

靶向 TRAIL 受体的抗肿瘤研究进展

陈淑珍*

(中国医学科学院、北京协和医学院医药生物技术研究所, 北京 100050)

摘要: 细胞凋亡一般分为细胞外途径和细胞内途径。细胞内途径是在线粒体水平启动的细胞死亡, 细胞外途径是通过位于细胞膜的死亡受体传导的细胞死亡信号而引起的细胞凋亡途径。肿瘤坏死因子相关的凋亡诱导配体 (TRAIL) 信号传导通路是指以 TRAIL 为配体, 通过与死亡受体 (DR4, DR5) 结合而启动凋亡信号, 最终诱导细胞凋亡。本文将对 TRAIL 信号传导通路与肿瘤治疗进行综述。

关键词: TRAIL; 死亡受体; 细胞凋亡; 抗肿瘤作用

中图分类号: R963 文献标识码: A 文章编号: 0513-4870 (2009) 12-1336-07

Progress on targeting TRAIL's receptor as antitumor strategy

CHEN Shu-zhen*

(Institute of Medicinal Biotechnology, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100050, China)

Abstract: There exist two major apoptotic signaling pathways: the intrinsic mitochondria-mediated pathway, and the extrinsic death receptor-induced pathway. TNF-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL), which is the ligand for death receptor 4 (DR4) and death receptor 5 (DR5) and induces apoptosis by ligation with DR4 or DR5. We review the characteristic of TRAIL and its receptors, the mechanism of apoptosis induced by TRAIL, the distribution of death receptors in cancer, and applications and prospects of TRAIL signaling pathway in the treatment of cancer.

Key words: TRAIL; death receptor; apoptosis; antitumor activity

细胞凋亡是机体细胞在生理或病理状态下发生的、受到机体严密调控的、自发的、程序化的死亡过程, 是机体胚胎发育和维持组织稳态所必需的^[1]。细胞凋亡一般分为细胞外途径和细胞内途径, 其中细胞内途径是在线粒体水平启动的细胞死亡, 细胞外途径是通过位于细胞膜的死亡受体传导的细胞死亡信号而引起的细胞凋亡途径。TRAIL (TNF-related apoptosis-inducing ligand, 肿瘤坏死因子相关的凋亡诱导配体) 是机体自身合成的一种细胞因子, 其生理功能主要是调节机体的免疫反应。TRAIL 主要通过细胞外凋亡途径诱导细胞凋亡, 但在后期也有线粒体通路的参与。TRAIL 受体是 TRAIL 信号传导通路

的关键组分。TRAIL 信号传导通路是指以 TRAIL 为配体, 通过与死亡受体结合而启动凋亡信号, 最终诱导细胞凋亡。研究表明, TRAIL 及靶向 TRAIL 受体的激动剂型抗体能够选择性地诱导肿瘤细胞凋亡, 而正常组织并不敏感, 因此以 TRAIL 及其受体为靶点的肿瘤治疗已经成为国内外研究的热点。本文将对 TRAIL 的属性和受体、TRAIL 诱导凋亡的分子机制、死亡受体在肿瘤中的分布以及 TRAIL 通路在肿瘤治疗中的应用及前景进行综述。

1 TRAIL 及其受体

1.1 TRAIL 的结构和功能

TRAIL 是 TNF 超家族成员之一, 具有 II 型跨膜蛋白的结构特点, 分子量 33~35 kD。1995 年, Wiley 等从心肌 cDNA 文库中克隆出 TRAIL 基因, 全长 1.05 kb, 定位于 3q26.1-26.2, 编码 281 个氨基酸,

收稿日期: 2009-04-28.

*通讯作者 Tel: 86-10-63024341, Fax: 86-10-63017302,

E-mail: bjesz@yahoo.com.cn

241个氨基酸位于胞膜外,功能部位为119~241位氨基酸残基,N-末端是位于胞浆区的、没有明显信号肽的14个氨基酸残基^[2]。TRAIL的细胞外部分可降解后形成可溶性sTRAIL,无跨膜区和胞浆区,具有生物学活性。TRAIL的细胞外区域能形成钟形同源三聚体,在临近sTRAIL的氨基末端存在一个由12~16个氨基酸残基组成的独特的插入环(与肿瘤坏死因子家族别的成员相对应),3个TRAIL单体的230位半胱氨酸共同构成TRAIL三聚体界面,此界面含有一个锌离子,而半胱氨酸残基和锌离子是维持TRAIL的结构和功能所必需的^[3]。除TRAIL外,肿瘤坏死因子超家族配体的表达受到严密调节,只在活化细胞中瞬时表达;而TRAIL的mRNA广泛存在于周围血单核细胞、脾脏、胸腺、前列腺、卵巢、小肠、结肠和胎盘,而在肝脏、睾丸、大脑中检测不到TRAIL的mRNA^[2]。由于TRAIL可以降解为具有生物学功能的sTRAIL,研究人员在体外对功能性TRAIL肽进行了重组表达,最后获得了不具有外源序列的、在体外重组的可溶性的rTRAIL。

为了确定TRAIL的生理功能,在小鼠中采用了三种主要工具:①靶向小鼠TRAIL的单克隆中和抗体;②可溶性的重组的人类DR5;③TRAIL基因敲除小鼠。现在已经获得TRAIL及其受体的基因敲除小鼠,敲除小鼠不存在明显的发育缺陷。但是,与正常小鼠相比,TRAIL受体基因敲除(TRAIL-R(-/-))的小鼠具有较强的先天性免疫反应;TRAIL基因敲除小鼠出现记忆性细胞自稳态方面的异常。在肿瘤的免疫监视中,TRAIL的单克隆中和抗体能够促进三甲基胆蒽诱导的小鼠肿瘤的形成。与对照组相比较,三甲基胆蒽更容易诱导TRAIL基因敲除的小鼠发生肿瘤。对自身免疫性疾病而言,TRAIL具有双重功能:抑制或促进自身免疫性疾病的进展,抑制或促进作用是由TRAIL表达的时间、表达量和表达的区域所决定的。而且,研究表明,患有肿瘤、自身免疫和感染性疾病的病人血浆内可溶性TRAIL的水平较高^[4]。TRAIL的表达可能与肿瘤、自身免疫和感染性疾病相关,但这种相关性需要进一步研究。

1.2 TRAIL受体的分类、结构和功能

TRAIL受体属于肿瘤坏死因子受体超家族,包括TRAILR1-4和OPG,按结构功能不同分为死亡受体和诱捕受体两大类。TRAILR1-4的基因位于人类染色体8p21-22,组成一个紧密排列的基因簇,而OPG基因也位于人类8号染色体8q23-24^[5]。这两类受体的胞外区具有高度的同源性,但诱捕受体胞内

区缺失,下面就这两类受体分别进行综述。

1.2.1 死亡受体

死亡受体是指TRAIL-R1和TRAIL-R2,因它们含有死亡结构域又称为死亡受体4(DR4)和死亡受体5(DR5)^[6]。死亡受体能与TRAIL结合而诱导细胞凋亡,又称为TRAIL的功能型受体。TRAIL-R1(DR4)是含有468个氨基酸残基的I型跨膜蛋白质,其中信号肽序列含有23个氨基酸残基,细胞外结构域含有226个氨基酸残基,跨膜片段只含有19个氨基酸残基,胞浆结构域由220个氨基酸残基组成,具有2个富含半胱氨酸残基的基序。DR4分布广泛,不仅周围血单核细胞、脾脏、胸腺、前列腺、卵巢、小肠、结肠和胎盘能检测到DR4的表达,而且在肝脏、睾丸、大脑中也存在此受体。

TRAIL-R2(DR5)也属于I型跨膜蛋白,它由411个氨基酸残基构成,其中信号肽序列较大,含有51个氨基酸残基,胞外区为132个氨基酸残基,跨膜域含有22个氨基酸残基,胞浆结构域为206个氨基酸残基,也存在2个富含半胱氨酸的基序,DR5的表达分布与DR4的表达类似^[7]。

1.2.2 诱捕受体

诱捕受体包括TRAIL-R3(又称为诱捕受体1,decoy receptor 1, DcR1)、TRAIL-R4(又称为诱捕受体2,decoy receptor 2, DcR2)、OPG。

TRAIL-R3(又称为DcR1/LIT/TRID/TNFRSF10C)是能够与TRAIL结合的第3个受体。它由299个氨基酸残基构成,包含23个氨基酸残基的信号肽序列、217个氨基酸残基的胞外结构域和19个氨基酸残基的跨膜结构域,与DR4和DR5的结构类似,在它的胞外结构域中存在2个富含半胱氨酸残基的基序,DcR1缺乏胞浆结构域,因而通过一个GPI连接子与细胞结合,对死亡受体诱导的凋亡起着拮抗作用。当DcR1过表达时,对TRAIL诱导的凋亡产生耐受,而当采用磷脂酶C去除DcR1的作用后,细胞对TRAIL引起的细胞毒作用变得更为敏感,但是这种拮抗作用的机制还不明确。DcR1的表达非常有限。

TRAIL-R4(又称为DcR2/TRUNDD/TNFRSF10D)是第4个TRAIL受体,其功能与DcR1相似,对TRAIL诱导的凋亡具有保护作用。DcR2具有跨膜结构域和被剪切的死亡结构域,从而使其不具备诱导凋亡的作用。DcR2的表达和分布与DR4、DR5、TRAIL一样广泛。据报道,对TRAIL敏感的细胞系,在mRNA水平并不表达DcR2,如果在TRAIL敏感的细胞系内导入DcR2,那么此细胞系对TRAIL诱导

的凋亡变得耐受^[8]。DcR2 的这种凋亡保护机制还未阐明。

骨保护素 (osteoprotegerin, OPG) 是第 5 个被发现的 TRAIL 受体, 同时也是第 3 个诱捕受体, 属于可溶性肿瘤坏死因子超家族成员之一, 其作用主要是抑制 RANKL 刺激的成骨细胞的形成, 它也能与 TRAIL 结合, 但这种结合相对于别的 TRAIL 受体而言相当弱。OPG 能够以自分泌或旁分泌的方式释放, 与 TRAIL 结合后促进前列腺癌细胞和多发性骨髓瘤细胞的生长, OPG 在某些情况下以成活因子的形式与 TRAIL 结合。

2 TRAIL 诱导凋亡的分子机制及其受体在肿瘤中的分布

2.1 TRAIL 诱导凋亡的分子机制

由于 DR4 和 DR5 是 TRAIL 的功能性受体, TRAIL 与 DR4、DR5 结合并活化形成三聚体, 募集死亡结构域连接蛋白 FADD (Fas associated death domain protein), 从而启动凋亡信号。FADD 的 C-末端含有一个死亡结构域, N-末端为死亡效应结构域, 而死亡效应结构域是 FADD 募集此通路下游蛋白分子的关键分子。FADD 通过死亡效应结构域募集 pro-caspase-8 到 DR4 和 DR5 的受体复合物上, 形成死亡诱导信号复合体 (death inducing signaling complex, DISC), 在此水平上 pro-caspase-8 自我剪切活化为活性 caspase-8, DISC 的形成是 TRAIL 诱导凋亡的关键步骤。另外, GTP 结合连接蛋白 DAP3 能够与死亡受体的死亡结构域和 FADD 的死亡效应结构域相结合, 因此 DAP3 可能参与 DISC 的组装。根据 CD95 信号通路激活后 caspase-8 和 caspase-3 活化时间的不同, 研究人员将细胞分为 I 型细胞 (如 SKW6.4、H9) 和 II 型细胞 (如 CEM、Jurkat)。CD95L 与 CD95 结合后, I 型细胞的 caspase-8 在几秒内被活化, caspase-3 在 30 min 内被活化; II 型细胞内这两种 caspase 的活化延迟到 60 min。对 TRAIL 信号通路而言, I 型细胞内死亡受体诱导的 caspase-8 的活化能够充分激活效应 caspase, 如 caspase-3、caspase-6、caspase-7, 而在 II 型细胞, caspase-8 诱导的 caspase-3 的活化非常有限, 但少量活化的 caspase-8 能激活线粒体凋亡途径^[9]。因此由 TRAIL 与 DR4/DR5 结合而启动的凋亡也有线粒体凋亡途径的介入 (图 1)。

2.2 TRAIL 受体在肿瘤中的分布

凋亡失调是肿瘤发展和转移的重要一步。研究发现, 脑瘤、肺癌、乳腺癌在染色体 8p21-22 (TRAILR1-4 的基因位置) 通常存在等位缺失, 而

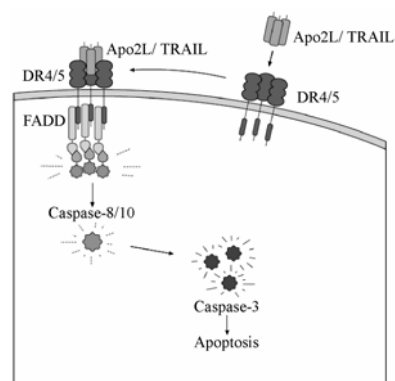


图 1 TRAIL 诱导凋亡的 DISC 组装过程^[9]

在转移性乳腺癌、非霍奇金淋巴瘤、头颈部肿瘤和非小细胞肺癌存在 DR4、DR5 的突变, 但突变几率非常低, 约 0~10.6%。DR4 和 DR5 通常表达于正常和恶性细胞, 肿瘤中存在死亡受体的下调。在卵巢癌患者中, 10.3% 患者没有 DR4 表达, 8.8% 患者 DR4 表达下调, 这种没有表达或表达失调与 DR4 基因启动子的甲基化相关^[10]。在非小细胞肺癌中, 低分化肿瘤中 DR4、DR5、TRAIL 的表达是增加的, 而且 DR5 的表达与患者死亡相关^[11]。在结肠癌中, DR4 和 DR5 的表达比正常组织明显要强得多^[12]。在乳腺癌中, DR5 在恶性标本中的表达比正常乳腺上皮要高得多, 而且在淋巴结中的表达也非常高, DR4 的表达与生存无关, 而 DR5 能够单独预测生存, 即表达越高, 生存的可能性就越小, 高表达的 DR5 可以作为乳腺癌的一个独立的预后指标^[13]。因此可以看出, 死亡受体的表达与肿瘤进展相关, 这种相关具有肿瘤组织特异性。

在肿瘤组织中也存在诱捕受体表达的异常。DcR3 属于诱捕受体, 但不能与 TRAIL 结合, 不属于 TRAIL 受体。DcR1 和 DcR2 在原发性乳腺癌、原发性肺癌、原发性恶性间皮瘤、前列腺癌、膀胱癌、宫颈癌、卵巢癌、淋巴瘤、白血病和多发性骨髓瘤中存在异常甲基化, 而肿瘤中 DR4 或 DR5 的异常甲基化很少见, 正常组织中 DcR1、DcR2、DR4 和 DR5 的异常甲基化现象也非常罕见。而这些肿瘤组织中 DcR1 和 DcR2 的表达是下调的, 这种下调可能是由于它们的启动子区域受到甲基化的修饰而引起的, 但仍然表达 DR4 和 (或) DR5, 甚至 DR4 和 DR5 的表达增加, 这就为 TRAIL 及靶向 DR4 或 DR5 的激动剂型抗体治疗肿瘤提供了依据^[14]。但是, TRAIL 受体在肿瘤中的表达及分布还不明确, 仍然需要进一步研究。

3 TRAIL 及其受体在肿瘤治疗中的应用

3.1 TRAIL 与肿瘤治疗

3.1.1 TRAIL 作为抗肿瘤药物的研究

TRAIL 具有肿瘤免疫监视作用, 在体外对肿瘤细胞具有选择性作用, 而对正常细胞的作用较弱, 同时 TRAIL 诱导肿瘤细胞凋亡与 p53 无关, 化疗药物和放射治疗主要依赖于 p53 的状态而诱导肿瘤细胞凋亡, 研究已经表明约 50% 的肿瘤 p53 存在突变, 重组的缺乏外源序列的可溶 rTRAIL 有可能成为一种抗肿瘤细胞因子, 现在已经进入临床研究。在体外重组的携带组氨酸标签肽的 rTRAIL 能够诱导人类正常肝细胞和角质形成细胞凋亡, 携带亮氨酸拉链的 rTRAIL 能够诱导角质形成细胞和星形胶质细胞凋亡, 而重组的缺乏外源序列的可溶 rTRAIL 并没有明显的杀伤正常细胞的作用, 如对哺乳类短尾猴的正常肝细胞、肾上皮细胞、前列腺上皮细胞、脐静脉内皮细胞、肺成纤维细胞、结肠平滑肌细胞、星形胶质细胞、角质形成细胞等均没有影响, 因此研究人员选择了重组的缺乏外源序列的可溶 rTRAIL 作为研究对象^[15], 因为这种重组的 TRAIL 具有完整的生物学活性。

大量体外研究已经表明, TRAIL 能诱导各种肿瘤细胞凋亡, 如肺癌、乳腺癌、结肠癌、前列腺癌、胰腺癌、肾癌、中枢神经系统肿瘤、胸腺肿瘤、白血病、多发性骨髓瘤、黑色素瘤、骨肉瘤等。体内裸鼠实验表明, TRAIL 对结肠癌、乳腺癌、多发性骨髓瘤、恶性神经胶质瘤有显著的疗效, 而系统毒性非常小^[16]。在新鲜分离的人类多发性骨髓瘤细胞中, TRAIL 能诱导耐受化疗的原始肿瘤细胞凋亡, 但是急性或慢性淋巴细胞性白血病的 B 细胞对 TRAIL 天然耐药, 而急性髓性白血病细胞对 TRAIL 的耐药是由于 TRAIL 的诱捕受体表达增加所致, 或者由于肿瘤中 FLIP 表达增加所致^[15]。因此认为 TRAIL 单药治疗存在肿瘤天然耐药现象, 克服这种耐药将是 TRAIL 应用于临床的关键。

3.1.2 TRAIL 的基因治疗

研究发现, 应用腺病毒作为载体的基因治疗是治疗肿瘤的一种策略。在以腺病毒为载体的基因治疗中, Ad5 血清型是最常用的载体。全身静脉给药, 腺病毒载体能够引起的毒性反应是非常复杂的, 但主要是先天性免疫反应或适应性免疫反应, 而这些免疫反应具有致死性。为了避免全身给药的毒副作用, 人们考虑肿瘤治疗的局部给药, 因此, 位于体表的前列腺癌和膀胱癌已经成为以腺病毒为载体的基因治

疗的良好模型。在全身静脉给药的情况下, 体外重组的 TRAIL 在体内的半衰期较短, 如果将全长的 TRAIL 导入腺病毒载体 (AdTRAIL) 后再局部给药, TRAIL 在细胞内的表达延长, 而且能够在体内明显地抑制肿瘤的生长。AdTRAIL 能够抑制耐 rTRAIL 的前列腺癌细胞的生长, 对膀胱癌细胞的增殖也具有明显的抑制作用^[17]。因此, 这为 TRAIL 对前列腺癌和膀胱癌的基因治疗提供了一种新的模式。

近来, 人们对体外合成的含有分泌型可溶性 TRAIL 的腺病毒载体 (Ad-stTRAIL) 进行了抗神经胶质瘤的研究。作者建立了携带人类胶质瘤的裸鼠原位癌模型, 用磁共振成像 (magnetic resonance imaging, MRI) 方法对肿瘤大小进行检测。为了减少全身给药的毒副作用, 采用了颅内注射方法。研究结果表明, Ad-stTRAIL 在体外能明显地抑制 U87-MG 神经胶质瘤细胞的增殖, 在体内对移植于 SCID 小鼠大脑的 U87-MG 神经胶质瘤具有明显的抑制作用, 而且没有明显的副作用^[18]。这种基因治疗的方法为用 TRAIL 治疗颅内肿瘤提供了新思路。

3.1.3 TRAIL 的联合治疗

肿瘤的治疗主要包括 3 种治疗方式, 即化疗、放疗和手术治疗, 而化疗以几种药物联合治疗为主。因此, 人们进行了将 TRAIL 与不同抗肿瘤制剂联合的应用研究。研究结果表明, 这种联用是有效的。下面将与 TRAIL 联用的各种抗肿瘤药物进行了综述。

3.1.3.1 DNA 损伤剂 许多研究已经表明, 损伤 DNA 的化疗药物能够调节死亡受体的表达, 从而促进细胞对死亡受体诱导的凋亡更为敏感。顺铂、丝裂霉素、甲氨蝶呤、米托蒽醌、多柔比星和博来霉素主要通过 p53 途径诱导人类肿瘤细胞的 Fas 表达, 因此促进人类肿瘤细胞对 TRAIL 诱导的凋亡更为敏感。事实上, 许多研究结果已经表明, DR4 是一个由 DNA 损伤诱导的、受 p53 调节的基因^[19]。多柔比星、足叶乙甙、阿糖胞苷、顺铂和羟喜树碱均能诱导 DR4 和 (或) DR5 的表达, 通常是通过 p53 依赖的或不依赖的途径。例如, 足叶乙甙通过增加 DR4 和 DR5 的表达而促进 TRAIL 诱导的乳腺癌和骨肉瘤细胞凋亡, 它同时也能诱导人类急性白血病细胞和胶质瘤细胞内 DR5 的表达和增加肺癌细胞内 DR4 的表达。多西紫杉醇能够促进 TRAIL 诱导的前列腺癌细胞的凋亡, 特别是激素耐受性前列腺癌, 其机制主要是由于 JNK 活化引起的 Bcl-2 的磷酸化而引起的^[20]。吉西他滨通过对 DR5 和线粒体膜电位的调节来促进 TRAIL 诱导的肿瘤细胞凋亡^[21]。

3.1.3.2 组蛋白去乙酰化酶抑制剂 组蛋白去乙酰化酶抑制剂 (HDACi) 能够诱导肿瘤细胞凋亡, 通过将细胞周期阻滞于 G₁ 或 G₂/M 期而抑制肿瘤细胞增殖, 同时具有诱导细胞分化、抑制血管形成和调节肿瘤免疫的作用。它能促进 TRAIL 诱导的肿瘤细胞的凋亡, 与 TRAIL 联用存在明显的协同抗肿瘤作用。HDACi 能够诱导死亡受体的表达, 也能增加凋亡相关基因 (caspases、BAX、BAK 等) 的表达, 降低促进细胞生长的基因表达 (如 CFLAR 和 XIAP), 体外实验表明, TRAIL 与 HDACi 联用呈现良好的协同作用^[22]。

3.1.3.3 蛋白酶体抑制剂 泛素-蛋白酶体途径是较为保守的蛋白质降解途径, 它已经成为肿瘤治疗的靶点。针对这一靶点设计的抗肿瘤药物有硼替佐米、MG132 等, 其中硼替佐米已被美国 FDA 批准用来治疗多发性骨髓瘤, 而 MG132 已成为研究泛素-蛋白酶体途径的常用工具药。硼替佐米在体内外均能抑制肿瘤细胞的生长, 具有多种生物学功能, 如调节细胞周期、抑制 NF- κ B 的活化、改变细胞的黏附功能以及诱导细胞凋亡等。硼替佐米和 MG132 在体外分别与 TRAIL 联用能够协同抑制多发性骨髓瘤的生长, 硼替佐米也能促进 TRAIL 诱导的非小细胞肺癌细胞的凋亡, 这种作用机制可能是通过抑制 NF- κ B 的活化、增加死亡受体 DR5 的表达而实现的^[23]。

3.1.3.4 COX-2 抑制剂 COX-2 能够催化花生四烯酸转变为 PGH₂, 而 PGH₂ 能够转化成各种前列腺素和血栓素 A₂。COX 酶家系包含 COX-1 和 COX-2, 其中 COX-1 在体内呈组成性表达, 具有管家基因的功能, COX-2 需经过诱导才能产生。在大多数正常组织内检测不到 COX-2 的存在, 但促有丝分裂原、细胞因子以及肿瘤促进因子能够诱导 COX-2 的产生, 从而引起 COX-2 在肿瘤和炎症组织内的积累增加。相对于正常黏膜组织而言, COX-2 在 40% 腺瘤和 80% 腺癌中过度表达。家族性结肠息肉病患者的结肠内存在许多结肠息肉, 这些息肉被认为是一种癌前期病变。舒林酸能降低家族性结肠息肉病患者肠道息肉的大小, COX-2 抑制剂已经作为预防家族性结肠息肉病转变为恶性肿瘤的预防用药。而且, COX-2 抑制剂本身就具有一定的抗肿瘤作用, 如塞来昔布 (celecoxib)。塞来昔布能够在 mRNA 和蛋白质水平促进 DR4 和 DR5 的表达, 与 TRAIL 联用, 能够促进 TRAIL 诱导的肿瘤细胞凋亡^[24]。

3.1.3.5 其他 其他包括天然产物 (姜黄素)、维甲酸类 (CD437)、三萜类 (CDDO 和 CDDO-Me) 以及糖

皮质激素 (地塞米松) 等。姜黄素是从植物多酚中提取的一种多酚类化合物, 它具有抗炎、抗氧化和抗肿瘤的作用^[25]。在前列腺癌细胞中, 姜黄素能够通过抑制 NF- κ B 的活性来促进 TRAIL 诱导的细胞凋亡。姜黄素也能抑制细胞存活相关基因 (Bcl-2、Bcl-xL、survivin 和 XIAP) 的表达, 促进凋亡基因 Bax、Bak、PUMA、Bim、Noxa、DR4 和 DR5 的表达, 从而促进 TRAIL 诱导的肿瘤细胞凋亡。如果将对 TRAIL 耐受的 LNCaP 接种于裸鼠体内, 那么姜黄素能够使 LNCaP 对 TRAIL 的敏感性增加。姜黄素在体内外均能促进肿瘤对 TRAIL 的敏感性^[26]。许多小分子化合物都能与 TRAIL 联用而显示协同作用, 从而能够克服肿瘤细胞对 TRAIL 的耐药性, 这为 TRAIL 应用于临床提供了良好的研究基础。

3.2 针对死亡受体的抗体与肿瘤治疗

拮抗鼠的 DR5 的单克隆抗体 (MD5-1) 在体内具有很强的抗肿瘤效果, 在首次给药过程中, 靶向 DR5 的单克隆抗体能够诱导 TRAIL 敏感的肿瘤细胞凋亡, 同时能够募集表达 Fc 受体的抗原递呈细胞 (APC) 到肿瘤部位, 这些 APC 细胞能够交叉递呈肿瘤抗原, 诱导肿瘤特异性细胞毒细胞活化, 从而清除 TRAIL 敏感性肿瘤或 TRAIL 耐药性肿瘤^[27]。在体内, MD5-1 作为单一试剂能有效清除肿瘤的生长和转移, 但是不能诱导较大肿瘤消退。如果 MD5-1 联合延迟 IL-21 治疗, 能够抑制较大肿瘤的转移。合理的以抗体为基础的治疗应该是既能诱导肿瘤细胞凋亡, 又具有以抗体为基础的 T 细胞活化作用。因此, 抗 DR5/抗 CD137/抗 CD-40 的联合治疗能清除由甲基胆蒽诱发的小鼠纤维肉瘤, 对已经形成的多器官肿瘤转移灶也具有清除作用, 同时能够去除 90% 耐 DR5 抗体的肿瘤细胞^[28]。靶向 DR5 的抗体能够诱导肿瘤特异性 T 细胞活化, 从而克服 TRAIL 的耐药性, 同时 3 个抗体的联合应用具有良好的理论应用基础, 包括 TRAIL、靶向死亡受体的抗体以及它们的联合应用, 都在进行临床研究, 而这些临床研究的结果都显示出良好的临床应用前景。

由 Human Genome Sciences (HGS) 和 Cambridge Antibody Technology 共同发起的抗 DR4 的抗体 (HGS-ETR1) 的 II 期临床研究正在进行, 由 HGS 和 Kirin Brewery Company 共同开发的抗 DR5 的抗体 (HGS-ETR2) 正在进行 I 期临床研究, 而 HGS-ETR1 与吉西他滨和顺铂联用也在进行 I 期临床研究。在这些启动的临床研究中, 除了 HGS-ETR2 在几例患者中出现副作用外, 在所给予的剂量条件下还没有出

现大的毒性反应^[29]。

针对死亡受体 DR4 或 DR5 的抗体也能与抗肿瘤药物中的 DNA 损伤剂联用, 从而加强抗体对肿瘤的治疗。

4 前景与展望

从 TRAIL 发现到现在, 已经有十多年的历史。TRAIL 及其受体的激动剂型抗体对肿瘤细胞具有选择性作用, TRAIL 死亡受体通路已经成为肿瘤治疗的靶点。目前, TRAIL 及针对其受体的激动剂型抗体已经发展到临床试验阶段, 并且预示了很好的临床应用前景。尽管早期的临床实验是很令人鼓舞的, 但是 rTRAIL 和抗 TRAIL 受体的抗体仅仅局限于携带 TRAIL 敏感肿瘤的患者, 因此这种应用是受到限制的。然而, 由于许多肿瘤对 TRAIL 具有耐受性, 对于 TRAIL 及其受体的抗体的研究, 在选择肿瘤进行治疗时需要慎重考虑。不过, 研究发现, TRAIL 及针对其受体的激动剂型抗体分别与小分子药物联用后, 不但可以克服肿瘤对 TRAIL 的耐药性, 同时还可以增加疗效。

以 TRAIL 死亡受体通路为靶点的抗肿瘤药物研究已经取得了很大的进展, 但是对死亡受体通路的研究还存在许多未知领域, 如肿瘤细胞对 TRAIL 的天然耐药是如何产生的, DR4、DR5、DcR1、DcR2 和 OPG 在 TRAIL 信号传导过程中的作用有何不同, 以及 TRAIL 为什么对肿瘤细胞具有选择性杀伤作用等。对于这些问题的解决将促进以 TRAIL 死亡受体通路为靶点的抗肿瘤药物研究, 并能推动 TRAIL 及针对其受体的抗体应用于临床。

References

- [1] Hou Q. Effect of staurosporine induced apoptosis of MCF7/GFP-Bax stable cell line on Bax translocation from cytosol into mitochondria [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)*, 2008, 43: 378-382.
- [2] Wiley SR, Schoole YK, Smolak PJ, et al. Identification and characterization of a new member of the TNF family that induces apoptosis [J]. *Immunity*, 1995, 3: 673-682.
- [3] Wajant H, Pfizenmaier K, Scheurich P. TNF-related apoptosis inducing ligand (TRAIL) and its receptors in tumor surveillance and cancer therapy [J]. *Apoptosis*, 2002, 7: 449-459.
- [4] Thorburn A, Behbakht K, Ford H. TRAIL receptor-targeted therapeutics: resistance mechanisms and strategies to avoid them [J]. *Drug Resist Updat*, 2008: 17-24.
- [5] Mérimo D, Lalaoui N, Morizot A, et al. Differential inhibition of TRAIL-mediated DR5-DISC formation by decoy receptors 1 and 2 [J]. *Mol Cell Biol*, 2006, 16: 7046-7055.
- [6] Chen S, Liu X, Yue P, et al. CCAAT/enhancer binding protein homologous protein-dependent death receptor 5 induction and ubiquitin/proteasome-mediated cellular FLICE-inhibitory protein down-regulation contribute to enhancement of tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand-induced apoptosis by dimethyl-celecoxib in human non-small-cell lung cancer cells [J]. *Mol Pharmacol*, 2007, 72: 1269-1279.
- [7] Bouralexis S, Findlay DM, Evdokiou A. Death to the bad guys: targeting cancer via Apo2L/TRAIL [J]. *Apoptosis*, 2005, 10: 35-51.
- [8] Bouralexis S, Findlay DM, Atkins GJ, et al. Progressive resistance of BTK-143 osteosarcoma cells to Apo2L/TRAIL-induced apoptosis is mediated by acquisition of DcR2/TRAIL-R4 expression: resensitisation with chemotherapy [J]. *Br J Cancer*, 2003, 89: 206-214.
- [9] LeBlanc HN, Ashkenazi A. Apo2L/TRAIL and its death and decoy receptors [J]. *Cell Death Differ*, 2003, 10: 66-75.
- [10] Horak P, Pils D, Haller G, et al. Contribution of epigenetic silencing of tumor necrosis factor-related apoptosis inducing ligand receptor 1 (DR4) to TRAIL resistance and ovarian cancer [J]. *Mol Cancer Res*, 2005, 3: 335-343.
- [11] Spierings DC, de Vries EG, Timens W, et al. Expression of TRAIL and TRAIL death receptors in stage III non-small cell lung cancer tumors [J]. *Clin Cancer Res*, 2003, 9: 3397-3405.
- [12] Koonstra JJ, Kleibeuker JH, van Geelen CM, et al. Expression of TRAIL (TNF-related apoptosis-inducing ligand) and its receptors in normal colonic mucosa, adenomas, and carcinomas [J]. *J Pathol*, 2003, 200: 327-335.
- [13] McCarthy MM, Sznol M, DiVito KA, et al. Evaluating the expression and prognostic value of TRAIL-R1 and TRAIL-R2 in breast cancer [J]. *Clin Cancer Res*, 2005, 11: 5188-5194.
- [14] Shivapurkar N, Toyooka S, Toyooka KO, et al. Aberrant methylation of trail decoy receptor genes is frequent in multiple tumor types [J]. *Int J Cancer*, 2004, 109: 786-792.
- [15] Cretney E, Takeda K, Smyth MJ. Cancer: novel therapeutic strategies that exploit the TNF-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL)/TRAIL receptor pathway [J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2007, 39: 280-286.
- [16] Koschny R, Walczak H, Ganten T. The promise of TRAIL-potential and risks of a novel anticancer therapy [J]. *J Mol Med*, 2007, 85: 923-935.
- [17] El-Zawahry A, Lu P, White SJ, et al. *In vitro* efficacy of AdTRAIL gene therapy of bladder cancer is enhanced by trichostatin A-mediated restoration of CAR expression and downregulation of cFLIP and Bcl-XL [J]. *Cancer Gene Ther*,

- 2006, 13: 281–289.
- [18] Jeong M, Kwon YS, Park SH, et al. Possible novel therapy for malignant gliomas with secretable trimeric TRAIL [J]. PLoS One, 2009, 4: e4545.
- [19] Guan B, Yue P, Clayman GL, et al. Evidence that the death receptor DR4 is a DNA damage-inducible, p53-regulated gene [J]. J Cell Physiol, 2001, 188: 98–105.
- [20] Yoo J, Park SS, Lee YJ. Pretreatment of docetaxel enhances TRAIL-mediated apoptosis in prostate cancer cells [J]. J Cell Biochem, 2008, 104: 1636–1646.
- [21] Seol JW, Chaudhari AA, Lee YJ, et al. Regulation of DR-5 protein and mitochondrial transmembrane potential by gemcitabine, a possible mechanism of gemcitabine-enhanced TRAIL-induced apoptosis [J]. Oncol Rep, 2007, 18: 523–529.
- [22] Johnstone RW, Frew AJ, Smyth MJ. The TRAIL apoptotic pathway in cancer onset, progression and therapy [J]. Nat Rev Cancer, 2008, 8: 782–798.
- [23] Liu X, Yue P, Chen S, et al. The proteasome inhibitor PS-341 (bortezomib) up-regulates DR5 expression leading to induction of apoptosis and enhancement of TRAIL-induced apoptosis despite up-regulation of c-FLIP and survivin expression in human NSCLC cells [J]. Cancer Res, 2007, 67: 4981–4988.
- [24] Liu X, Yue P, Schönthal AH, et al. Cellular FLICE-inhibitory protein down-regulation contributes to celecoxib-induced apoptosis in human lung cancer cells [J]. Cancer Res, 2006, 66: 11115–11119.
- [25] Shi P, Chen WW, Hu XY, et al. Curcumin up-regulates the expression of *maspin* gene in prostate cancer cell line LNCaP [J]. Acta Pharm Sin (药学报) 2006, 41: 1152–1156.
- [26] Reuter S, Eifes S, Dicato M, et al. Modulation of anti-apoptotic and survival pathways by curcumin as a strategy to induce apoptosis in cancer cells [J]. Biochem Pharmacol, 2008, 76: 1340–1351.
- [27] Nagane M, Pan G, Weddle JJ, et al. Increased death receptor 5 expression by chemotherapeutic agents in human gliomas causes synergistic cytotoxicity with tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand *in vitro* and *in vivo* [J]. Cancer Res, 2000, 60: 847–853.
- [28] Takeda K, Yamaguchi N, Akiba H, et al. Induction of tumor-specific T cell immunity by anti-DR5 antibody therapy [J]. J Exp Med, 2004, 199: 437–448.
- [29] Uno T, Takeda K, Kojima Y, et al. Eradication of established tumors in mice by a combination antibody-based therapy [J]. Nat Med, 2006, 12: 693–698.