, 并减弱细胞对 TRAIL 诱导凋亡的抵抗力。

NF- $\kappa$ B 的抑制剂如 SN50, 蛋白酶抑制剂 PS-341(目前已进入 II 期临床试验)也可以提高 TRAIL 对 MM(multiple myeloma, MM) 的凋亡作用。

## 3 以 TRAIL 为靶点的肿瘤治疗研究

现有的研究证实, TRAIL 对于大多数来自骨髓、前列腺、乳腺、肺、肾、脑和皮肤的恶性肿瘤中的细胞有抑制细胞生长和细胞毒效应, 而人体的正常细胞对 TRAIL 诱导的凋亡耐受。

Mitsiades 等<sup>[7]</sup>用 TRAIL 可诱导对类固醇及化疗敏感/抵抗的 MM 细胞株凋亡。

Choi 等<sup>[8]</sup>研究表明 TRAIL 诱导人神经胶质瘤细胞株(CRT-MG, U87-MG) 凋亡。

### 3.1 以 TRAIL 为靶点的制剂的研究现状

由于 TRAIL 选择杀伤肿瘤的特性, 人们已经研制成功多种形式的重组 TRAIL 蛋白。

3.1.1 重组 TRAIL 蛋白: (1) Waleczak 等<sup>[9]</sup>构建了亮氨酸拉链-TRAIL 重组体(lz-huTRAIL, Lz-muTRAIL), 包含 TRAIL 的细胞外序列 95~281 氨基酸, 给非人的灵长类动物连续注射可溶性 Lz-huTRAIL。第 7~9 天没有检测到抗体应答。人的 lz-huTRAIL 对人 Jurkat 细胞更敏感并可诱导人乳腺癌 MDA-231 凋亡, 对正常乳腺上皮细胞及其它正常组织细胞无杀伤性。体内注射 lz-huTRAIL 没发现可以观察到的毒性作用。(2) Ashkenazi 等<sup>[10]</sup>以甲硫氨酸合酶为启动子在大肠杆菌中表达人 TRAIL112~281 氨基酸。连续系统的给猕猴注射大量的此种 TRAIL 后检测临床, 组织病理学的指标未发现异常的改变。TRAIL 在灵长类动物中的安全使用是这一制剂应用于人类的关键性的进步。

### 3.1.2 抗 DR 蛋白

Ichikawa 等<sup>[11]</sup>制备 DR5 的特异单克隆抗体 TRA-8(通过用包含人 DR5 的外源序列和人 DR5-Ig 的 Fc 段的融合蛋白免疫 BALB/c 小鼠而制备)。TRA-8 只与 DR5 特异的结合, TRA-8 对正常肝细胞没有凋亡作用, 而原发性及转移性肝细胞癌对 TRA-8 敏感。所以提高 DR5 在细胞表面的表达及细胞对 DR5 介导凋亡的敏感性是肿瘤治疗的有效方案。

### 3.1.3 基因治疗

Wu 等<sup>[12]</sup>构建了异亮氨酸拉链-TRAIL 重组体(人 Flt3L 基因在 5'端, 人 TRAIL 基因在 3'端), 用 hFlex-TRAIL 处理带有乳腺癌的荷瘤鼠癌组织, 可使乳腺癌组织消退, 并且出现肿瘤的剂量依赖性生长抑制和肿瘤的清除。

Wei 等<sup>[13]</sup>构建了质粒 pRevTRE-TRAIL, 并通过逆转录病毒将质粒导入胃癌细胞株 NCL-N87, 可以检测 TRAIL 在胃癌细胞株的体外表达以及对胃癌细胞株的杀伤。

Griffith 等<sup>[14]</sup>用复制区缺陷的腺病毒转录人 TNFSF10(Ad5-TRAIL), 并用于前列腺癌细胞, 结果发现对 TRAIL 敏感的前列腺癌细胞感染 Ad5-TRAIL 后出现凋亡, 而正常前列腺上皮细胞不被杀伤; 把 Ad5-TRAIL 注入到荷瘤鼠体内发现人前列腺癌移植部位生长抑制。

### 3.2 TRAIL 与其它药物的联合应用

由于存在对 TRAIL 耐受及敏感性低的肿瘤类型, 限制了它的应用。为了解决这一问题, 人们探索 TRAIL 与其它药物联合使用以提高肿瘤对 TRAIL 治疗的敏感性, 已经取得了一定的进展。

#### 3.2.1 与化疗药物的应用

Jazirh 等<sup>[15]</sup>发现联合应用 TRAIL 与阿霉素可以使 MM 8226/Dox40 细胞株对 TRAIL 的凋亡作用敏感。

Voelket-Johnson 等<sup>[16]</sup>发现 10 ng/ml TRAIL 与阿霉素联合使用可使 8 例前列腺癌细胞株 7 例达到 60%~80% 的杀伤。由腺病毒载体表达全长 TRAIL(AdTRAIL-IRES-GFP) 杀前列腺细胞株和 PrEC 不需要阿霉素协同。

Mizutan 等<sup>[17]</sup>试验发现肾细胞癌对单独使用细胞毒性抗癌药及免疫疗法的反应性很低, 联合应用 TRAIL 和 5-FU 可

以产生协同细胞毒效应,当两者同时应用于 Caki-1 细胞时  
可以观察到最高的细胞毒作用。

### 3.2.2 与离子射线的应用

Zisman 等<sup>[18]</sup>等证实在对 TRAIL 有抵抗性的前列腺癌细  
胞株 CL-1, LNCaP, DU-145, PC3 中加入放线菌素 D 培养,可  
以改变前列腺癌对 TRAIL 的抵抗性,使其对 TRAIL 的凋亡  
作用敏感。为转移性及药物难治性前列腺癌提供新的治疗  
方案。

### 3.2.3 与激素的应用

Mifepristone 是一种抗孕激素,单独及与抗雌激素联合使  
用可以诱导细胞死亡,治疗一些 hormonal 癌。Sridhar 等<sup>[19]</sup>  
证实 TRAIL 与 Mifpristone 联合应用可以诱导前列腺癌细胞大  
量凋亡。

### 3.2.4 与细胞因子的应用

Toomy 等<sup>[20]</sup>分析一系列 AIDS 淋巴瘤发现:INF- $\alpha$  可以  
选择性诱导 TRAIL 在 HHV-8 阳性的 PEL 细胞株表达。这是  
第一次论述 INF- $\alpha$  可以在恶性肿瘤内诱导有功能的 TRAIL  
表达以发挥影响肿瘤的自杀作用。

Sohn 等<sup>[21]</sup>研究发现 IL-10 在乳腺癌退化阶段募集淋巴  
细胞,诱导 TRAIL 和 DR4 表达。

### 3.2.5 与丁酸盐的应用

Hernandez 等<sup>[22]</sup>发现用丁酸盐治疗 24, 48 h 可以使对  
TRAIL 耐受的结肠癌细胞株降低 FLIP 的表达,并且使细胞  
株对 TRAIL 治疗敏感。

## 4 展 望

虽然对 TRAIL 的作用机制以及在肿瘤治疗方面的研究  
已经取得很大成绩,但是还有许多空白领域有待于继续探  
索。根据配体受体相互作用的位点合理设计的药物是很有  
前途的,TRAIL 与 DR5 的晶体结构已经弄清楚为这种合理  
的小分子药物设计开辟新的治疗途径。

### [ 参 考 文 献 ]

[ 1 ] Wiley SR, Schooley K, Smolak PJ, *et al.* Identification and char-  
acterization of new membe of the TNF family that induces apoptosis  
[ J ]. *Immunity*, 1995, 3 ( 6 ): 673-682.

[ 2 ] Clarke P, Meintzer SM, Spalding AC, *et al.* Caspase8-dependent  
sensitization of cancer cells to TRAIL-induced apoptosis following  
reovirus-infection[ J ]. *Oncogene*, 2001, 20( 47 ): 6910-6919.

[ 3 ] de Almodovar CR, Ruiz-Ruiz C, Munoz-Pinedo C, *et al.* The dif-  
ferential sensitivity of Bcl-2-overexpressing human breast tumor  
cells to TRAIL or doxorubicin -induced apoptosis is dependent on  
Bcl-2 protein levels[ J ]. *Oncogene*, 2001, 20 ( 48 ): 7128-7133.

[ 4 ] Gibson EM, Henson ES, Haney N, *et al.* Epidermal growth factor  
protects epithelial-derived cells from tumor necrosis factor-related  
apoptosis-inducing ligand -induced apoptosis by inhibiting cyto-  
chrome c release [ J ]. *Cancer Res*, 2002, 62 ( 2 ): 488-496.

[ 5 ] Olsson A, Diaz T, Aguilar-Santelises M, *et al.* Sensitization to  
TRAIL- induced apoptosis and modulation of FLICE-inhibitory pro-  
tein in B chronic lymphocytic leukemia by actinomycin D [ J ]. *Leu-  
kemia*, 2001, 15( 12 ): 1868-1877.

[ 6 ] Park SY, Billiar TR, Seol DW. Hypoxia inhibition of apoptosis in-  
duced by tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand

( TRAIL ) [ J ]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2002, 291( 1 ):  
150-153.

[ 7 ] Mitsiades N, Mitsiades CS, Poulaki V, *et al.* Concepts in the use  
of TRAIL/Apoan emerging biotherapy for myeloma and other neo-  
plasia[ J ]. *Expert Opin Investig Drugs*, 2001, 10 ( 8 ): 1521-  
1530.

[ 8 ] Choi C, Kutsch O, Park J, *et al.* Tumor necrosis factor -related  
apoptosis-inducing ligand induces caspase-dependent interleukin-8  
expression and apoptosis in human astrogloma cells [ J ]. *Mol Cell  
Biol*, 2002, 22( 3 ): 724-736.

[ 9 ] Walczak H, Miller RE, Ariail K, *et al.* Tumoricidal activity of  
tumor necrosis factor-relatedapoptosis-inducing ligand *in vivo*.  
[ J ]. *Nat Med*, 1999, 5( 2 ): 157-163.

[ 10 ] Ashkenazi A, Pai RC, Fong S, *et al.* Safety and antitumor activity  
of recombinant soluble Apo2 ligand [ J ]. *Clin Invest*, 1999, 104  
( 2 ): 155-162.

[ 11 ] Ichikawa K, Liu W, Zhao L, *et al.* Tumoricidal activity of a novel  
anti-human DR5 monoclonalantibody without hepatocyte cytotoxicity  
[ J ]. *Nat Med*, 2001, 7( 8 ): 954-960.

[ 12 ] Wu X, He Y, Falo LD, *et al.* Regression of human mammary ade-  
nocarcinoma by systemic administration of a recombinant gene enco-  
ding the hFlex-TRAIL fusion pritein[ J ]. *Mol Ther*, 2001, 3( 3 ):  
368-374.

[ 13 ] Wei XC, Wang XJ, Chen K, *et al.* Killing effect of TNF-related  
apoptosis inducing ligand regulated by tetracycline on gastric cancer  
cell line NCI-N87 [ J ]. *World J Gastroenterol* 2001, 7( 4 ): 559-  
562.

[ 14 ] Griffith TS, Broghammer EL, Suppression of tumor growth following  
intralesional therapy with TRAIL recombinant adenovirus [ J ]. *Mol  
Ther*, 2001, 4( 3 ): 257-266.

[ 15 ] Jazirehi AR, Ng CP, Gan XH, *et al.* Adriamycin sensitizes the ad-  
rimycin-resistant 8226/Dox40 human multiple myeloma cells to  
Apo2L/tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand-me-  
diated ( TRAIL ) apoptosis [ J ]. *Clin Cancer Res*, 2001, 7 ( 12 ):  
3874-3883.

[ 16 ] Voelkel-Johnson C, King DL, Norris JS. Resistance of prostate  
cancer cells to soluble TNF-related apoptosis -inducing ligand  
( TRAIL/Apo2L ) can be overcome by doxorubicin or adenoviral de-  
livery of full-length TRAIL[ J ]. *Cancer Gene Ther*, 2002, 9( 2 ):  
164-172.

[ 17 ] Mizutan Y, Nakanishi H, Yoshida O, *et al.* Potentiation of the  
sensitivity of renal cell carcinoma cells to TRAIL-mediated apoptosis  
by subtoxic concentration of 5-fluorouracil [ J ]. *Eur J Cancer*,  
2002, 38( 1 ): 17

[ 18 ] Zisman A, Ng CP, Pantuck AJ, Bonavida B, *et al.* Actinomycin D  
and gemcitabine synergistically sensitize androgen-independent  
prostate cancer cells to Apo2L/TRAIL-mediated apoptosis [ J ]. *Im-  
munother*, 2001, 24( 6 ): 459-471.

[ 19 ] Sridahar S, Ali AA, Liang Y, *et al.* Differential expression of  
member of the tumor necrosis factor alpha -related apoptosis -indu-  
cing ligand pathway in prostate cancer cells [ J ] . *Cancer Res*,  
2001, 61( 19 ): 7179-783.

[ 20 ] Toomy NL, Deyev VV, Wood C, *et al.* Induction of a TRAIL-me-  
diated suicide program by interferon alpha in primary effusion lym-  
phoma[ J ]. *Oncogene*, 2001, 20( 48 ): 7019-7040.

[ 21 ] Sohn BH, Moon HB, Kim TY, *et al.* Interleukin-10 up-regulates  
tumor-necrosis-factor-alpha-related apoptosis-inducing ligand  
( TRAIL ) gene expression in mammary epithelial cells at the involu-  
tion stage [ J ]. *Biochem J*, 2001, 360( pt1 ): 31-38.

[ 22 ] Hernandez A, Thomas R, Smith F, *et al.* Butyrate sensitizes hu-  
man colon cancer cells to TRAIL-mediated apoptosis [ J ]. *Surgery*,  
2001, 130 ( 2 ): 265-272.