

TRAIL耐药产生的机制及逆转耐药的最新策略

陆佳燕 杨远勤 周立 王毅刚*

(浙江理工大学生命科学院新元医学与生物技术研究所, 杭州 310018)

摘要 肿瘤坏死因子相关凋亡诱导配体(tumor necrosis factor-related apoptosis inducing ligand, TRAIL)是唯一能诱导癌细胞凋亡而对机体正常组织无明显损伤的内源性细胞因子, 因而被认为是一种极具前景的抗癌药物。然而目前研究发现, 许多恶性肿瘤细胞对TRAIL具有耐药性, 使TRAIL在临床应用中遭遇瓶颈。越来越多的证据表明, 一些关键信号通路可能与TRAIL耐药有关, 且利用靶向基因治疗策略以及借助某些天然药物或小分子抑制剂能够部分恢复癌细胞对TRAIL的敏感性。该文主要描述了肿瘤细胞对TRAIL的耐药机制, 并对如何有效克服和逆转TRAIL耐药的策略作了简要概括。

关键词 TRAIL; 耐药性; 信号通路; 逆转

1 引言

肿瘤坏死因子相关凋亡诱导配体(tumor necrosis factor-related apoptosis inducing ligand, TRAIL), 又称Apo-2L(apoptosis-2 ligand), 是肿瘤坏死因子(TNF)超家族的一员, 能激活肿瘤细胞表面的死亡受体进而诱导其凋亡, 是已知唯一高度特异性诱导肿瘤细胞凋亡而对正常细胞没有影响的蛋白质分子。大量临床前研究证实, TRAIL可以诱导多种癌细胞凋亡, 同时对正常组织没有明显的毒性作用; 然而也有相当一部分癌症被证实对TRAIL具有耐药性, 包括慢性淋巴细胞白血病、成神经管细胞瘤、星形细胞瘤、脑膜瘤和恶性黑色素瘤等, 这严重影响了TRAIL进一步的临床应用。癌细胞对TRAIL耐药的机制以及如何逆转这种耐药性是近年来国内外研究的热点。结合最新研究进展回顾以往对TRAIL耐药性的研究以及增敏治疗方案, 有助于加深人们对TRAIL的理解以及提高TRAIL的临床应用效果。

2 TRAIL及其受体特征

1995年, Wiley等^[1]发现并克隆了TRAIL基因。随后, Pitti等^[2]进一步证实并命名该基因产物为Apo2L, 习惯上仍称之为TRAIL。TRAIL属于TNF超家族成员, 其基因定位于3号染色体上, 包括5个外显子和1个长度为1.2 Kb的上游启动子区域, 属于II型跨膜蛋白, 由胞内、跨膜、胞外3个区段构成, N端位于胞内, 第15-40位氨基酸残基为疏水跨膜区, 无明显的信号肽序列; C端第41-281位氨基酸属于胞外区域,

它的两个 β -折叠片反向平行之后, 形成独特的三明治状结构。TRAIL总是以三聚体的形式与3个DR4/DR5(death receptors 4/5)受体的裂口相结合, 触发癌细胞凋亡。TRAIL同TNF家族其他成员最独特的区别是在第137-152位氨基酸残基形成一个具有12-16个氨基酸的插入环AA' loop, 此结构可插入受体的Apo2L结合位点^[3], 这与同源三聚体的稳定、受体的结合以及癌细胞凋亡的诱导都密切相关。

迄今, 已发现2类共5种TRAIL受体。包括2个死亡受体DR4和DR5, 2个诱骗受体(decoy receptors, DcR) DcR1、DcR2和破骨素(osteoprotegerin, OPG)。DR4和DR5为典型的I型跨膜蛋白, 含有2-5个富含甘氨酸的胞外肽段, 与TRAIL结合后, 其胞内区的死亡结构域(death domain, DD)能与Fas相关蛋白的死亡结构域(Fas-associated death domain, FADD)结合, 并进一步激发caspase信号通路; DcR1的胞浆区和胞内区缺失, DcR2的胞内区含有一个没有功能、缩短了死亡结构域, 因此它们与TRAIL结合均不能诱发细胞凋亡, 相反地, 对TRAIL诱导的细胞凋亡有竞争性抑制作用; OPG也能与TRAIL结合, 不过这种结合相对于别的TRAIL受体而言非常弱。

收稿日期: 2012-06-28 接受日期: 2012-08-06

浙江理工大学科研启动基金(No.1016834-Y, No.1016845-Y)、浙江理工大学省级实验教学中心实验教改项目和国家高技术研究发展计划(863)(No.2012AA020806)资助项目

*通讯作者。Tel: 0571-86843187, E-mail: wangyigang43@163.com

3 TRAIL凋亡诱导的信号途径

TRAIL的凋亡诱导效应通过与细胞膜上的死亡受体结合开始启动(图1)。TRAIL与DR4/DR5结合使DR4/DR5三聚化,进一步引起DR4/DR5胞内区中DD改变;激活后的DR4/DR5胞内结构域即充当支架,与下游接头蛋白FADD结合;FADD再以其N端的两个死亡效应结构域(death effector domain, DED)与procaspase-8/-10的DED结合,形成DR4/DR5-FADD-procaspase-8/-10死亡诱导信号复合物(death-induced signaling complex, DISC)。这些是经由DR4/DR5相应配体捕捉到所触发最初的信号放大效应。I型细胞中,procaspase-8/-10经过寡聚化和自身催化,形成有活性的caspase-8/-10,caspase-8/-10能进一步活化下游蛋白caspase-3、-6或-7而执行凋亡程序,即由caspase-8引起的凋亡信号足以诱导细胞凋亡,此途径为非线粒体依赖型途径。然而II型细胞中,经DISC激活的caspase-8/-10不足,需要借助细胞固有凋亡途径的扩充:caspase-8/-10诱导促凋亡Bcl-2家族蛋白

Bid分裂成激活状态的tBid(truncated Bid),tBid继而移动至线粒体并使得线粒体外膜上亦为Bcl-2家族蛋白成员的Bax和Bak寡聚化形成空隙,Cyt C(细胞色素C)、Smac/DIABLO趁隙从线粒体释放到胞质溶胶中。细胞色素C能与Apaf-1结合并招募caspase-9聚集于凋亡小体,而凋亡小体是caspase-9发挥作用的平台,Smac/DIABLO能与cIAP(cellular inhibitor of apoptosis protein)结合,后者被认为是潜在的caspase抑制剂^[4-6]。

4 TRAIL耐药产生的机制

然而,目前TRAIL在肿瘤的治疗过程中普遍存在着耐药性,且其耐药性产生的机制是多层次的。下面就TRAIL耐药产生的机制作一简要叙述。

4.1 TRAIL受体和TRAIL耐药性

TRAIL受体的改变是TRAIL耐药的主要机制,如细胞膜表面DR4/DR5表达和分布的减少将直接导致DISC形成减少与caspase活性降低而导致靶细胞对TRAIL的耐药。Yoshida等^[7]观察到MDA-MB-231

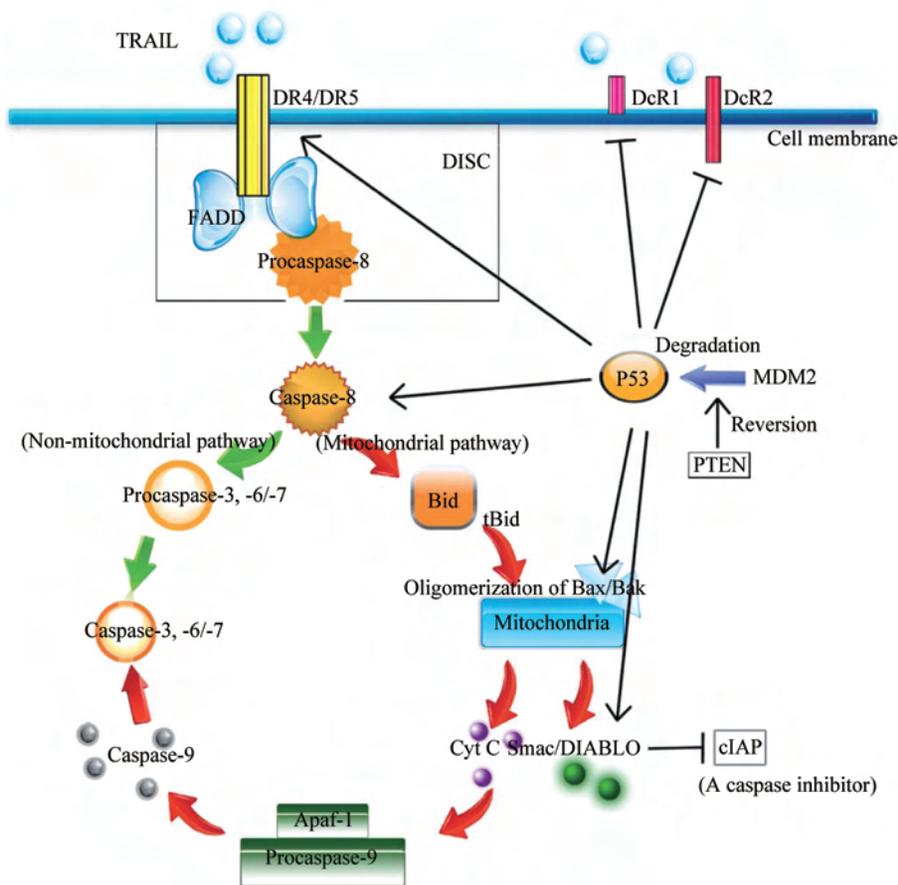


图1 TRAIL诱导凋亡的信号通路途径示意图

Fig.1 The signaling pathway of apoptosis inducement by TRAIL

乳腺癌细胞于较长一段时间的低毒性rhTRAIL处理后表面的DR4/DR5表达量明显下降,且对DR4/DR5抗体产生获得性交叉耐药。利用蟾毒灵可使细胞对TRAIL敏感,若通过siRNA阻塞DR4/DR5水平的上调,增强细胞敏感性的作用亦随之下降^[8]。Zhang等^[9]发现因细胞内吞引起细胞膜表面死亡受体DR,尤其是DR4的缺失,进而导致了癌细胞对相关抗体及TRAIL敏感性的降低。van Geelen等^[10]也研究发现,尽管在各自的受体水平阶段竞争性DR4/DR5抗体均可诱导等量的DISC形成及caspase-8分裂,竞争性DR5抗体却仅诱导微弱的caspase-8分裂及有限的细胞凋亡,暗示经DR5刺激的caspase-8进一步分裂时存在着缺陷。另根据TRAIL及其受体在体内部分组织的特异性分布(表1)及迄今发现的多种耐药性癌细胞株推测,死亡受体DR,特别是DR4,其表达水平的异常可能是导致TRAIL耐药性的重要机制之一。

与受体相关的耐药机制不仅发生于DR编码基因突变与转运过程,也与DcR的表达水平有关。Najoua等^[11]研究表明,TRAIL受体DcR2能够以独立配体的形式,通过Akt途径传递信号来控制Hela细胞株的生长特性,TRAIL-DcR2的异位表达诱发了Hela细胞形态上的变化。利用药理抑制剂LY294002(抑制Akt)破坏PI3K-Akt途径、siRNA靶向抑制PI3K的调节亚单位p85或诱导PTEN基因过度表达,均能够部分恢复一些细胞中TRAIL诱导的促凋亡作用。此外诸多迹象表明,TRAIL-DcR2不仅能够作用于细胞表面直接抑制TRAIL的促凋亡作用,还可激活Hela细胞生存和持续增殖的信号途径。冷向锋等^[12]以30例正常样本作为对照,检测55例慢性乙肝患者外周血单个核细胞上TRAIL各受体的表达水平,结果诱骗受体DcR1的表达显著低于对照组($P<0.05$),并且DcR1的表达随慢性乙肝病情的加重而逐渐降低,说

明DcR1/2的表达亦对TRAIL耐药颇具影响。

4.2 miRNA和TRAIL耐药性

一些种类的miRNA表达已被证实是癌细胞表型的一个特征,包括凋亡抑制。虽然许多有关胆管癌细胞中miRNA靶标功能和作用机制的研究已被描述过,但关于miRNA对肿瘤细胞恶性调控的作用却被忽略。Nataliya等^[14]发现恶性胆管癌细胞株与患者样本细胞中miR-25的表达量均高于正常值,而抑制miR-25表达能够使细胞对TRAIL显著敏感。通过分析亦鉴定DR4作为一个潜在的、新的miR-25靶标,该预测随后也被免疫印迹、细胞染色和报告基因检测所证实。因此,miR-25表达量的上升或许是调控食道癌细胞凋亡的一个主要杠杆。Sudbery等^[15]运用新型统计学富集的方法证实miR-26a、miR-145和miR-384等能够对多种类型癌细胞的TRAIL诱导凋亡途径产生影响。

4.3 Caspase活化与TRAIL耐药性

4.3.1 Caspase氧化还原 催化活性氧簇(reactive oxygen species, ROS)已被证实与TRAIL耐药性有关。Choi等^[16]利用药理学抑制剂、PKC δ 和NOX4的特异性干扰RNA来减少细胞内ROS诱导性表达水平,阻制半胱氨酸残基的氧化修饰,导致caspase-3活性增强,进而显著提高TRAIL对肿瘤细胞的致死性。实验结果表明,TRAIL诱导的PKC δ 和NOX4活化通过负反馈方式促进活化caspase-3的氧化修饰,能够调节TRAIL介导的癌细胞凋亡。Song等^[17]评估氧化还原酶I(Prx I)对TRAIL耐药性的影响,观察到ROS含量在患者癌细胞中有所升高,Prx I敲除使得caspase-8/-3途径级联活化,导致TRAIL诱导的细胞死亡增加,而p38促分裂蛋白激酶抑制剂、ROS或NOX的过表达则会阻断该反应。实验表明,Prx I能抑制TRAIL临床治疗中由NOX衍生出的ROS信

表1 部分组织中TRAIL及其受体分布情况^[13]

Table 1 Tissue distribution of TRAIL and its receptors^[13]

TRAIL及其受体	组织分布
TRAIL and its receptors	Tissue distribution
TRAIL	Heart myocytes, hepatocytes, germ, leydig cells, kidenys, tubuli contorti, colon, bile duct epithelium endothelium in liver, heart, kidney and testis
DR4	Heart myocytes, hepatocytes, germ, leydig cells, kidenys, tubuli contorti, colon, bile duct epithelium, neurons in brains
DR5	Heart myocytes, hepatocytes, germ, leydig cells, kidenys, tubuli contorti, colon, neurons in brains, brain vascular endothelium, kenle's loop, alveolar septa, bronchial epithelium
DcR1	Heart myocytes, hepatocytes, germ, leydig cells, bile duct epithelium, neurons in brains, endothelium in liver, heart, kidney and testis, heart cascular endothelium

号向p38促分裂原活化蛋白激酶/caspase/细胞凋亡信号途径的传递,并在分子水平上诱导肝癌细胞对TRAIL的耐药性。有研究指出,HECT型E3泛素连接酶WWP1(WW domain containing E3 ubiquitin protein ligase 1)会导致乳腺癌细胞对TRAIL的耐药性,若抑制caspase-8的表达,WWP1诱导的细胞凋亡抑制作用也随之减弱,暗示WWP1抑制与TRAIL同时作用可抑制雌激素受体 α 阳性乳腺癌细胞存活^[18]。

4.3.2 c-FLIP抑制与TRAIL耐药性 c-FLIP过度表达占据FADD与caspase-8结合的位点,会竞争性抑制caspase-8的活化,在受体水平阻断TRAIL诱导凋亡信号转导过程,并降低对CD96配体的敏感性,而抑制c-FLIP的表达可逆转肿瘤细胞对TRAIL的耐药性^[19-20]。

4.4 Bcl-2家族与TRAIL耐药性

Bcl-2家族蛋白包括抗凋亡蛋白(如Bcl-2、Bcl-x_L、Bcl-w、Mcl-1和A1/Bfl-1)和促凋亡蛋白(如Bax、Bak和Bid)。前者具有BH1-BH4结构,过表达会使细胞顺利逃避机体的程序性死亡调控,而后者则能导致线粒体膜结构的改变,释放出促凋亡蛋白(如Cyt C、Smac/DIABLO)^[21]。

虽然TRAIL诱导的caspase活化在敏感和耐药性细胞中都可以观察到,但Bid活化却仅在敏感性细胞或者LY294002处理后的SKOV3细胞株中发生。由于受到Akt抑制,Bid蛋白在耐药性细胞中表达较低,并且Bid-siRNA抑制OVCA3细胞中Bid蛋白也被发现与降低TRAIL诱导的细胞凋亡作用相联系,而Bid的过表达则增强了TRAIL的凋亡诱导效应^[22]。有研究指出,Bax依赖性TRAIL诱导凋亡作用取决于Mcl-1,而非Bcl-x_L基因,并且敲除Mcl-1基因能使Bax缺乏的癌细胞克服对TRAIL、CD95/Fas和TNF- α 的耐药性,促使TRAIL激活Bak蛋白,暗示Mcl-1而非Bcl-x_L是协助增强Bax缺乏、经由Bak诱导凋亡途径的癌细胞敏感性的主要靶点^[23]。

4.5 P53与TRAIL耐药

P53蛋白是一种目前研究较为清楚的肿瘤抑制蛋白,能够调节细胞周期/凋亡通路下游靶基因的表达。此外,P53还可以通过活化促凋亡蛋白Bax或Bak,直接激活线粒体凋亡通路^[24]。由于近一半的癌细胞p53基因发生了突变,并且p53突变癌细胞对许多癌症临床治疗手段均表现不佳——即使是非P53依赖途径的治疗也受到影响,推测P53与多种细胞损伤的免疫应答有关。Zhao等^[5]发现这种极具潜能的

P53相关增敏效应,主要通过三方面影响TRAIL促癌细胞凋亡通路,即DR4/DR5受体、某些关键Bcl-2超家族蛋白(如Bax、Puma、Noxa)、抗凋亡因子表达下调(如Bcl-2、Bcl-x_L等)。

5 克服TRAIL耐药的途径

尽管TRAIL具有特异性诱导肿瘤细胞凋亡而对正常细胞毒副作用小等优势,但仍存在化疗药物普遍具有的耐药性难题,并且产生TRAIL耐药的机制复杂,存在个体差异性。因此,寻求逆转TRAIL耐药性的策略以提高TRAIL抗癌的临床应用效果是关键所在。

5.1 靶向基因治疗策略的应用

早期采用药物干预(如联合阿霉素和顺铂等)能在一定程度克服TRAIL的耐药性,但在全身给药时会对正常细胞产生一定的毒性,尤其是肝细胞毒性。因此,近年来人们一直寻求新型靶向策略及针对TRAIL诱导凋亡的信号通路而设计的规避TRAIL耐药的方法。早期,Mohr等^[25]和Shi等^[26]采用腺相关病毒(AAV)携带TRAIL进行的基因治疗肿瘤取得了一定的效果。但由于病毒载体缺乏靶向性,疗效受限。基于此,本课题组开展了TRAIL基因的癌症靶向治疗研究。利用hTERT启动子控制的AAV(AAV-hTERT-TRAIL)或靶向溶瘤腺病毒(Ad·AFP·D55-TRAIL)可特异性调控所携带TRAIL基因在肿瘤细胞中的表达并诱导肿瘤细胞凋亡^[27-28]。此外,TRAIL的靶向肿瘤治疗能显著抑制荷瘤小鼠移植瘤的生长,而对正常组织的毒性很小。进一步开展的靶向TRAIL基因治疗与化疗药物联合研究,发挥了协同抗癌效果,既能提高TRAIL和化疗的抑癌功效又减少了副作用的产生^[29-30]。因此,基于靶向基因治疗策略而构建的TRAIL表达载体,可能是一种新型并具潜能的肿瘤治疗途径。

5.2 针对Akt通路靶标作用

既然Akt受到肿瘤抑制基因PTEN的负调控,Xu等^[31]检测了PTEN敲除小鼠前列腺癌细胞的TRAIL敏感性,发现PTEN^{-/-}小鼠与PTEN^{+/-}或PTEN^{+/+}小鼠相比对TRAIL更为耐受,证实PTEN失活将导致Akt途径活化,阻止TRAIL诱导肿瘤细胞凋亡。因此通过靶向肿瘤细胞中PTEN基因或者Akt生存途径,可以克服TRAIL耐药性。Dieterle等^[32]发现,DNA合成抑制剂——核苷类似物Triciribine也具有抑制PC-3前列腺癌细胞中Akt磷酸化的功能,能恢复细胞对

TRAIL与CD95抗体诱导凋亡的敏感性,但细胞对损伤DNA的化疗作用仍具有耐受性。

5.3 抑制c-FLIP的表达

Murtaza等^[19]发现,单独使用羽扇豆醇(一种饮食类三萜烯)将引起细胞周期的缩短,诱发caspase-8和PARP[poly(ADP-ribose) polymerase]的剪切激活,以及显著降低c-FLIP表达;并能提高细胞TRAIL蛋白水平和抑制胰腺癌细胞存活能力,增强化疗耐受胰腺癌细胞对重组TRAIL诱导凋亡的敏感性。此外,羽扇豆醇也能明显抑制人胰腺癌细胞裸鼠肿瘤的生长,引起c-FLIP与TRAIL蛋白水平在癌细胞中的表达变化。Bleumink等^[20]发现,草本混合物楝酰胺具有抑制HTLV-1感染细胞中c-FLIP再生的效果,提出在利用TRAIL进行抗肿瘤治疗的基础上将楝酰胺作为一种辅药。

5.4 XIAPs家族蛋白抑制剂

Fakler等^[33]证实,小分子XIAP(X-linked inhibitor of apoptosis)抑制剂能增强TRAIL诱导的caspase活性,破坏线粒体膜并释放Cyt C,加快Bcl-2分裂和Bak空间构型转变,克服Bcl-2家族对TRAIL的抑制作用。Metwalli等^[34]利用Smac模拟化合物成功逆转TRAIL耐药性,二者通过靶向抑制XIAP显著提高对膀胱癌的凋亡诱导作用,暗示Smac模拟物靶向XIAP有助于增强膀胱癌的化疗和生物治疗效果。

5.5 靶向P53的联合增敏模式

通过提高P53蛋白分子活性可以恢复TRAIL对肿瘤细胞的敏感性。具体如,肝癌细胞对TRAIL耐受,借助载体转染细胞过表达Notch1, Notch1信号能抑制Akt/Hdm2(与Mdm2同源)信号通路,减少蛋白酶对P53的降解,激活DR5诱导的外在凋亡途径^[5]。PTEN能够竞争性地与P53结合,通过依赖和非依赖PI3K/Akt通路的方式减弱Mdm2介导的P53抑制,增加P53稳定性,继而恢复癌细胞对TRAIL的敏感性^[25]。还可以根据人工合成抗体或者多肽(如Nutlin-3)与p53基因C端结构域中某些氨基酸序列相同、能够激活p53基因C端调控作用的原理,恢复p53突变型的活性。也有利用化疗药物5-FU或其它试剂诱导p53突变回野生型,也能够有效恢复P53的功能,提高TRAIL对癌细胞的凋亡诱导能力^[5]。

5.6 小分子药物上调DR

此外,也有一些药物或小分子药物通过上调DR表达水平克服TRAIL耐药性。Prasad等^[35]利用乌索

酸活化ROS、JNK通路上调DR以增强TRAIL诱导的癌细胞凋亡;Maginn等^[36]利用PBOX-15——一种新型靶向微管蛋白抑制剂,作为诱导可上调DR表达,增强TRAIL诱导多发性骨髓瘤细胞凋亡的能力。此外,也有研究者利用药理抑制剂抑制细胞内吞,或破坏依赖于网格蛋白的信号组件,均能恢复细胞表面的DR表达并触发TRAIL耐药性癌细胞的凋亡^[9]。

除此之外,依托泊苷、阿霉素、紫杉醇等^[7]化疗试剂也具有上调肿瘤细胞表面DR的表达,以部分增强TRAIL敏感性,继而达到治疗恶性肿瘤的目的。

6 结论与展望

尽管针对TRAIL应用于癌症治疗时的耐药与增敏研究已取得了一定的进展,但远未完全研究清楚,目前仍有许多研究正在提高TRAIL的抗癌效果方面进行尝试。Oikonomou等^[37]发现,在BRAFV600E突变及原癌基因PI3KCA被抑制的前提下,可利用两个不同的靶向BRAFV600E的抑制剂PLX4720和17-AAG与TRAIL联合治疗癌症,这提供了一种新型抗癌策略。另有研究发现, Sorafenib通过抑制STAT3来提高TRAIL抗癌的能力^[38]。此外,利用蛋白酶体抑制剂联合TRAIL受体激动剂治疗癌症不仅需协同促进肿瘤细胞凋亡,更重要的是应有效避开对TRAIL的耐药性^[39],进入良性循环。

总之,TRAIL特异性杀伤并诱导肿瘤细胞凋亡而对正常细胞几乎没有毒性的独特优势,使之在一开始就受到了广泛关注。然而,某些癌细胞对TRAIL的固有或获得性耐药,成为其能否有效应用于临床癌症治疗诱导癌细胞凋亡的主要瓶颈。随着研究的不断深入,对TRAIL诱导细胞凋亡的途径及耐药机制的进一步了解,有利于设计出一种联合诊治方案,能克服或规避TRAIL耐药性,这无疑将会大大提高TRAIL抗癌的疗效及应用范围。

参考文献 (References)

- 1 Wiley SR, Schooley K, Smolak LP, Din WS, Huang CP, Nicholl JK, et al. Identification and characterization of a new member of the TNF family that induces apoptosis. *Immunity* 1995; 3(6): 673-82.
- 2 Pitti RM, Marsters SA, Ruppert S, Christopher J, Donahuei, Moore A, et al. Induction of apoptosis by Apo-2 ligand, a new member of the tumor necrosis factor cytokine family. *J Biol Chem* 1996; 271(22): 12687-90.
- 3 林静瓔, 欧阳学农. 肿瘤坏死因子相关凋亡诱导配体研究进

- 展. 福建医药杂志(Lin Jingying, Ouyang Xuenong. Research progress on TNF-related apoptosis induced ligand. Fujian Med J) 2009; 31(3): 88-90.
- 4 隋 臻, 尹帮旗, 李招发. 基于TRAIL的肿瘤治疗策略进展. 生物技术通讯(Sui Zhen, Yin Bangqi, Li Zhaofa. Progress of TRAIL-based cancer treatment strategies. Letters in Biotechnology) 2011; 22(5): 733-37.
- 5 Zhao J, Lu Y, Shen HM. Targeting p53 as a therapeutic strategy in sensitizing TRAIL-induced apoptosis in cancer cells. *Cancer Lett* 2012; 314(1): 8-23.
- 6 Maksimovic-Ivanic D, Stosic-Grujicic S, Nicoletti F, Mijatovic S. Resistance to TRAIL and how to surmount it. *Immunol Res* 2012; 52(1/2): 157-68.
- 7 Yoshida T, Zhang Y, Rivera Rosado LA, Zhang B. Repeated treatment with subtoxic doses of TRAIL induces resistance to apoptosis through its death receptors in MDA-MB-231 breast cancer cells. *Mol Cancer Res* 2009; 7(11): 1835-44.
- 8 Shunchao Yan, Xiujuan Qu, Chong'an Xu, Zhitu Zhu, Lingyun Zhang, *et al.* Down-regulation of Cbl-b by bufalin results in up-regulation of DR4/DR5 and sensitization of TRAIL-induced apoptosis in breast cancer cells. *J Cancer Res Clin Oncol* 2012; 138: 1279-89.
- 9 Zhang Y, Zhang B. TRAIL resistance of breast cancer cells is associated with constitutive endocytosis of death receptors 4 and 5. *Mol Cancer Res* 2008; 6(12): 1861-71.
- 10 van Geelen CM, Pennarun B, Le PT, de Vries EG, de Jong S. Modulation of TRAIL resistance in colon carcinoma cells: Different contributions of DR4 and DR5. *BMC Cancer* 2011; 11: 39.
- 11 Lalaoui N, Morle A. TRAIL-R4 promotes tumor growth and resistance to apoptosis in cervical carcinoma HeLa cells through AKT. *PLoS One* 2011; 6(5): e19679.
- 12 冷向锋, 陈振雨, 张 秋, 孙汶生. 慢性乙肝患者外周血单个核细胞TRAIL受体表达及其临床意义. 基础医学与临床(Leng Xiangfeng, Chen Zhenyu, Zhang Qiu, Sun Wensheng. Expression of receptors for tumor necrosis factor related apoptosis inducing ligand (TRAIL) on peripheral blood mononuclear cells in human chronic hepatitis B patients and its clinical significance. *Basic & Clinical Medicine*) 2010; 30(03): 275-79.
- 13 Spierings DC, de Vries EG, Vellenga E, van den Heuvel FA, Koornstra JJ, Wesseling J, *et al.* Tissue distribution of the death ligand TRAIL and its receptors. *J Histochem Cytochem* 2004; 52(6): 821-31.
- 14 Razumilava N, Bronk SF, Smoot RL, Fingas CD, Werneburg NW, Roberts LR, *et al.* miR-25 targets TNF-related apoptosis inducing ligand (TRAIL) death receptor-4 and promotes apoptosis resistance in cholangiocarcinoma. *Hepatology* 2012; 55(2): 465-75.
- 15 Sudbery I, Enright AJ, Fraser AG, Dunham I. Systematic analysis of off-target effects in an RNAi screen reveals microRNAs affecting sensitivity to TRAIL-induced apoptosis. *BMC Genomics* 2010; 11: 175.
- 16 Choi K, Ryu SW, Song S, Choi H, Kang SW, Choi C. Caspase-dependent generation of reactive oxygen species in human astrocytoma cells contributes to resistance to TRAIL-mediated apoptosis. *Cell Death Differ* 2010; 17(5): 833-45.
- 17 Song IS, Kim SU, Oh NS, Kim J, Yu DY, Huang SM, *et al.* Peroxiredoxin I contributes to TRAIL resistance through suppression of redox-sensitive caspase activation in human hepatoma cells. *Carcinogenesis* 2009; 30(7): 1106-14.
- 18 Zhou Z, Liu R, Chen C. The WWP1 ubiquitin E3 ligase increases TRAIL resistance in breast cancer. *Int J Cancer* 2012; 130(7): 1504-10.
- 19 Murtaza I, Saleem M, Adhami VM, Hafeez BB, Mukhtar H. Suppression of cFLIP by lupeol, a dietary triterpene, is sufficient to overcome resistance to TRAIL-mediated apoptosis in chemoresistant human pancreatic cancer cells. *Cancer Res* 2009; 69(3): 1156-65.
- 20 Bleumink M, Kohler R, Giaisi M, Proksch P, Krammer PH, Li-Weber M. Rocaglamide breaks TRAIL resistance in HTLV-1-associated adult T-cell leukemia/lymphoma by translational suppression of c-FLIP expression. *Cell Death Differ* 2011; 18(2): 362-70.
- 21 Kelly PN, Strasser A. The role of Bcl-2 and its pro-survival relatives in tumorigenesis and cancer therapy. *Cell Death Differ* 2011; 18(9): 1414-24.
- 22 Goncharenko-Khaider N, Lane D, Matte I, Rancourt C, Piche A. The inhibition of Bid expression by Akt leads to resistance to TRAIL-induced apoptosis in ovarian cancer cells. *Oncogene* 2010; 29(40): 5523-36.
- 23 Gillissen B, Wendt J, Richter A, Muer A, Overkamp T, Gebhardt N, *et al.* Endogenous Bak inhibitors Mcl-1 and Bcl-xL: Differential impact on TRAIL resistance in Bax-deficient carcinoma. *J Cell Biol* 2010; 188(6): 851-62.
- 24 杨啊晶, 王雪梅, 李电东, 王 真. P53及其信号通路在肿瘤耐药分子机制中的研究进展. 中国新药杂志(Yang Ajing, Wang Xuemei, Li Diandong, Wang Zhen. Roles of P53 and its signaling pathway in tumor resistance. *Chinese Journal of New Drugs*) 2007; 16(1): 7-11.
- 25 Mohr A, Henderson G, Dudus L, Herr I, Kuerschner T, Debatin KM, *et al.* AAV-encoded expression of TRAIL in experimental human colorectal cancer leads to tumor regression. *Gene Ther* 2004; 11(6): 534-43.
- 26 Shi J, Zheng D, Liu Y, Sham MH, Tam P, Farzaneh F, *et al.* Overexpression of soluble TRAIL induces apoptosis in human lung adenocarcinoma and inhibits growth of tumor xenografts in nude mice. *Cancer Res* 2005; 65(5): 1687-92.
- 27 Wang YG, Huang F, Cai HB, Zhong SY, Liu XY, Tan WS. Potent antitumor effect of TRAIL mediated by a novel adeno-associated viral vector targeting to telomerase activity for human hepatocellular carcinoma. *J Gene Med* 2008; 10(5): 518-26.
- 28 Cao X, Yang M, Wei RC, Zeng Y, Gu JF, Huang WD, *et al.* Cancer targeting Gene-Viro-Therapy of liver carcinoma by dual-regulated oncolytic adenovirus armed with TRAIL gene. *Gene Ther* 2011; 18(8): 765-77.
- 29 Wang YG, Huang F, Cai HB, Wu YM, He GQ, Tan WS. The efficacy of combination therapy using adeno-associated virus-TRAIL targeting to telomerase activity and cisplatin in a mice model of hepatocellular carcinoma. *J Cancer Res Clin Oncol* 2010; 136(12): 1827-37.
- 30 Pan Q, Liu B, Liu J, Cai R, Wang Y, Qian C. Synergistic induction of tumor cell death by combining cisplatin with an oncolytic adenovirus carrying TRAIL. *Mol Cell Biochem* 2007; 304(1/2): 315-23.
- 31 Xu J, Zhou JY, Wei WZ, Wu GS. Activation of the Akt survival

- pathway contributes to TRAIL resistance in cancer cells. *PLoS One* 2010; 5(4): e10226.
- 32 Dieterle A, Orth R, Daubrawa M, Grotebauer A, Alers S, Ullrich S, *et al.* The Akt inhibitor triciribine sensitizes prostate carcinoma cells to TRAIL-induced apoptosis. *Int J Cancer* 2009; 125(4): 932-41.
- 33 Fakler M, Loeder S. Small molecule XIAP inhibitors cooperate with TRAIL to induce apoptosis in childhood acute leukemia cells and overcome Bcl-2-mediated resistance. *Blood* 2009; 113(8): 1710-22.
- 34 Metwalli AR, Khanbolooki S, Jinesh G, Sundi D, Shah JB, Shrader M, *et al.* Smac mimetic reverses resistance to TRAIL and chemotherapy in human urothelial cancer cells. *Cancer Biol Ther* 2010; 10(9): 885-92.
- 35 Prasad S, Yadav VR, Kannappan R, Aggarwal BB. Ursolic acid, a pentacyclic triterpene, potentiates TRAIL-induced apoptosis through p53-independent up-regulation of death receptors: Evidence for the role of reactive oxygen species and JNK. *J Biol Chem* 2011; 286(7): 5546-57.
- 36 Maginn EN, Browne PV, Hayden P, Vandenberghe E, MacDonagh B, Evans P, *et al.* PBOX-15, a novel microtubule targeting agent, induces apoptosis, upregulates death receptors, and potentiates TRAIL-mediated apoptosis in multiple myeloma cells. *Br J Cancer* 2011; 104(2): 281-9.
- 37 Oikonomou E, Koc M, Sourkova V, Andera L, Pintzas A. Selective BRAFV600E inhibitor PLX4720, requires TRAIL assistance to overcome oncogenic PIK3CA resistance. *PLoS One* 2011; 6(6): e21632.
- 38 Chen KF, Tai WT, Liu TH, Huang HP, Lin YC, Shiau CW, *et al.* Sorafenib overcomes TRAIL resistance of hepatocellular carcinoma cells through the inhibition of STAT3. *Clinical Cancer Res* 2010; 16(21): 5189-99.
- 39 Menke C, Bin L, Thorburn J, Behbakht K, Ford HL, Thorburn A. Distinct TRAIL resistance mechanisms can be overcome by proteasome inhibition but not generally by synergizing agents. *Cancer Res* 2011; 71(5): 1883-92.

The Mechanisms of TRAIL Resistance and the Novel Strategies for Reversing TRAIL Resistance

Lu Jiayan, Yang Yuanqin, Zhou Li, Wang Yigang*

(School of Life Sciences, Xinyuan Institute of Medicine and Biotechnology, Zhejiang Sci-Tech University, Hangzhou 310018, China)

Abstract TNF-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) is an endogenous factor that can selectively induce tumor cell apoptosis without side effects to normal cells. Thus it is considered as a promising anti-cancer agent. However, present studies show that many human cancer cells are resistant to TRAIL, resulting in the arising bottleneck during the course of TRAIL clinical treatment. More and more evidence suggests that several key signaling pathway may be responsible for the development of resistance to TRAIL. Yet, it was reported that some natural medicines and small molecular inhibitors can partially restore the sensitive to TRAIL-induced apoptosis in cancer cells. This review mainly describes the molecular mechanisms of TRAIL resistance to tumor cells, and the underlying strategies for how to overcome efficiently TRAIL resistance to tumor cells.

Key words TRAIL; resistance; signaling pathway; reverse

Received: June 28, 2012 Accepted: August 6, 2012

This work was supported by Zhejiang Sci-Tech University Study Start-up Grant(No.1016834-Y, No.1016845-Y), Zhejiang Sci-Tech University Experimental Teaching Center of Experimental Teaching Reform Project and High Technology Research Development Program of China (No. 2012AA020806)

*Corresponding author. Tel: 86-571-86843187, E-mail: wangyigang43@163.com