

# TRAIL 与眼部肿瘤的治疗

单将成, 谢伯林, 俞丹洋

作者单位:(650032)中国云南省昆明市,解放军昆明总医院眼科  
作者简介:单将成,女,昆明医学院在读硕士研究生,研究方向:  
眼底病、眼外伤。

通讯作者:谢伯林,男,主任医师,主任,教授,硕士研究生导师,  
研究方向:眼底病、眼外伤。Bolin\_xie@tom.com

收稿日期:2010-07-16 修回日期:2010-08-09

## Tumor necrosis factor related apoptosis-inducing ligand and eye tumors therapy

Jiang-Cheng Shan, Bo-Lin Xie, Dan-Yang Yu

Department of Ophthalmology, Kunming General Hospital of Chinese  
PLA, Kunming 650032, Yunnan Province, China

Correspondence to: Bo-Lin Xie. Department of Ophthalmology,  
Kunming General Hospital of Chinese PLA, Kunming 650032,  
Yunnan Province, China. Bolin\_xie@tom.com

Received:2010-07-16 Accepted:2010-08-09

### Abstract

• Tumor necrosis factor related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) is a new member of TNF superfamily. TRAIL preferentially induces apoptosis in tumor cells, transformed or virus-infected cells, but not in normal cells, thus it has greatly spurred our attention. Eye tumor therapy has always been the challenge to ophthalmologists. This review introduces TRAIL and its receptors' structures and functions, the mechanism of inducing apoptosis and the applications in eye tumors therapy.

• KEYWORDS: TRAIL; apoptosis; eye tumor; therapy

Shan JC, Xie BL, Yu DY. Tumor necrosis factor related apoptosis-inducing ligand and eye tumors therapy. *Int J Ophthalmol (Guji Yanke Zazhi)* 2010;10(9):1730-1732

### 摘要

肿瘤坏死因子相关凋亡诱导配体(tumor necrosis factor related apoptosis-inducing ligand, TRAIL)是新发现的 TNF 超家族成员,与其受体结合后可特异性地诱导多种肿瘤细胞、转化细胞或病毒感染细胞凋亡,而对正常细胞几乎无毒性,现已受到人们的广泛关注。眼科肿瘤治疗一直是眼科界的难题。我们就 TRAIL 及其受体的结构功能、作用机制及其在眼肿瘤治疗中的应用进行综述。

关键词:TRAIL;凋亡;眼科肿瘤;治疗

DOI:10.3969/j.issn.1672-5123.2010.09.030

单将成,谢伯林,俞丹洋. TRAIL 与眼部肿瘤的治疗. 国际眼科杂志 2010;10(9):1730-1732

### 0 引言

眼部肿瘤因其位置的特殊性,一旦发生往往产生严重的后果,轻者影响视力和容貌,重者危及生命。其治疗方法一直以手术、化疗、放疗为主,虽然取得了一定的成效,但均有明显的缺陷。手术切除创伤大,严重影响患者的容貌,还存在复发和转移的危险;化疗、放疗则在杀死肿瘤细胞的同时也杀死了正常细胞,损害人体器官和造血功能。因此急需寻找一种更好的治疗眼部肿瘤的方法<sup>[1,2]</sup>。新的观点认为肿瘤的产生是由于发生恶性转化的细胞不能正常凋亡,目前肿瘤生物治疗的热点之一是通过诱导肿瘤细胞发生凋亡,从而达到治疗的目的,即肿瘤的凋亡疗法。而该疗法的重要进展之一就是 TRAIL 的发现及其在肿瘤治疗中的作用。我们主要叙述 TRAIL 及其受体的结构功能、作用机制,并探讨其在部分眼科肿瘤治疗中的应用。

### 1 TRAIL 及其受体的结构功能

1.1 TRAIL 基因 TRAIL 基因最早由 Wiley 等<sup>[3]</sup>于 1995 年从人心肌 cDNA 文库中克隆获得并命名,1996 年 Pitti 等<sup>[4]</sup>克隆得到相同的基因,并命名为 Apo-2L。TRAIL 基因定位于 3q26,编码 281 个氨基酸组成的 II 型跨膜蛋白,分子量为 32.5kD。其中 241 个氨基酸位于跨膜外区,功能部位为 119~241 位氨基酸残基。N 末端 14 个氨基酸位于胞质区,与 TNF 家族的其他成员无同源性,无明显的信号肽。C 末端 168 个氨基酸位于细胞膜外,保守性较强,形成几个折叠结构,再形成典型的链夹心,即同源三聚体结构。胞外区有相应的蛋白酶切位点,受蛋白酶作用后,形成可溶性的形式。可溶性分子 N 末端氨基酸的缺失不影响其生物学活性,并能形成同源三聚体与其受体结合。

1.2 TRAIL 受体 TRAIL 受体基因定位于 8q21.22,目前发现的 TRAIL 受体有五种。TRAIL-R1 与 R2 含有胞内死亡结构域(death domain, DD),且能同时激活半胱天冬酶(caspase)和核转录因子(nuclear factor-kappa B, NF-kB),亦称为死亡受体(death receptor, DR),分别又命名为 DR4 和 DR5。DR4 由 468 个氨基酸组成,在胞外区 108~266 位氨基酸之间有富含两个 Cys 的重复序列,227~245 位氨基酸为跨膜区,胞内区含有一个由 70 个氨基酸组成的死亡区域 DD,与 TNFR, FasL 等 DD 具有高度同源性,能够与 TRAIL 结合形成复合体而被激活,传导凋亡信息至胞质内,激活 caspase 系统最终引起细胞凋亡,故称为 DR<sup>[5]</sup>。DR5<sup>[6]</sup>由 411 个氨基酸组成,在功能和结构上与 DR4 极为相似。胞外区 84~79 位氨基酸为富含两个 Cys 的重复序列,184~206 位氨基酸为跨膜区,胞内区含有 70 个氨基酸的 DD。DR5 的胞外区中、胞内区 DD 与 DR4 相应部分的同源性分别为 66% 和 64%。TRAIL-R3 与 R4 缺乏有功能的胞内死亡结构域,无法激活 caspase,但能激活 NF-kB,表现为抑制凋亡,亦称为诱骗受体(decoy receptor, DcR),分别命名为 DcR1, DcR2。DcR1 含有 259 个氨基酸,通过糖基磷脂酰肌醇(glycosylphosphatidylinositol, GPI)形成固定于细胞表面的蛋白。12~36 位氨基酸为跨膜区,无胞内

区。DcR1 胞外区域与 DR4 和 DR5 分别有 69% 和 52% 的同源性, 由于没有细胞内 DD, 故虽能与 TRAIL 结合却不能诱导细胞凋亡, 因此被称为 DcR<sup>[7]</sup>。DcR2 由 386 个氨基酸组成, 氨基酸序列与前述三种受体有 58% ~ 70% 的同源性, 胞内区由 155 个氨基酸组成, 但只占整个 DD 分子的 1/3, 无完整 DD 结构, 因而缺乏诱导凋亡的能力。护骨素 (osteoprotegerin, OPG) 是 1998 年由 Emery 等<sup>[8]</sup> 确认的第 5 个 TRAIL 受体, 并命名为 OPG, 它属于分泌型 TNF 同源物, 是可溶性蛋白, 在体内有抑制破骨和增加骨密度的功能。OPG 与 TRAIL 亲和力低, 是 TRAIL 的一种特殊受体。OPG 与 TRAIL 结合后可抑制 TRAIL 对细胞的凋亡作用, 保护人正常上皮细胞抵制 TRAIL 诱导的凋亡, 抑制 TRAIL 对敏感细胞 Jurkat 和成釉细胞瘤的诱导凋亡作用。这种抑制作用可能是通过 OPG 竞争性抑制 TRAIL 与死亡受体的结合来实现的<sup>[9]</sup>。

## 2 TRAIL 诱导肿瘤细胞凋亡的作用机制

**2.1 TRAIL 诱导肿瘤细胞凋亡的途径** 目前普遍接受的 TRAIL 凋亡诱导途径有两条, 即线粒体依赖型途径和线粒体非依赖型途径。TRAIL 与靶细胞表面的死亡受体特异结合而激活凋亡信号途径。死亡受体 DR4/DR5 与 TRAIL 结合后, 形成配体-受体三聚复合物, 受体通过其胞内段死亡结构域 (DD) 与 Fas 相关蛋白的死亡结构域 (FADD) C 端 DD 结合。FADD 以其 N 端的死亡效应结构域 (DED) 与 procaspase-8 结合, 形成 DR4/DR5-FADD-procaspase8 死亡诱导信号复合物 (DISC), 促使 procaspase-8 自我裂解形成有活性的凋亡起始蛋白 caspase-8。caspase-8 活化后, 通过两条信号途径传递凋亡信号。I 型细胞通过线粒体非依赖型途径, 即活化的 caspase-8 直接激活下游效应蛋白 caspase-3, 6, 7 而诱导凋亡。II 型细胞通过线粒体依赖型途径传递凋亡信号。活化的 caspase-8 促使 Bid 催化断裂形成有活性的截短 Bid (tBid) 并定位于线粒体膜, 引起线粒体跨膜电位降低或破坏, 促使线粒体释放细胞色素 c、促凋亡蛋白 Smac/Diablo 和 Omi/HtrA2。Cyt c, Apaf-1, procaspase-9 和 dATP 结合形成凋亡酶体 (apoptosome), 该复合物二聚化后能激活 procaspase-9 形成有活性的 caspase-9, 进而活化效应蛋白, 最终导致细胞凋亡<sup>[10]</sup>。

**2.2 正常细胞逃逸凋亡的机制** TRAIL 的一个显著特点就是能够特异地仅诱导转化细胞、肿瘤细胞、病毒感染细胞凋亡, 而对正常组织细胞没有杀伤作用。目前认为有以下机制: (1) 诱骗受体的保护作用: 诱骗受体 DcR1 和 DcR2 在正常组织广泛表达, 在肿瘤组织中几乎不表达。正常细胞由于有诱骗受体与死亡受体竞争结合 TRAIL 而逃逸 TRAIL 的杀伤。Pan 等<sup>[11]</sup> 证实, 异位表达的 DcR1 可以使哺乳动物细胞免于 TRAIL 诱导的凋亡。(2) FLIPs (FADD-like ICE inhibitory proteins) 的作用: FLIPs 是 caspase 活性的抑制剂, 它的序列与 caspase-8 的序列相似, 它通过与 caspase-8 竞争性结合凋亡通路上的结合蛋白而封闭凋亡通路, 使细胞逃逸 TRAIL 诱导的凋亡。Kim 等<sup>[12]</sup> 证实, 对 TRAIL 不敏感的细胞系具有低表达或不表达 DR4 而高表达 FLIP 的特征。(3) 凋亡抑制蛋白 (inhibitor of apoptosis, IAP) 家族的作用: 其家族成员包括 caspase-IAP1, caspase-IAP2, X 染色体相联的 IAP (XIAP) 和生长素, 分布广泛, 是 caspases 的潜在抑制物, 能阻断 TRAIL 诱导凋亡。IAPs 结合 caspase 抑制凋亡, 主要作用于 caspase-9, caspase-3, caspase-7, 通过抑制它们的活化或削弱其活性来发挥作用。

## 3 TRAIL 与眼科肿瘤的治疗

目前眼科恶性肿瘤的治疗仍然是以手术为主, 辅以化学减容疗法、激光光凝、温热疗法、冷冻疗法、巩膜敷贴放疗、外照射放疗的综合治疗。但随着对 TRAIL 临床应用研究的不断深入, TRAIL 和放疗及化疗的联合应用在多种肿瘤细胞系上的实验模型的建立, 为部分眼科肿瘤的治疗提供了新思路。

**3.1 TRAIL 与脉络膜恶性黑色素瘤** 脉络膜恶性黑色素瘤 (choroidal malignant melanoma, CMM) 是成年人眼内最常见的原发性恶性肿瘤, 占葡萄膜恶性肿瘤的 85%。此病可致盲, 也可因全身转移致死, 病死率高, 对患者危害极大<sup>[13]</sup>。虽然目前尚缺乏单纯研究 CMM 的生物化疗, 但针对恶性黑色素瘤的生物化疗方面的研究较多。近年来对黑色素瘤的研究表明: 早期黑色素瘤衰退及经 IFN-2a 介导的疗效与 CD<sub>4</sub><sup>+</sup>T 淋巴细胞浸润相关, 而 CD<sub>4</sub><sup>+</sup>T 杀伤黑色素瘤细胞主要通过 TRAIL 诱导的凋亡而发挥作用。TRAIL 可以诱导大约 2/3 的黑色素瘤体外培养细胞发生凋亡, 而对正常组织没有影响<sup>[14]</sup>。陈伟莉等<sup>[15]</sup> 研究重组人肿瘤坏死因子相关的凋亡诱导配体 (rhTRAIL) 对黑色素瘤 A-375 细胞生长及诱导细胞凋亡的影响时, 发现 rhTRAIL 对黑色素瘤 A-375 细胞生长有显著的抑制作用, 在一定剂量范围内呈剂量依赖性。目前研究发现多系黑色素瘤细胞对 TRAIL 不敏感, 其耐药机制可能与 DR 的表达及某些信号分子, 如 caspase, Bcl-2, XIAP 等的改变有关<sup>[16, 17]</sup>。而当 TRAIL 与某些药物联合作用时, 可显著提高黑色素瘤细胞对 TRAIL 的敏感性。如: Liu 等<sup>[18]</sup> 研究发现 2-脱氧-D-葡萄糖 (2-Deoxy-D-glucose, 2-DG) 与 TRAIL 联合作用于黑色素瘤细胞时有协同效应, 其机制为: 2-DG 通过上调 TRAIL-R2 的表达, 以增强人黑色素瘤细胞对 TRAIL 诱导凋亡的敏感性。Karasic 等<sup>[19]</sup> 研究表明环木脂体鬼柏苦 (PPP) 联合 TRAIL 大大增加了黑色素瘤细胞系 WM793 和 WM9 的细胞凋亡, 其机制是 PPP 通过抑制胰岛素样生长因子受体-1 (IGF-1R) 激酶活性, 使原来黑色素瘤细胞上高活性的 IGF-1R 信号通路失活, 抑制下游肌醇 AKT 和 MAPK 通路的激活, 从而协同 TRAIL 诱导黑色素瘤细胞凋亡。随着 TRAIL 耐药机制及其和其他药物协同机制的明朗化, TRAIL 有望成为一种治疗 CMM 的新试剂。

**3.2 TRAIL 与眼眶淋巴瘤** 眼眶恶性淋巴瘤在眼眶占位性病变中比较常见, 约占眼眶恶性肿瘤性病变 10%<sup>[20]</sup>。Wissink 等<sup>[21]</sup> 研究表明, TRAIL 与放疗联合处理淋巴系统恶性肿瘤细胞系具有协同作用, 两者联合能够诱导对放疗耐受的 Bcl-2 过表达的淋巴系统肿瘤细胞凋亡。Unnithan 等<sup>[22]</sup> 研究发现霍奇金淋巴瘤和非霍奇金淋巴瘤患者经放疗后出现 TRAIL 水平升高, 体内试验亦表明了 TRAIL 与放疗联合应用具有协同效应。目前 TRAIL 与放射线联用诱导凋亡的协同机制还不是很清楚, 比较公认的途径是通过激活 caspase, 进一步的研究发现这种协同作用依赖 P53 的表达, 并且放射线能上调 DR5 的表达。此外亦有 TRAIL 联合化疗药物治疗淋巴瘤的研究。如, rhTRAIL 联合利妥昔单抗的 I 期临床试验结果显示: 以往曾用利妥昔单抗治疗的 6 例低度恶性的非霍奇金淋巴瘤患者, 给予利妥昔单抗联合 4mg/kg · d rhTRAIL 治疗, 其中 2 例获得完全缓解, 3 例获得部分缓解及稳定<sup>[23]</sup>, 获得了较好的疗效。Georgakis 等<sup>[24]</sup> 研究发现 TRAIL 联合硼替佐米或阿霉素可增强淋巴瘤细胞的凋亡。在这些研究中, TRAIL 均表现出

与其他药物的协同效应,但其确切的相互作用机制尚不清楚。目前放疗、化疗仍是眼眶恶性淋巴瘤的重要治疗手段,TRAIL与放疗、化疗的联合应用将有助于眼眶恶性淋巴瘤的治疗。

**3.3 TRAIL与横纹肌肉瘤** 横纹肌肉瘤(rhabdomyosarcoma,RMS)为儿童最常见的原发性眼眶内恶性肿瘤,约占眼眶肿瘤的2%~5%,该肉瘤对化疗药物不敏感,病程发展快,恶性程度高。徐玉生等<sup>[25]</sup>研究发现TRAIL可抑制RMS细胞生长,TRAIL和顺铂联合应用对RMS具有明显的协同杀伤效果,其作用制剂与cFLIPmRNA表达的下调和线粒体跨膜电位的降低有关。国外实验研究<sup>[26]</sup>亦显示:TRAIL联合阿霉素有协同诱导RMS细胞凋亡的作用。可见,TRAIL联合化疗或许能成为治疗RMS的新方法。

#### 4 展望

由于TRAIL能选择性诱导肿瘤细胞凋亡而对正常细胞几乎无毒副作用,并且和放疗化疗都有协同效应,使得TRAIL在眼科肿瘤的治疗上具有广阔的前景。但TRAIL是近年来才发现的TNF家族成员,其耐药机制和其联合药物时的协同机制,目前还不十分清楚,且TRAIL在眼科肿瘤中的研究还处于起步阶段,还需要更多、更完善的实验及临床研究来进一步证实,从而为TRAIL用于眼科肿瘤的治疗奠定基础。

#### 参考文献

- 1 Cretney E, Shanker A, Yagita H, et al. TNF-related apoptosis-inducing ligand as a therapeutic agent in autoimmunity and cancer. *Immunol Cell Biol* 2006; 84(1):87-98
- 2 Ganten TM, Koschny R, Sykora J, et al. Preclinical differentiation between apparently safe and potentially hepatotoxic applications of TRAIL either alone or in combination with chemotherapeutic drugs. *Clin Cancer Res* 2006;12(8):2640-2646
- 3 Wiley SR, Schooley K, Smolak PJ, et al. Identification and characterization of a new member of the TNF family that induces apoptosis. *Immunity* 1995;3(6):673-682
- 4 Pitti RM, Marstern SA, Ruppert S, et al. Induction of apoptosis by Apo-2 Ligand, a new member of the tumor necrosis factor cytokine family. *J Bio Chem* 1996; 271:12687-12690
- 5 Pan GH, Reiner Gentz, Reinhard Ebner, et al. The receptor for the cytotoxic ligand TRAIL. *Science* 1997;276:111-113
- 6 Walczak H, Mariapia A, Pamela J, et al. TRAIL-R2: a novel apoptosis-mediating receptor for TRAIL. *EMBO J* 1997;16:5386-5397
- 7 Degli Esposti, Anna Ghelli, Bruna Benelli, et al. The novel receptor TRAIL-R4 induces NF-kappa B and protects against TRAIL-mediated apoptosis, yet retains an incomplete death domain. *Immunity* 1997;7:813-820
- 8 Emery JG, Mc Donnell P, Burke MB, et al. Osteoprotegerin is a receptor for the cytotoxic ligand TRAIL. *J Bio Chem* 1998;273(23):14363-14367
- 9 Ferry Sandra, Laifa Hendarmin, Seiji Nakamura. Osteoprotegerin (OPG) binds with tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL): suppression of TRAIL-induced apoptosis in ameloblastomas.

*Oral Oncology* 2006;42(4):415-420

- 10 郇萍,吴雪昌.肿瘤细胞抗TRAIL凋亡诱导的分子机制.细胞生物学杂志 2006;28:153-159
- 11 Pan G, Ni J, Wei YF, et al. An antagonist decoy receptor and a death domain - containing receptor for TRAIL. *Science* 1997; 277(5327):815-818
- 12 Kim K, Fisher MJ, Xu SQ, et al. Molecular determinants of response to TRAIL in killing of normal and cancer cells. *Clin Cancer Res* 2000;6(2):335-346
- 13 刘军,古洵清,曾平.脉络膜肿瘤的临床观察.临床眼科杂志 2004;12(5):428-430
- 14 Ashkenazi A, Pai RC, Fong S, et al. Safety and anti-tumor activity of recombinant soluble Apo2 ligand. *J Clin Invest* 1999;104(2):155-162
- 15 陈伟莉,牟旭鹏,班磊. rhTRAIL对黑色素瘤A-375细胞凋亡的影响.吉林大学学报(医学版) 2008;34(4):565-568
- 16 Falschlehner C, Emmerich CH, Gerlach B, et al. TRAIL signalling: decisions between life and death. *Int J Biochem Cell Bio* 2007;39:1462-1475
- 17 Lee TJ, Jung EM, Lee JT, et al. Mithramycin A sensitizes cancer cells to TRAIL-mediated apoptosis by down-regulation of XIAP gene promoter through Sp1 sites. *Mol Cancer Ther* 2006;5:2737-2746
- 18 Liu H, Jiang CC, Lavis CJ, et al. 2-Deoxy-D-glucose enhances TRAIL-induced apoptosis in human melanoma cells through XBP-1-mediated up-regulation of TRAIL-R2. *Mol Cancer* 2009;14(8):122
- 19 Karasic TB, Hei TK, Ivanov VN. Disruption of IGF-1R signaling increases TRAIL-induced apoptosis: a new potential therapy for the treatment of melanoma. *Exp Cell Res* 2010;316(12):1994-2007
- 20 Ferry JA, Fung CY, Zukerberg L, et al. Lymphoma of the ocular adnexa, A study of 353 cases. *Am J Surg Pathol* 2007;31:170
- 21 Wissink EH, Verbrugge I, Vink SR, et al. TRAIL enhances efficacy of radiotherapy in a p53 mutant, Bcl-2 over expressing lymphoid malignancy. *Radiother Oncol* 2006; 80(2):214-222
- 22 Unnithan J, Macklis RM. TRAIL induction by radiation in lymphoma patients. *Cancer Invest* 2004;22(4):522-525
- 23 Yee L, Fanale M, Dimick K, et al. A phase 1B safety and pharmacokinetic (PK) study of recombinanthumanApo2L/TRAIL in combination with rituximab in patients with low grade non-Hodgkin lymphoma. *J Clin Oncol* 2007;25:8078
- 24 Georgakis GV, Li Y, Humphreys R, et al. Activity of selective fully human agonistic antibodies to the TRAIL death receptors TRAIL-R1 and TRAIL-R2 in primary and cultured lymphoma cells: induction of apoptosis and enhancement of doxorubicin and bortezomib induced cell death. *Br J Haematol* 2005;130:501-510
- 25 徐玉生,王家祥,杨迪生.肿瘤坏死因子凋亡诱导配体联合顺铂对人横纹肌肉瘤细胞株凋亡的影响.中华小儿外科杂志 2006;27(12):650-653
- 26 Komdeur R, Meijer C, van Zweeden M, et al. Doxorubicin potentiates TRAIL cytotoxicity and apoptosis and can overcome TRAIL resistance in rhabdomyosarcoma cells. *Int J Oncol* 2004;25:677-684