

# TRAIL 及其受体在细胞凋亡中的作用

萨其拉<sup>1,2</sup> 罗玉英<sup>2</sup> 刘孟珉<sup>1</sup>

(1 军事医学科学院放射医学研究所 北京 100850)

(2 首都师范大学生物系 北京 100037)

**摘要** TRAIL 是最近发现的 TNF 家族的新成员。它在结构和功能方面和 TNF 家族的另一成员——Fas/ APO-1L 很相似。TRAIL 能够诱导多种转化细胞凋亡,但对正常细胞没有这种作用。目前共发现了 TRAIL 的 5 个受体。本文就 TRAIL 及其受体的结构和功能以及可能存在的调控机制等方面进行了综述。

**关键词** TRAIL 受体 凋亡 调控

## 1 TRAIL 的结构及其受体的发现

肿瘤坏死因子相关的凋亡诱导配体(TNF-related apoptosis-inducing ligand, TRAIL) 是 1995 年由 Wiley SR 等<sup>[1]</sup>克隆的肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF) 家族成员。其结构和功能类似于 TNF 家族的另一成员 Fas/ APO-1L, 所以又称 APO-2L<sup>[2]</sup>。人 TRAIL 基因的转录本存在于多种组织中,如胎肝、胎肺、胎肾以及成人脾、胸腺、前列腺、卵巢、小肠、结肠、外周血淋巴细胞、心脏、胎盘、肺、骨骼肌、肾脏等。人和鼠的 TRAIL 分别由 281 和 291 个氨基酸组成,它们之间具有 65% 的同源性。同其它 TNF 家族成员一样,TRAIL 也属于典型的 II 型跨膜蛋白,在溶液中也形成三聚体或二聚体。C 端和其它 TNF 家族成员具有很高的同源性。胞内区很短,只有 17 个氨基酸。人 TRAIL 基因已被定位于染色体 3q26 上<sup>[1, 2]</sup>。

TRAIL 最大的吸引力在于它能促使肿瘤细胞凋亡,而对正常细胞没有影响。正因为它的这一特点,以及由此而生的作为抗肿瘤制剂的潜能,从它被发现之日起,就引起了人们极大的关注。

TRAIL 为什么只诱导肿瘤细胞凋亡,而对正常细胞不起作用? 人们一开始推测可能在肿瘤细胞中存在着它的受体,而在正常细胞中则没有。然而 TRAIL 第一个受体——DR4(death receptor 4)的发现,使人们大失所望,因为正常细胞和肿瘤细胞表面都有 DR4<sup>[3]</sup>。DR4 的胞内区含有死亡结构域。死亡结构域(death domain, DD) 是广泛存在于具有诱导细胞凋亡作用的 TNF 家族成员以及其它一些能够传递凋亡信号的蛋白质分子,如 FADD(Fas associated death domain protein)、TRADD(TNFR1 asso-

ciated death domain protein)、RIP(receptor-interacting protein) 中的由 60~ 80 个氨基酸构成的保守序列。通过用 DR4 死亡结构域的序列搜索 EST 库,发现了 TRAIL 的第二个受体——DR5<sup>[4~ 6]</sup>,但 DR5 同样在正常细胞和肿瘤细胞中都有表达。研究者们又一次开始搜索 EST 库,这次用的不是死亡结构域的序列,而是 DR4 胞外区以及跨膜区的序列。结果发现了 TRAIL 的第三、第四个受体——DcR1<sup>[4, 5, 7~ 10]</sup>、DcR2<sup>[11~ 13]</sup>。令人兴奋的是,这两个受体只表达于正常细胞中。DcR1 只有胞外区和跨膜区,而没有胞内的死亡结构域。DcR2 也只有部分死亡结构域。因此它们虽然可以和 TRAIL 结合,但不能向下传递 TRAIL 的凋亡信号,因而是作为 TRAIL 的“引诱”(decoy) 受体存在于正常细胞中,保护正常细胞免遭 TRAIL 诱导的凋亡作用。迄今共发现了 TRAIL 的 5 个受体,前四个都已定位于染色体 8p22-21 上。

## 2 TRAIL 受体的结构和功能

### 2.1 DR4<sup>[3]</sup>

又称 TRAIL-R1,在多种组织中均有表达。它属于 I 型跨膜蛋白,含有 468 个氨基酸残基,N 端是信号肽,成熟的 DR1 由胞外区、跨膜区、胞内区三个部分组成。其中胞内区包含有 70 个氨基酸残基组成的死亡结构域。DR4 能够诱导细胞凋亡,但不能激活转录因子 NF- $\kappa$ B。DR4 的诱导凋亡作用不依赖于 FADD、TRADD、RIP 等蛋白质<sup>[3]</sup>。

### 2.2 DR5<sup>[4~ 6]</sup>

又称 TRAIL-R2、TRICK (TRAIL receptor inducer of cell killing 2),也存在于多种组织中。DR5 含有 440 个氨基酸残基,也属 I 型跨膜蛋白。在结

构和功能上和 DR4 极为相似,且有 49% 的氨基酸序列相同。DR5 也由信号肽、胞外区、跨膜区、胞内区四部分组成。胞外区含有两个半胱氨酸丰富的伪重复区,这也是 TNF 受体家族的一大特征。胞内区含有 67 个氨基酸的死亡结构域。DR5 也具有诱导细胞凋亡作用,且这种作用也与 FADD、TRADD、RIP 无关<sup>[5]</sup>。

#### 2.3 DcR1<sup>[4, 5, 7~10]</sup>

DcR1 (decoy receptor 1), 又称 TRAIL-R3, TRID (TRAIL receptor without an intracellular domain), LIT (lymphocyte inhibitor of TRAIL), 转录本只存在于外周血淋巴细胞、脾、骨骼组织中,而在绝大多数肿瘤细胞中观察不到<sup>[5, 9]</sup>。DcR1 高度糖基化,并可能通过一个磷脂酰肌醇“锚”结合于细胞膜上<sup>[5]</sup>。其胞外区和 TRAIL 的其它受体有很高的同源性,且含有两个半胱氨酸丰富的伪重复区及 5 个由 15 个氨基酸组成的 TAPG (苏氨酸、丙氨酸、脯氨酸、谷氨酸) 重复区。但它没有胞内区,因而不能诱导细胞凋亡。外源 DcR1 在哺乳动物细胞中表达,能保护细胞不受 TRAIL 诱导的凋亡作用<sup>[18]</sup>。DcR1 能够激活转录因子 NF- $\kappa$ B。

#### 2.4 DcR2<sup>[11~13]</sup>

DcR2 又称 TRUNDD (TRAIL receptor with a truncated death domain)、TRAIL R4, 和 DR4、DR5、DcR1 具有 60~70% 的同源性。其转录本存在于多种组织中。它的 N 端是信号肽,胞外区也有两个半胱氨酸丰富的重复区,但胞内区只有 1/3 的死亡结构域,所以也不能传递 TRAIL 的诱导细胞凋亡信号。与此相应,外源 DcR2 在哺乳动物细胞中表达,细胞不被 TRAIL 诱导凋亡<sup>[11]</sup>。DcR2 能够激活转录因子 NF- $\kappa$ B。

#### 2.5 OPG<sup>[14]</sup>

OPG (osteoprotegerin) 具有抑制破骨细胞发生、增加骨骼密度的作用。在转基因小鼠中表达能使脾肿大。OPG 能和 TRAIL 结合,并抑制 TRAIL 的诱导细胞凋亡作用。反过来,TRAIL 也能抑制它的抑制破骨细胞发生和增加骨骼密度的作用。可见 OPG 和 TRAIL 是相互抑制的。

### 3 TRAIL 的功能及可能的调控机制

TRAIL 具有诱导多种肿瘤细胞、淋巴细胞凋亡以及激活转录因子 NF- $\kappa$ B 的作用。研究发现,TRAIL 可在激活的人和小鼠 T 细胞及 B 细胞表面表达,还能够诱导一些白血病细胞系、急性白血病病人的淋巴细胞以及 HIV-1 感染病人的外周血 T 细

胞凋亡。转化的 T 细胞和 B 细胞也组成性地表达 TRAIL。在体外,经长时间激活的 T 细胞对 Fas 介导的细胞凋亡作用非常敏感,而对 TRAIL 诱导的凋亡仍有抗性。HIV-1 感染的 T 细胞对 Fas 的敏感性提高,对 TRAIL 则更加敏感。一些对 Fas 介导的凋亡作用具有抗性的细胞系,对 TRAIL 却敏感。所有这些结果表明,TRAIL 可能参与 T 细胞诱导的细胞凋亡,TRAIL 和 Fas 存在着不同的信号转导途径<sup>[15, 16]</sup>。

TRAIL 在结构和功能方面同 TNF 家族的另一成员——Fas 有很多相似之处。几年前研究者就发现, Fas 通过 FADD 传递信号,并依赖 Caspase 蛋白酶行使功能。而最近的研究表明, Caspase 蛋白酶的抑制剂可以抑制 TRAIL 诱导的细胞凋亡,说明 TRAIL 的诱导细胞凋亡过程中也有 Caspase 蛋白酶的参与<sup>[16, 17, 20]</sup>。最近研究表明, Caspase 9 的一种缺失催化位点的突变体能够通过抑制 Caspase 9 和 Apaf-1 的结合而抑制 TRAIL 诱导的细胞凋亡作用,表明 Caspase 9 可能是 TRAIL 诱导细胞凋亡的效应分子之一<sup>[21]</sup>。

Schneider P 等 (1997)<sup>[18]</sup> 研究发现, TRAIL 的两个受体 DR4、DR5 可以相互结合形成异源二聚体,而且这两个受体都可以和 FADD 及 TRADD 相结合,表明 TRAIL 也可能通过 FADD 传递凋亡信号。TRAIL 可能通过和 TRADD 结合,激活 NF- $\kappa$ B。然而也存在相反的结论, Pan G 等 (1997)<sup>[3]</sup> 的研究表明, DR4 不能和 FADD、TRADD、RIP 等结合。TRAIL 的另外两个受体 DcR1、DcR2 不能和 FADD 结合。

金属蛋白酶 (metalloprotease) 的抑制剂能够提高 Fas 的表面表达,但不能提高 TRAIL 的表面表达。而半胱氨酸蛋白酶抑制剂能够提高 TRAIL 的表面表达,表明产生活性形式的 TRAIL 需要半胱氨酸蛋白酶活性, TRAIL 和 Fas 存在着不同的调控机制<sup>[19]</sup>。

Griffith TS 等 (1998)<sup>[20]</sup> 的研究表明,对 TNF 家族的其它成员,如 Fas、TNF- $\alpha$ 、CD40L 等具有抗性的黑色素瘤细胞却对 TRAIL 敏感。TRAIL 的“保护性”受体 (DcR1、DcR2) 的 mRNA 的存在与否和黑色素瘤细胞对 TRAIL 的敏感性并不相关。而细胞内一些蛋白质合成抑制剂却与黑色素瘤细胞对 TRAIL 的敏感性有关。与细胞凋亡有关的蛋白酶 FLICE (FADD-like ICE) 的抑制剂 FLIP (FLICE-inhibitory protein) 在对 TRAIL 具有抗性的黑色素瘤细胞中是高表达的,而在对 TRAIL 敏感的黑色素

瘤细胞中不表达或低水平表达。放线菌素 D 能够降低细胞内 FLIP 的浓度, 从而提高黑色素瘤细胞对 TRAIL 的敏感性。这也表明黑色素瘤细胞对 TRAIL 的抗性是由细胞内的调控因子调控的, TRAIL 可能在治疗人类黑色素瘤中有重要作用<sup>[20, 21]</sup>。

4 存在的问题及展望

TRAIL 作为 TNF 家族的新成员被发现以来, 有关它及受体的研究取得了很大进展。但仍有许多问题有待解决。例如, TRAIL 的信号转导机制; TRAIL 是否还有其他新的生物学活性等。天然来源的 TRAIL 较少, 因此用基因工程技术生产重组 TRAIL 成为研究和应用的关键。然而目前只有融合蛋白形式的重组 TRAIL, 如 GST-TRAIL, 表达出来。但融合蛋白在应用中存在着一些问题, 这使 TRAIL 结构和功能的研究受到一定的限制。

随着对 TRAIL 的研究的不断深入, TRAIL 很有希望成为新一代的抗肿瘤制剂。正如一个 TRAIL 研究小组的负责人 Dixit 所说, TRAIL 很可能是长期寻找的、独立于 P53 的能使细胞凋亡的分子, 而且它没有 TNF 的毒副作用。Genentech 和 Immunex 等公司已经开始用 TRAIL 对患癌的啮齿类进行实验。然而动物实验才刚刚开始, 现在下结论还为时尚早。TRAIL 和传统的抗肿瘤制剂联合

使用, 可能不失为一种有效的肿瘤治疗方法。因为有研究表明一些化疗剂如阿霉素能够增强 TRAIL 的细胞凋亡作用<sup>[23]</sup>。

参考文献

[ 1 ] Wiley SR et al. Immunity. 1995. 3: 673– 682  
[ 2 ] Pitti RM et al. J Biol Chem. 1996. 271: 12687– 12690  
[ 3 ] Pan G et al. Science. 1997. 276: 111– 113.  
[ 4 ] MacFarlane M et al. J Biol Chem. 1997. 272: 25417– 25420  
[ 5 ] Schneider P et al. FEBS Letters. 1997. 416: 329– 334  
[ 6 ] Screaton GR et al. Curr biol. 1997. 7: 693– 696  
[ 7 ] Sheridan JP et al. Science. 1997. 277: 818– 821  
[ 8 ] Pan G et al. Science. 1997. 277: 815– 817  
[ 9 ] Degli Esposti MA et al. J Exp Med. 1997. 186: 1165– 1170  
[ 10] Mongkolsapaya J et al. J Immunology. 1998. 160: 3– 6  
[ 11] Pan G et al. FEBS Letters. 1998. 424: 41– 45  
[ 12] Masters SA et al. Curr biol. 1997. 7: 1003– 1006  
[ 13] Degli Esposti MA et al. Immunity. 1997. 7: 813– 820  
[ 14] Emery JG et al. J Biol Chem. 1998. 273: 14363– 14367  
[ 15] Mariani SM et al. Eur J Immunol. 1998. 28: 1492– 1498  
[ 16] Jeremias I et al. Eur J Immunol. 1998. 28: 143– 152  
[ 17] Masters SA et al. Curr Biol. 1996. 6: 750– 752  
[ 18] Schneider P et al. Immunity. 1997. 7: 831– 836  
[ 19] Mariani SM et al. Eur J Immunol. 1998. 28: 973– 982  
[ 20] Griffith TS et al. J Immunol. 1998. 161: 2833– 2840  
[ 21] Seol DW et al. J Biol Chem. 1999. 274: 2072– 2076  
[ 22] Thomas WD et al. J Immunol. 1998. 161: 2195– 2200  
[ 23] Kean e MM et al. Cancer Res. 1999. 59: 734– 741

The function of TRAIL and Its Receptor in Apoptosis

()

**Abstract** TRAIL, also named Apo-2L, is a new member of the TNF superfamily, which is similar to another member of TNF family, Fas/Apo-1L, both in structure and function. TRAIL can induce apoptosis in various tumor cells. Five receptors of TRAIL have been found. The structure and function of TRAIL and its receptor is reviewed.