

放疗联合 TRAIL 治疗在肿瘤治疗中的应用前景

何丽梅, 欧阳学农, 余宗阳, 李 捷

(福建医科大学福总临床医学院, 南京军区福州总医院, 福建 福州 350025)

摘要: 肿瘤坏死因子相关诱导凋亡配体(TRAIL)是肿瘤坏死因子(TNF)家族的新成员, 具有广谱、高效、安全的抗肿瘤作用。在临床前的体外实验及移植瘤中, 其与放疗联合显示出协同抗肿瘤效应和良好的安全性, 具有广阔的临床应用前景。文章就 TRAIL 的分子生物学特性、放疗与 TRAIL 联合模式及其优势作一综述。

关键词: 凋亡; 放疗; TRAIL; 肿瘤; 治疗

中图分类号: R730.5 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-170X(2013)04-0296-06

Prospect of Radiotherapy Combined with TRAIL for Cancer

HE Li-mei, OUYANG Xue-nong, YU Zong-yang, et al.

(Fuzhou General Hospital of Nanjing Command, Fujian Medical University, Fuzhou 350025, China)

Abstract: Tumor necrosis factor related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) is a new member of TNF super family, with broad, efficient and safe antitumor activity. It has showed synergistic and safe antitumor effect while TRAIL combined with radiotherapy in the preclinical experiment in vitro and in vivo, with a wide prospect in clinic. The molecular biological characteristics of TRAIL, the combination mode of radiotherapy and the superiority were reviewed in this paper.

Subject words: apoptosis; radiotherapy; TRAIL; neoplasms; treatment

放疗是肿瘤治疗的一种重要手段。近年来, 虽然放疗技术及设备有了很大的进步, 但其疗效仍不令人满意。寻求一种不良反应小、靶向性强的理想药物与放疗联合, 是提高肿瘤治疗疗效的一种重要措施。肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)相关凋亡诱导配体 (TNF related apoptosis-inducing ligand, TRAIL), 能够高选择性诱导肿瘤细胞凋亡, 对正常细胞无毒副作用, 并且与放疗联合具有协同作用, 在肿瘤治疗方面有重要价值。目前研究较多的是重组 TRAIL(rhTRAIL)和 TRAIL 的单克隆抗体, 本文主要介绍的是前者。

1 TRAIL 的分子生物学特性

1.1 TRAIL 的由来

凋亡素 2 配体(Apo-2 ligand, Apo2L), 或称肿瘤

通讯作者: 欧阳学农, 主任医师, 教授, 博士; 南京军区福州总医院, 福建省福州市西二环北路 156 号(350025); E-mail: oyxnong@163.com。

收稿日期: 2012-10-25; **修回日期:** 2012-12-14

坏死因子相关凋亡诱导配体(TRAIL), 是近年来发现的 TNF 超家族新成员。TRAIL/Apo2L 是 1995 年由 Wiley 等^[1]发现并克隆出来的, 因其氨基酸序列与 Fas/Apo-1L、TNF- α 等 TNF 家族成员具有同源性, 同时又具有引起细胞凋亡的特性, 故而得名^[2]。rhTRAIL 是由 114~281 个氨基酸组成的可溶性多肽。与其他 TNF 家族成员类似, rhTRAIL 也是同源三聚体结构, 其中央含有锌离子, 可结合到三聚体亚基的半胱氨酸侧链上, 在维持可溶性、稳定性及生物学活性中起着重要作用。此外, rhTRAIL 不含有外源序列标签。

1.2 TRAIL 的受体

TRAIL 主要通过受体介导凋亡信号转导, 促进细胞凋亡。目前发现的 TRAIL 受体有 5 种, 其中死亡受体 4 (DR4) 和死亡受体 5 (DR5), 含有激活细胞死亡通路的胞内区域即死亡结构域(death domain, DD), 是介导 TRAIL 诱导凋亡的受体^[3-5]; 诱捕受体 1 (DcR1)、诱捕受体 2 (DcR2)、骨保护素(OPG), 由于缺乏死亡结构域或死亡结构域不完整, 与 Apo2L/

TRAIL 结合后不能诱导细胞凋亡,但可作为诱捕受体与 DR4、DR5 竞争性地结合,抑制其诱导细胞凋亡的功能^[3,6-8]。

1.3 TRAIL 的凋亡途径

TRAIL 作用的主要途径是通过与细胞膜表面的死亡受体 DR4 和 DR5 结合,激活 DR4、DR5 分子中的 DD,使其相互聚集形成三聚体复合物,并通过同嗜作用招募 Fas 分子相关蛋白(Fas-associated death domain,FADD)。FADD 的死亡效应结构域(death effector domain,DED) 又进一步与胱天蛋白酶原-8 (pro-caspase-8) 和 caspase 10 酶原以串联形式结合,形成死亡诱导信号复合体 (death inducing signaling complex,DISC)^[9]。在 DISC 中 pro-caspase-8 自身催化成有活性的胱天蛋白酶-8 (caspase-8)。被激活的 caspase-8 启动了非线粒体依赖途径和线粒体依赖的两种细胞凋亡途径^[10]。

非线粒体依赖凋亡途径即细胞外途径,活化的 caspase-8 直接激活下游效应蛋白水解酶 caspase-3、6、7,启动级联反应,并产生细胞外凋亡信号;线粒体依赖性凋亡途径即细胞内途径,激活的 caspase-8 作用于促凋亡因子 Bid 形成有活性的 tBid (truncated Bid),tBid 迁移到线粒体内,使线粒体通透性增加,释放出可溶性分子如细胞色素 C (cytochrome C) 和 Smac/DIABLO (second mitochondria-derived activator of caspase) 等线粒体蛋白到胞质中。cytochrome C 与凋亡蛋白酶激活因子 1 (APAF-1)、dATP、caspase-9 形成凋亡复合体 (apoptosome),激活 caspase-9,随之激活 caspases-3、6 和 7,从而诱导细胞凋亡。

2 放疗与 TRAIL 联合的模式

2.1 放疗联合治疗的设想

从 1895 年伦琴发现 X 线开始,放射治疗就已经应用于临床,随着计算机技术以及放疗设备的不断进步,放疗的适应证不断拓展。在肿瘤患者的治疗过程中,大约 50% 左右的病人需要接受放射治疗,但其治疗的有效率仅在 40% 左右^[11]。临床应用,放射治疗的疗效受到诸多因素影响。首先,个体对治疗不良反应的耐受性影响着临床剂量的应用。其次,临床治疗发现并非所有肿瘤均对放疗敏感,且部分肿瘤在治疗过程中会出现抵抗,从而使放疗疗效大

大降低。研究认为,肿瘤放疗抵抗不仅与肿瘤细胞类型、组织氧分布有关,而且与细胞内参与 DNA 损伤修复及细胞凋亡的关键分子也有着密切的关系。为提高放疗疗效,提出了放疗联合治疗的设想。

2.2 TRAIL 是联合治疗的一种理想药物

2.2.1 TRAIL 具有广谱的抗肿瘤活性

在临床前体内外实验中,TRAIL 在肺癌、结直肠癌、胰腺癌、乳腺癌、骨髓瘤、胶质瘤及淋巴瘤等多种肿瘤细胞及移植瘤中都显示出了明显的促进肿瘤细胞凋亡、抑制肿瘤生长的作用^[12-17]。此外,TRAIL 在与细胞毒性药物(包括多西他赛、紫杉醇、阿霉素、长春新碱、顺铂等)、放疗、蛋白酶体抑制剂(如硼替佐米、MG132 等)以及靶向药物等联合中也显示出协同的抗肿瘤作用^[15,18-23]。在 I 期临床试验中,入组了 71 例结直肠癌、黑色素瘤、肺癌、卵巢癌的患者,给予 0~30mg/kg 的 rhTRAIL 治疗,41 例(46%)疾病稳定(SD),2 例骨肉瘤患者(3%)达到部分缓解(PR);在计划试验浓度范围内,患者对 TRAIL 具有较好的耐受性^[24]。在一项 rhTRAIL 联合紫杉醇(P)、卡铂(C)、贝伐单抗(B)的 Ib 期临床试验中,入组了 24 例初治的、非鳞癌的、III/IV 期 NSCLC 患者,分为 4 组,每组 6 人,分别给予 TRAIL 4mg/(kg·d) × 5d、8mg/(kg·d) × 5d、15mg/(kg·d) × 2d 或 20mg/(kg·d) × 2d 联合 PCB,21d 为 1 个周期。结果没有观察到明显的剂量限制性毒性及最大耐受剂量,患者都能很好地耐受联合治疗方案;1 例达到完全缓解(CR),13 例达到 PR,总有效率为 58%,中位无进展生存期(PFS)为 7.2 个月^[25]。

2.2.2 TRAIL 能够选择性杀伤肿瘤细胞

与 TNF 家族的其他成员 TNF、FasL 不同,TRAIL 对正常组织、细胞无明显毒副作用。秦乃阳等^[12]用 TRAIL、抗 CD95 抗体 Jo2 注射裸鼠。分别用 5、50、100 μg/ml 的 TRAIL 连续注射裸鼠 5d,未观察到明显的体重下降、生存时间缩短、肝损伤等不良反应;相反,在注射抗 CD95 抗体 Jo2 3h,裸鼠即死亡;用同等浓度的 TRAIL 处理 SUM 149、SUM 229、MCF10A 等多种乳腺癌细胞及正常乳腺上皮细胞,发现 TRAIL 能够明显引起多株的乳腺癌细胞凋亡,而对正常乳腺上皮细胞无明显影响。Hao 等^[26]得出一致的结论:用 FasL、TRAIL 干预肝细胞,前者能够迅速促进其凋亡,而后者则未观察到细胞凋亡,其可

能与肝细胞表面高表达 Fas, 而低表达或不表达死亡受体 DR4、DR5 有关。进一步在免疫缺陷嵌合鼠中证实, 注射 FasL 后, 小鼠出现严重肝损伤并死亡; TRAIL 能明显抑制黑色素移植瘤的生长, 但对正常肝细胞无损伤作用。后来在猿猴、黑猩猩及 I、Ib 期临床试验中, TRAIL 均显示出很好的耐受性^[24,25,27]。但 TRAIL 选择性杀伤的机制至今尚未阐明清楚, 可能是通过诱骗受体竞争性结合 TRAIL、凋亡抑制因子 c-Flip 抑制 caspase 的活化等阻断了死亡受体途径, 从而使正常细胞免受细胞毒性。说明 TRAIL 具备其高选择性、广谱的抗肿瘤活性及良好的安全性等优势, 可作为一种理想的放疗联合药物, 在肿瘤治疗中具有广阔的应用前景。

2.3 放射治疗与 TRAIL 在诱导细胞凋亡通路上具有互补作用

放射治疗与 TRAIL 在诱导细胞凋亡的通路上有所不同。TRAIL 主要通过死亡受体信号途径激活凋亡起始因子 caspase-8, 从而启动了非线粒体依赖途径和线粒体依赖的两条细胞凋亡途径, 促进细胞凋亡; 放射治疗和细胞毒性药物主要是通过线粒体途径发挥作用^[11], 受 Bcl-2 蛋白家族中促凋亡因子(如 Bax、Bak、Bid 等)和抗凋亡因子(包括 Bcl-2、Bcl-xL 等)相互作用调控。Belka 等^[28]以 T 淋巴细胞株为研究对象, 探讨 Bcl-2 表达水平与 TRAIL、放疗的凋亡机制之间的关系。对照组中 TRAIL 与放疗的凋亡效应都表现为明显的时间、浓度/剂量依赖性; Bcl-2 高表达细胞在 TRAIL 低剂量时(10ng/ml)表现为抵抗, 高剂量(100ng/ml)的作用仅轻度减弱; 而对射线则表现出明显的抵抗。可见, Bcl-2 具有延迟、减弱 TRAIL 的凋亡诱导作用。进一步研究其凋亡通路发现, 在 Bcl-2 高表达细胞中, 射线干预后未见 caspase-8、3 活化及 BID 的裂解; TRAIL 的 caspase-8、3 活化及 BID 的裂解较对照组延迟、减弱, 但用 caspase 的广谱抑制剂 zVAD 干预后, TRAIL 的凋亡诱导作用明显减弱。此外, caspase-8 基因缺陷的 T 淋巴细胞对 CD95L 表现出明显抵抗, 而在射线处理后凋亡仅轻度减少^[29]。可见, TRAIL 诱导细胞凋亡主要是通过活化 caspase-8 传递凋亡信号, 并不依赖线粒体途径, 但线粒体反馈具有放大 TRAIL 的凋亡效应的作用; 相反, 放疗则主要通过线粒体途径发挥作用。

放射治疗与 TRAIL 的诱导细胞凋亡通路虽然有所不同, 但两者联合却具有互补作用。Belka 等^[28]用不同剂量的 TRAIL(1、5、10、25ng/ml)与射线(2、5、10Gy)联合干预对射线不敏感的 Bcl-2 高表达细胞, 细胞凋亡率比单用 TRAIL 或单用射线照射组明显增多, 其机制可能与上调 DR5 表达有关; Wissink 等^[30]用 X 射线联合 TRAIL 干预对放疗抵抗的 Bcl-2 高表达、p53 基因突变的白血病细胞及免疫缺陷的小鼠移植瘤, 发现联合 TRAIL 后细胞凋亡增多、克隆形成减少, 肿瘤生长速度延缓。

放疗与 TRAIL 通过不同的通路诱导细胞凋亡, 但两条通路又相互交错, 通过 Bcl-2 家族蛋白以及 caspase-8 相互调控, 通过线粒体反馈循环可放大 TRAIL 的凋亡信号, 两者联合具有互补作用, 尤其是在对其中任一者抵抗的肿瘤治疗中, 两者联合治疗具有明显的优势。

3 放疗联合 TRAIL 治疗的优势

3.1 促进细胞凋亡作用

不同的抗肿瘤药物/手段联合治疗的首要宗旨就是为提高肿瘤治疗的疗效。多项的体外细胞学及体内的动物移植瘤研究发现, 放射治疗与 TRAIL 联合具有协同促进细胞凋亡, 或抑制肿瘤生长的作用。

Chinnaiyan 等^[12]率先在 SUM190、SUM149、SUM225、SUM44 和 MCF-7 等多种乳腺癌细胞株中, 应用 TRAIL 和放疗联合干预, 在 p53 基因突变型的前 3 种细胞株中联合后仅表现出叠加作用, 而 p53 基因野生型的 SUM44 和 MCF-7 则表现明显的协同作用。进一步发现, 联合治疗的细胞凋亡促进效应可能与上调死亡受体 DR5 的表达有关。可见, 放射治疗与 TRAIL 联合治疗的效应与 p53 基因的状态有关。后 Marini 等^[15]将联合治疗的尝试扩展到了乳腺癌(MDA MB231)、肺癌(NCI H460)、结直肠癌(Colo205, HCT-15)、头颈部肿瘤(FaDu, SCC-4)等 6 种细胞株。6 种肿瘤细胞联合后都表现出了细胞凋亡率增加, 其中, 经过放疗后 4 种肿瘤细胞出现了死亡受体 DR5 的上调。说明 DR5 并不是协同凋亡效应的惟一机制。进一步分析发现, 4 种出现 DR5 的上调的细胞中包括了 p53 基因突变的结肠癌 HCT-15 细胞株, 且 DR5 表达量上调的多少与细胞凋亡效应无

明显的相关性。可见,DR5 的上调并非都依赖 p53,这与 Ravi 等^[31]的可通过 NF- κ B 信号途径上调死亡受体表达的结论相吻合。现关于放疗与 TRAIL 联合的凋亡促进作用,在宫颈癌、胶质瘤、前列腺癌、胃癌、骨肉瘤等多种肿瘤细胞的体外试验及移植瘤模型中也得到证实^[32-34]。

3.2 互补、逆转各自抵抗/耐药的作用

放射治疗与 TRAIL 联合的协同作用已在多种肿瘤细胞株及移植瘤中得到证实,此外,值得一提的是,在对 TRAIL 或放疗耐药/抵抗的一些肿瘤细胞及动物移植瘤中发现,联合后可以增强耐药/抵抗细胞对 TRAIL 或放疗的敏感性,表现出协同促进肿瘤细胞凋亡、抑制肿瘤生长的作用。

3.2.1 放射治疗与 TRAIL 联合可以逆转 TRAIL 耐药

尽管 TRAIL 的广谱的抗肿瘤活性已得到了证实,但仍有约 50%的肿瘤细胞对 TRAIL 具有抵抗或易产生获得性耐药^[35]。TRAIL 抵抗的原因主要有以下几点:死亡受体 DR4、DR5 突变或缺失;诱骗受体 DcR1、DcR2 过表达;凋亡抑制因子 c-FLIP 等过表达;原发性 FADD 减少;caspase-8 异常;肿瘤的异质性等^[36]。在多项体内外试验发现,放射治疗与 TRAIL 联合后能够改变肿瘤细胞的敏感性,使原先对 TRAIL 不敏感或抵抗的肿瘤细胞变得敏感,同时联合治疗又表现出协同的抗肿瘤效应。

在对 TRAIL 不敏感的 MCF-7 细胞及其裸鼠移植瘤模型中发现,X 射线能够增强 MCF-7 细胞对 TRAIL 的敏感性,两者联合后能够明显促进肿瘤细胞凋亡,抑制肿瘤生长,其协同效应为 p53 依赖的,可能通过上调 DR5 的表达实现^[12];Kim 等^[37]选取对 TRAIL 具有获得性耐药的结直肠癌细胞 CX-1,联合电离辐射后细胞凋亡增多,说明电离辐射能够克服 TRAIL 的获得性耐药,其可能通过促进细胞色素 C 的释放,激活 caspase,启动级联反应。

3.2.2 放射治疗与 TRAIL 联合可以逆转放疗抵抗

肿瘤组织的乏氧、细胞凋亡抑制因子过表达、DNA 损伤修复蛋白高表达等都会降低肿瘤的放疗敏感性,甚至造成放疗抵抗。在放疗与 TRAIL 联合治疗的研究中,发现两者联合在提高肿瘤治疗有效率的同时,TRAIL 还能增强肿瘤细胞对放疗的敏感性,逆转放疗抵抗。

Belka 等^[28]人研究发现,Bcl-2 高表达 Jurkat-T

淋巴细胞对 X 射线不敏感,但在联合 TRAIL 治疗后,能够促进细胞凋亡,并具有明显的协同作用。令人欣慰的是,协同效应在低剂量的 TRAIL(1、10ng/ml)与射线(2Gy)联合组也非常明显。此外,TRAIL 还能增强乏氧肿瘤细胞对 X 射线的敏感性。Takahashi 等^[38]于 2007 年在体外试验中发现 TRAIL 能增强乏氧条件下肺腺癌 A549 细胞对 X 射线的敏感性,其机制可能与 X 射线上调死亡受体 DR5 表达有关。后 Takahashi 等^[39]进一步在胃腺癌的裸鼠移植瘤体内试验中证实,X 射线联合 TRAIL 治疗不仅对正常氧供的肿瘤细胞具有抑制肿瘤生长的协同作用,对乏氧肿瘤细胞同样有协同诱导细胞凋亡的作用,其协同机制可能是通过上调死亡受体 DR5 表达,促进 caspase-3 裂解,从而促进细胞凋亡。

3.3 提高疗效的同时不良反应无明显增加

相对于放疗与 TRAIL 联合治疗的协同、互补的抗肿瘤作用,其联合后不良反应的影响更令研究者关注。Marini 等^[15]在多种肿瘤细胞系中证实了 TRAIL(0.1ng/ml)与放疗(10Gy)联合的凋亡促进作用后,用 10 倍于肿瘤干预浓度的 TRAIL(1ng/ml)与放疗(10Gy)联合干预来自乳腺、前列腺、肾、支气管上皮、肌肉、肝脏的正常组织细胞,未发现核碎裂、染色质固缩等细胞凋亡的形态学改变;Shankar 等^[40]用相同浓度、剂量的 TRAIL 和 X 射线联合干预(先给予射线照射后 24h 再给予 TRAIL)正常前列腺细胞(PrEC)和癌细胞(PC-3、DU-145、LNCaP),两者的凋亡率分别为(9.2%±0.4%) vs (92.2%±3.2%)、(75.6%±2.9%)、(63.1%±2.9%),同时小鼠体内试验中大脑、肝脏等组织未见明显不良反应。可见,放疗与 TRAIL 联合治疗在提升肿瘤治疗有效率的同时,不良反应无明显增加。

4 展 望

尽管目前多项临床前的体内外试验已经证实了放疗联合 TRAIL 的良好协同作用及安全性,其联合治疗效应与 p53 基因型、Bcl-2 基因表达量有着密切的关系,同时其可能是通过上调死亡受体 DR4、DR5,激活 caspase-3、-8、-9,抑制凋亡抑制蛋白 Bcl-2、Bax、c-Flip 等的表达来放大促凋亡信号,发挥协同作用。但 TRAIL 的凋亡、抵抗机制及两者间的相互

作用机制仍存在许多疑问,需进一步探讨,同时联合治疗还需临床大样本试验进一步验证。因此,对 TRAIL 的临床应用以及放疗联合 TRAIL 治疗要持乐观和探索的态度。

参考文献:

- [1] Wiley SR, Schooley K, Smolak PJ, et al. Identification and characterization of a new member of the TNF family that induces apoptosis[J]. *Immunity*, 1995, 3(6):673-682.
- [2] Wu GS. TRAIL as a target in anti-cancer therapy[J]. *Cancer Lett*, 2009, 285(1):1-5.
- [3] Pan G, Ni J, Wei YF, et al. An antagonist decoy receptor and a death domain-containing receptor for TRAIL [J]. *Science*, 1997, 277(5327):815-818.
- [4] Schneider P, Bodmer JL, Thome M, et al. Characterization of two receptors for TRAIL [J]. *FEBS Lett*, 1997, 416(3): 329-334.
- [5] Pan G, O'Rourke K, Chinnaiyan AM, et al. The receptor for the cytotoxic ligand TRAIL [J]. *Science*, 1997, 276 (5309):111-113.
- [6] Marsters SA, Sheridan JP, Pitti RM, et al. A novel receptor for Apo2L/TRAIL contains a truncated death domain[J]. *Curr Biol*, 1997, 7(12):1003-1006.
- [7] Degli-Esposti MA, Smolak PJ, Walczak H, et al. Cloning and characterization of TRAIL-R3, a novel member of the emerging TRAIL receptor family[J]. *J Exp Med*, 1997, 186 (7):1165-1170.
- [8] Emery JG, McDonnell P, Burke MB, et al. Osteoprotegerin is a receptor for the cytotoxic ligand TRAIL [J]. *J Biol Chem*, 1998, 273(23):14363-14367.
- [9] Kischkel FC, Hellbardt S, Behrmann I, et al. Cytotoxicity-dependent APO-1 (Fas/CD95)-associated proteins form a death-inducing signaling complex (DISC) with the receptor [J]. *EMBO J*, 1995, 14(22):5579-5588.
- [10] Jin Z, El-Deiry WS. Overview of cell death signaling pathways[J]. *Cancer Biol Ther*, 2005, 4(2):139-163.
- [11] Baskar R, Lee KA, Yeo R, et al. Cancer and radiation therapy: current advances and future directions [J]. *Int J Med Sci*, 2012, 9(3):193-199.
- [12] Chinnaiyan AM, Prasad U, Shankar S, et al. Combined effect of tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand and ionizing radiation in breast cancer therapy[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2000, 97(4):1754-1759.
- [13] Daniel D, Yang B, Lawrence DA, et al. Cooperation of the proapoptotic receptor agonist rhApo2L/TRAIL with the CD20 antibody rituximab against non-Hodgkin lymphoma xenografts[J]. *Blood*, 2007, 110(12):4037-4046.
- [14] Pollack IF, Erff M, Ashkenazi A. Direct stimulation of apoptotic signaling by soluble Apo2L/tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand leads to selective killing of glioma cells[J]. *Clin Cancer Res*, 2001, 7(5):1362-1369.
- [15] Marini P, Schmid A, Jendrossek V, et al. Irradiation specifically sensitises solid tumour cell lines to TRAIL mediated apoptosis[J]. *BMC Cancer*, 2005, 5:5.
- [16] Sahu RP, Batra S, Kandala PK, et al. The role of K-ras gene mutation in TRAIL-induced apoptosis in pancreatic and lung cancer cell lines[J]. *Cancer Chemother Pharmacol*, 2011, 67(2):481-487.
- [17] Gazitt Y. TRAIL is a potent inducer of apoptosis in myeloma cells derived from multiple myeloma patients and is not cytotoxic to hematopoietic stem cells [J]. *Leukemia*, 1999, 13(11):1817-1824.
- [18] 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(4):847-853.
- [19] Nimmanapalli R, Perkins CL, Orlando M, et al. Pretreatment with paclitaxel enhances apo-2 ligand/tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand-induced apoptosis of prostate cancer cells by inducing death receptors 4 and 5 protein levels[J]. *Cancer Res*, 2001, 61(2):759-763.
- [20] Hougardy BM, Maduro JH, van der Zee AG, et al. Proteasome inhibitor MG132 sensitizes HPV-positive human cervical cancer cells to rhTRAIL-induced apoptosis[J]. *Int J Cancer*, 2006, 118(8):1892-1900.
- [21] Cuello M, Ettenberg SA, Nau MM, et al. Synergistic induction of apoptosis by the combination of trail and chemotherapy in chemoresistant ovarian cancer cells[J]. *Gynecol Oncol*, 2001, 81(3):380-390.
- [22] Singh TR, Shankar S, Chen X, et al. Synergistic interactions of chemotherapeutic drugs and tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand/Apo-2 ligand on apoptosis and on regression of breast carcinoma in vivo[J]. *Cancer Res*, 2003, 63(17):5390-5400.
- [23] Voortman J, Resende TP, Abou EHM, et al. TRAIL therapy in non-small cell lung cancer cells: sensitization to death receptor-mediated apoptosis by proteasome inhibitor bortezomib[J]. *Mol Cancer Ther*, 2007, 6(7):2103-2112.
- [24] Herbst RS, Eckhardt SG, Kurzrock R, et al. Phase I dose-escalation study of recombinant human Apo2L/TRAIL, a dual proapoptotic receptor agonist, in patients with advanced cancer[J]. *J Clin Oncol*, 2010, 28(17):2839-2846.

- [25] Soria JC, Smit E, Khayat D, et al. Phase 1b study of dulanermin (recombinant human Apo2L/TRAIL) in combination with paclitaxel, carboplatin, and bevacizumab in patients with advanced non-squamous non-small-cell lung cancer [J]. *J Clin Oncol*, 2010, 28(9):1527–1533.
- [26] Hao C, Song JH, Hsi B, et al. TRAIL inhibits tumor growth but is nontoxic to human hepatocytes in chimeric mice [J]. *Cancer Res*, 2004, 64(23):8502–8506.
- [27] Lawrence D, Shahrokhi Z, Marsters S, et al. Differential hepatocyte toxicity of recombinant Apo2L/TRAIL versions [J]. *Nat Med*, 2001, 7(4):383–385.
- [28] Belka C, Schmid B, Marini P, et al. Sensitization of resistant lymphoma cells to irradiation-induced apoptosis by the death ligand TRAIL [J]. *Oncogene*, 2001, 20(17):2190–2196.
- [29] Belka C, Rudner J, Wesselborg S, et al. Differential role of caspase-8 and BID activation during radiation- and CD95-induced apoptosis [J]. *Oncogene*, 2000, 19(9):1181–1190.
- [30] Wissink EH, Verbrugge I, Vink SR, et al. TRAIL enhances efficacy of radiotherapy in a p53 mutant, Bcl-2 overexpressing lymphoid malignancy [J]. *Radiother Oncol*, 2006, 80(2):214–222.
- [31] Ravi R, Bedi GC, Engstrom LW, et al. Regulation of death receptor expression and TRAIL/Apo2L-induced apoptosis by NF-kappaB [J]. *Nat Cell Biol*, 2001, 3(4):409–416.
- [32] Hamasu T, Inanami O, Asanuma T, et al. Enhanced induction of apoptosis by combined treatment of human carcinoma cells with X rays and death receptor agonists [J]. *J Radiat Res*, 2005, 46(1):103–110.
- [33] Nagane M, Cavenne WK, Shiokawa Y. Synergistic cytotoxicity through the activation of multiple apoptosis pathways in human glioma cells induced by combined treatment with ionizing radiation and tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand [J]. *J Neurosurg*, 2007, 106(3):407–416.
- [34] Maduro JH, de Vries EG, Meersma GJ, et al. Targeting pro-apoptotic trail receptors sensitizes HeLa cervical cancer cells to irradiation-induced apoptosis [J]. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2008, 72(2):543–552.
- [35] Koschny R, Walczak H, Ganten TM. The promise of TRAIL—potential and risks of a novel anticancer therapy [J]. *J Mol Med (Berl)*, 2007, 85(9):923–935.
- [36] Maksimovic-Ivanic D, Stosic-Grujicic S, Nicoletti F, et al. Resistance to TRAIL and how to surmount it [J]. *Immunol Res*, 2012, 52(1–2):157–168.
- [37] Kim MR, Lee JY, Park MT, et al. Ionizing radiation can overcome resistance to TRAIL in TRAIL-resistant cancer cells [J]. *FEBS Lett*, 2001, 505(1):179–184.
- [38] Takahashi M, Inanami O, Kubota N, et al. Enhancement of cell death by TNF alpha-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) in human lung carcinoma A549 cells exposed to X rays under hypoxia [J]. *J Radiat Res*, 2007, 48(6):461–468.
- [39] Takahashi M, Yasui H, Ogura A, et al. X irradiation combined with TNF alpha-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) reduces hypoxic regions of human gastric adenocarcinoma xenografts in SCID mice [J]. *J Radiat Res*, 2008, 49(2):153–161.
- [40] Shankar S, Singh TR, Srivastava RK. Ionizing radiation enhances the therapeutic potential of TRAIL in prostate cancer in vitro and in vivo: intracellular mechanisms [J]. *Prostate*, 2004, 61(1):35–49.

