

# IL-12 和 TRAIL 在肿瘤治疗中的作用

闫寒梅<sup>1</sup>,赵悦荣<sup>1</sup>,王为光<sup>1</sup>,张纯<sup>2</sup>

(1.佳木斯大学,黑龙江 佳木斯 154007;

2.佳木斯大学附属第一医院血液科,黑龙江 佳木斯 154002)

**摘要:**白介素-12(IL-12)及肿瘤坏死因子相关凋亡配体(TRAIL)均是具有抗肿瘤作用的细胞因子,其中 IL-12 是一种通过激活 T 细胞和巨噬细胞以杀死肿瘤细胞的蛋白质,由 p35 和 p40 两条多肽链通过二硫键聚合而成;而 TRAIL 是肿瘤坏死因子超家族成员之一,由于受体的分布情况不同,导致其可以选择性地杀伤肿瘤细胞,而对正常细胞没有显著的细胞毒性。本文就 IL-12 及 TRAIL 的结构、生物学功能及二者在肿瘤治疗中的作用作一综述,以期临床治疗提供参考。

**关键词:**IL-12;TRAIL;肿瘤

中图分类号:R73

文献标识码:A

DOI:10.3969/j.issn.1006-1959.2020.24.014

文章编号:1006-1959(2020)24-0049-04

## The Role of IL-12 and TRAIL in Tumor Treatment

YAN Han-mei<sup>1</sup>, ZHAO Yue-rong<sup>1</sup>, WANG Wei-guang<sup>1</sup>, ZHANG Chun<sup>2</sup>

(1. Jiamusi University, Jiamusi 154007, Heilongjiang, China;

2. Department of Hematology, the First Affiliated Hospital of Jiamusi University, Jiamusi 154002, Heilongjiang, China)

**Abstract:** Interleukin-12 (IL-12) and tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) are cytokines with anti-tumor effects. IL-12 is a protein that kills tumor cells by activating T cells and macrophages. It is formed by the polymerization of two polypeptide chains p35 and p40 through disulfide bonds; TRAIL is a member of the tumor necrosis factor superfamily. The distribution of receptors is different, leading to their selective killing of tumor cells without significant cytotoxicity to normal cells. This article reviews the structure and biological functions of IL-12 and TRAIL and their roles in tumor treatment, in order to provide references for clinical treatment.

**Key words:** IL-12; TRAIL; Tumor

肿瘤严重威胁人类的健康和生活,免疫逃逸、机体免疫功能下降、免疫细胞数量减少、肿瘤微血管形成等原因均在肿瘤的发生发展过程中扮演重要角色,也是肿瘤治疗的难点,除化疗、放疗、手术外,寻找有效的生物制剂来对抗肿瘤一直是肿瘤治疗的热点。细胞因子是由多种细胞分泌的生物应答调节剂,而 IL-12 和 TRAIL 均是具有免疫调节功能的细胞因子,具有激活免疫细胞、调节免疫反应、介导炎症反应等作用,且诱导肿瘤细胞凋亡的作用均被国内外多种研究证实,但 IL-12 全身给药的毒副作用和多种癌细胞对 TRAIL 的抗性也限制了二者在临床上的应用。本文就 IL-12 及 TRAIL 的结构、生物学功能及二者在肿瘤治疗中的作用作一综述,以期临床治疗提供参考。

### 1 IL-12 的结构及生物学功能

IL-12 是由单核巨噬细胞、B 细胞等抗原提呈细胞分泌的细胞因子,树突状细胞和 Th 细胞也可以产生,其是一种由 p35 和 p40 通过二硫键结合而形成的异二聚体,相对分子质量(Mr)是 70000~75000。p40 亚基由 306 个氨基酸组成,包括 4 个潜在的糖基化位点和 10 个半胱氨酸残基,轻链 p35 亚基由 197 个氨基酸组成,包括 3 个潜在的糖基化位点和 7 个半胱氨酸残基<sup>[1]</sup>。编码人 p35 的基因位于

人的 3 号染色体上,编码人 p40 的基因位于人的 5 号染色体上,亚基 p35 和 p40 均是以前体形式合成并分泌的,这 2 个亚单位同时表达并结合在一起才具有生物学活性。p35 亚基决定 IL-12 的种属特异性,而信号调节由 p40 亚基主导。IL-12 受体(IL-12R)是由  $\beta_1$  和  $\beta_2$  两个亚基组成的异二聚体, $\beta_1$  是结合亚单位, $\beta_2$  是功能亚单位,主要表达在活化的 NK 细胞和 T 细胞上,在 DC 细胞和 B 细胞上也有表达。IL-12 与  $\beta_1$  结合后,再通过  $\beta_2$  激活 JAK 激酶或酪氨酸激酶信号通路来刺激 NK 细胞和 T 细胞,发挥生物学功能。

NK 细胞和 T 细胞是 IL-12 的主要靶细胞,NK 细胞能够检测和诱导易感靶细胞凋亡的能力以及免疫调节细胞因子(如 IFN- $\gamma$ )的分泌,这些效应因子的功能在识别被肿瘤感染的细胞后激活,其是由于 NK 细胞与其他髓样来源的细胞(例如树突细胞和巨噬细胞)建立的双向串扰<sup>[2]</sup>。Chiu TL 等<sup>[3]</sup>利用动物实验证实,IL-12 对 NK 细胞具有激活作用。此外,IL-12 可促进幼稚辅助性 T 母细胞向 Th1 分化,抑制 Th2 细胞生成,Th1 细胞分泌的 IL-2、IFN- $\gamma$ 、TNF- $\beta$  等细胞因子可以抑制 Th2 细胞分泌的 IL-4、IL-5、IL-6、IL-10 等细胞因子,通过抑制 IL-4 的生成来拮抗 Th2 细胞的免疫作用;IL-12 还能刺激 T 细胞和 NK 细胞分泌大量 IFN- $\gamma$ ,IFN- $\gamma$  的主要作用是介导炎症反应,具有强大的免疫调节功能,其可以与 IL-12 协同诱导 T 细胞和 NK 细胞的增殖,并增强 T 细胞和 NK 细胞对肿瘤细胞的杀伤作用。

**作者简介:**闫寒梅(1995.1-),女,黑龙江哈尔滨人,硕士研究生,主要从事急性白血病的研究

**通讯作者:**张纯(1971.6-),女,黑龙江佳木斯人,硕士,主任医师,副教授,硕士研究生导师,主要从事急性白血病的诊断和治疗工作

## 2 IL-12 在肿瘤治疗中的作用

IL-12 可调节先天免疫和适应性免疫,该细胞因子在许多动物模型中均具有明显的抗肿瘤作用,因此已被提议作为在癌症免疫治疗研究中开发的潜在新药。但 IL-12 全身给药相关的潜在致命性排除了其临床应用,且 IL-12 半衰期较短,停药后疗效消失的非常迅速,多年来临床都致力于降低 IL-12 全身给药毒副作用的研究。Canton DA 等<sup>[6]</sup>研究发现,在肿瘤细胞内注射表达 IL-12 的质粒(pIL-12)可控制 IL-12 在肿瘤组织上的局部表达,显著降低 IL-12 的毒副作用。FDA 在 2017 年批准了 pIL-12 可以作为治疗不可切除转移性黑色素瘤的临床罕见药。Wang P 等<sup>[7]</sup>通过删除 IL-12 单链的 N 末端来改造 IL-12 的结构,并将肿瘤的溶瘤腺病毒(Ad-TD)作为载体,并在叙利亚仓鼠胰腺癌模型中检查了其治疗和毒性作用,结果发现此种方法在胰腺癌的治疗中能得到良好的效果。

IL-12 的抗肿瘤活性不仅可以通过自身有效地诱导,并且还可以通过 CAR T 疗法、基因治疗、抗肿瘤疫苗等联合来治疗肿瘤。有研究发现<sup>[8]</sup>,肿瘤细胞内 IL-12 基因治疗可通过抑制血管生成,将肿瘤细胞停滞在 G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> 期并诱导凋亡。Parhar RS 等<sup>[9]</sup>研究证实,IL-12 基因治疗能有效抵抗乳头状甲状腺癌的生长,但鉴于免疫反应在荷瘤小鼠中得到了显著抑制,并且可以被 IL-12 恢复,因此这项研究提出了将 IL-12 用作甲状腺癌辅助疗法的可能性,考虑原因为将 IL-12 基因导入肿瘤细胞,进而促进肿瘤细胞分泌抗肿瘤细胞因子,二肿瘤局部的微环境由于肿瘤细胞周围的抗肿瘤细胞因子浓度显著提高得以改变,使得抗肿瘤免疫应答反应得到长久的维持。肿瘤内电穿孔介导的 IL-12 基因治疗(IT-pIL12/EP)在临床试验中已被证明是安全有效的,Mukhopadhyay A 等<sup>[10]</sup>优化了 IL-12 基因递送平台,以提高临床前模型中的转基因表达和功效,并分析了新的 IT-pIL12/EP 平台在电穿孔和远距离非电穿孔病变中诱导的免疫学变化,结果显示 IT-pIL12/EP 处理的肿瘤表现出快速诱导的 IL-12 调节途径以及其他细胞因子和趋化因子途径,且上调抗原呈递机制,远处的肿瘤显示出浸润淋巴细胞的增加,并发现局部 IL-12 基因疗法可以诱导全身性抗肿瘤免疫反应,而不会引起全身性 IL-12 暴露的相关毒性,证明了这种有效细胞因子的局部递送具有全身性抗肿瘤作用。

CAR T 细胞疗法代表了癌症疗法的重大进步,大量研究表明针对化学耐药和/或难治性 CD19<sup>+</sup>白血病或淋巴瘤的完全缓解率约为 90%。有效的 CAR T 细胞疗法高度依赖于淋巴结预适应,其是通

过化学疗法或放射疗法实现的,Kueberuwa G 等<sup>[11]</sup>构建了具有或不具有 IL-12 分泌的完全小鼠第一代和第二代抗鼠 CD19 CAR,并且建立了一个无需预处理即可反映人类状况的鼠标模型,结果发现表达 IL-12 的 CAR T 细胞不仅可以直接杀死目标 CD19<sup>+</sup>细胞并且还可以募集宿主免疫细胞进行抗癌免疫反应。Gao P 等<sup>[12]</sup>为研究重组 DNA 疫苗的人表皮生长因子受体 2(HER2)和 IL-12 对小鼠结肠癌的发展及其潜在的免疫机制的影响,构建了重组质粒 pVAX1-HER2,pVAX1-IL-12 和 pVAX1-HER2-IL-12,并通过肌肉注射给雌性小鼠评估质粒的抗肿瘤功效,设计了具有表达 HER2 的肿瘤的小鼠模型,研究发现接种 HER2-IL-12 质粒的小鼠对表达 HER2 的肿瘤的生长产生最强的抑制作用,并延长了小鼠的存活时间。以上研究结果强调了 IL-12 作为 DNA 疫苗佐剂的潜力。

## 3 TRAIL 的结构及生物学功能

肿瘤坏死因子相关凋亡配体又名称凋亡素 2 配体(Apo-2L),属于 TNF 超家族成员之一,与 TNF 有高度同源性,是一种 II 型跨膜蛋白,由 281 个氨基酸残基组成,相对分子质量(Mr)为 32500,人 TRAIL 的基因定位于人 3q26 染色体上,TRAIL 有生物学功能相同的两种形式,分别是膜结合型(mTRA IL, 32 kDa)和可溶型(sTRAIL, 24 kDa)。TRAIL 的三维结构是同源三聚体,3 个配体亚单位通过第 230 位的半胱氨酸连接一个 Zn 离子,并通过相互作用维持三聚体结构的稳定,如果第 230 位半胱氨酸发生基因突变,TRAIL 的结构就会遭到破坏,导致 TRAIL 结合受体的能力较之前下降约 200 倍,从而使 TRAIL 诱导细胞凋亡的能力显著下降。TRAIL 有 5 种受体,DR4、DR5 是死亡受体,大多于肿瘤细胞表面分布,胞内有完整的死亡结构域,和配体结合后能诱导外源性细胞凋亡途径;DcR1、DcR2 是诱骗受体,大多于正常细胞表面分布,与 DR4、DR5 有高度同源性,但 DcR1 缺失死亡结构域,DcR2 的死亡结构域不完整,因此均不能诱导细胞凋亡;OPG 是特殊受体,与细胞凋亡无关,与骨密度有关,能够抑制骨破坏。

TRAIL 能够在人体多种组织中表达,如卵巢、前列腺、小肠、心肌、肺、骨骼肌、脾脏、胸腺等,外周血淋巴细胞也普遍表达,但在脑组织及睾丸中不表达,其主要生物学作用是诱导肿瘤细胞凋亡和免疫调节。因 TRAIL 受体的分布情况不同,导致诱导的细胞凋亡是有选择性的,诱骗受体 DcR1 和 DcR2 大多分布于正常细胞,因而正常细胞中 DcR1、DcR2 会与 DR4、DR5 竞争与 TRAIL 的结合从而免受攻击,而肿瘤细胞则几乎不表达 DcR1、DcR2,所以

TRAIL 能够特异性靶向肿瘤细胞。TRAIL 与死亡受体结合介导的是外源性细胞凋亡,其与死亡受体结合后引发大量死亡受体发生聚合,通过死亡结构域召集接头蛋白 FADD 与 Caspase-8 酶原形成死亡配体—死亡受体—接头蛋白—Caspase8,而后激活 Caspase-8,激活后的 Caspase-8 可以进一步激活 Caspase-6 和 Caspase-7,通过一系列的级联激活反应最后激活效应酶 Caspase-3,从而介导细胞的凋亡。TRAIL 的另一种凋亡途径是围绕线粒体进行的内源性凋亡,Bid、Bax、Bak 等通过促进线粒体释放细胞色素酶 C,形成凋亡小体后激活 Caspase-9 而产生的凋亡效应。但也有研究表明某些肿瘤细胞对 TRAIL 的凋亡效应不敏感,这可能是由于某些肿瘤表面表达抗凋亡分子来抑制 caspase 酶原的激活。与此同时,TRAIL 在机体许多固有免疫或适应性免疫方面也发挥作用,在多种免疫细胞表面都可以发现 TRAIL 及受体的表达,如在活化的人或小鼠的 T 细胞表面,或被 IL-2、IL-5 激活的 NK 细胞表面,均发现了 TRAIL 及其受体。Leverkus M 等<sup>[11]</sup>研究中发现,TRAIL 可以促进幼稚的 DC 细胞发育成熟。刁智娟<sup>[12]</sup>在研究中以 TRAIL 不敏感的肿瘤细胞为模型,探讨 TRAIL 的免疫调节功能,结果发现 TRAIL 有促进肿瘤特异 CTL 的数量和活性的免疫调节功能。

#### 4 TRAIL 在肿瘤治疗中的作用

TRAIL 是一种有效的抗癌剂,因其特异地靶向肿瘤细胞,同时保留正常细胞,从而诱导凋亡。但 TRAIL 诱导的细胞凋亡作用当前仍有许多局限性,许多原发性肿瘤和癌细胞系对 TRAIL 诱导的细胞凋亡具有抗性,而对细胞凋亡的抗性实际上是所有恶性肿瘤的标志,提高 TRAIL 对肿瘤细胞的杀伤作用,降低对 TRAIL 作用的抵抗也一直是近年来研究的热点。

Beyer K 等<sup>[13]</sup>研究了 TRAIL 对 TRAIL 耐药胰腺癌细胞的同系模型中肿瘤生长和存活的影响,结果发现 TRAIL 可以促进耐药的 TRAIL 肿瘤细胞的生长,这可能会限制 TRAIL 在胰腺癌中可能的未来临床应用。而 Huang M 等<sup>[14]</sup>将野生型 TRAIL 蛋白的 114~121 氨基酸编码序列“VRERGPQR”改为“RRRRRRRR”,并将新型的膜穿透性肽样突变蛋白命名为 TRAIL-Mu3,将 TRAIL-Mu3 的抗肿瘤作用在体内和体外进行了分析,结果发现 TRAIL-Mu3 可增强胰腺癌细胞的抗肿瘤作用,且在体内的抗癌作用强于吉西他滨,其作用机制可能是 TRAIL-Mu3 显著增强对胰腺癌细胞膜的亲和力,导致 Caspase-3 和 Caspase-8 的清晰裂,与此同时,TRAIL-Mu3DR5 明显上调了死亡受体 DR5 的表达水平。除作用于胰

腺癌,TRAIL 在其他肿瘤中的作用也被广泛报道。Wu LS 等<sup>[15]</sup>研究发现,肿瘤组织中的 P-选择素(CD62P)表达显著增加,高 CD62P 表达与肿瘤分期和血管浸润显著相关,与血小板共同培养可增加肿瘤细胞的迁移,但 TRAIL 可抑制这种作用;而 TRAIL 处理的血小板中转化生长因子(TGF)- $\beta_1$ 的分泌显著减少,根据流式细胞术检测发现 TRAIL 的死亡受体 DR5 在血小板中表达,TRAIL 可通过促进血小板凋亡和减少 TGF- $\beta_1$ 的释放来抑制结肠癌细胞的侵袭和转移。TRAIL 除了作为单一治疗剂外还可以联合临床用药、化疗药物、基因治疗等来治疗肿瘤,Dai H 等<sup>[16]</sup>研究发现,雷公藤内酯醇(TPL)通过下调 PUM1 激活自噬而增强胰腺癌细胞的 TRAIL 敏感性。You C 等<sup>[17]</sup>利用天花粉蛋白(TCS)和 TRAIL 的联合来增强非小细胞癌细胞对 TRAIL 的敏感性,抑制肿瘤细胞的增殖和侵袭,并诱导细胞凋亡和 S 期停滞,这是因为 TCS 通过上调和重新分配 DR4 和 DR5,诱导细胞凋亡以及调节侵袭和细胞周期相关蛋白的表达,使非小细胞癌细胞对 TRAIL 敏感。Thapa B 等<sup>[18]</sup>探讨了 TRAIL 表达质粒(pTRAIL)和互补小干扰 RNA(siRNA)[沉默 Bcl2-样 12(BCL2L12)和超氧化物歧化酶 1(SOD1)]的共同传递,以改善乳腺癌细胞对 TRAIL 治疗的敏感性。pTRAIL 与 BCL2L12 或 SOD1 特异性 siRNA 的共同递送导致在不同乳腺癌细胞中的细胞凋亡更为显著,而不会影响非恶性细胞的生存能力。共同递送的 siRNA 增强了 TRAIL 的原位分泌,并使乳腺癌细胞对 TRAIL 致敏,从而增强了抗癌活性。冯忻等<sup>[19]</sup>研究发现,TRAIL 能明显增强顺铂对卵巢癌细胞的敏感性,其诱导机制可能是上调死亡受体 DR4、DR5 表达水平。而王宏艳等<sup>[20]</sup>研究发现,TRAIL 与阿糖胞苷具有协同诱导 AML 细胞凋亡的作用,化疗药物依靠 P53 激活肿瘤细胞的自杀,但约半数肿瘤细胞会有 P53 的突变,导致化疗药物疗效受到影响,而 TRAIL 诱导肿瘤细胞凋亡不依靠 P53,与化疗药物联合应用后加强了对肿瘤细胞的杀伤作用。

#### 5 总结

应用 IL-12 或 TRAIL 来治疗肿瘤是近年来肿瘤生物治疗的重要研究方向,IL-12 通过调节免疫细胞功能,抑制肿瘤增殖,诱导肿瘤细胞分化来发挥抗肿瘤效应;而 TRAIL 通过与死亡受体的结合选择性的靶向肿瘤细胞,保留正常组织。但 IL-12 和 TRAIL 在肿瘤治疗方面仍有许多局限性,目前研究者更倾向于研究 IL-12 或 TRAIL 联合临床药物、肿瘤疫苗、基因治疗等来靶向肿瘤细胞的实验研究,均获得了较理想的结果。与此同时,IL-12 联合 TRAIL 能够诱导凋亡蛋白酶的表达,同时上调 IFN- $\gamma$  的分

泌共同对抗肿瘤细胞,但二者联合应用于肿瘤治疗仍需要进一步研究,以期为临床治疗提供更多的理论和实验依据,这可能会成为未来肿瘤生物治疗领域的研究热点。

#### 参考文献:

- [1]Biron CA,Gazzinelli RT.Effects of IL-12 on immune responses to microbial infections:a key mediator in regulating disease outcome[J].Curr Opin Immunol,1995(7):485-496.
- [2]Zwirner NW,Ziblat A.Regulation of NK Cell Activation and Effector Functions by the IL-12 Family of Cytokines:The Case of IL-27[J].Front Immunol,2017(8):25.
- [3]Chiu TL,Lin SZ,Hsieh WH,et al.AAV2-mediated interleukin-12 in the treatment of malignant brain tumors through activation of NK cell[J].Int J Oncol,2009,35(6):1361-1367.
- [4]Canton DA,Shirley S,Wright J,et al.Melanoma treatment with intratumoral electroporation of tavokinogene telseplasmid (pIL-12,tavokinogene telseplasmid) [J].Immunotherapy,2017(9):1309-1321.
- [5]Wang P,Li X,Wang J,et al.Re-designing Interleukin-12 to enhance its safety and potential as an anti-tumor immunotherapeutic agent[J].Nat Commun,2017,8(1):1395.
- [6]Zhou ZF,Peng F,Li JY,et al.Intratumoral IL-12 Gene Therapy Inhibits Tumor Growth In A HCC-Hu-PBL-NOD/SCID Murine Model[J].Onco Targets Ther,2019(12):7773-7784.
- [7]Parhar Ranjit S,Zou Minjing,Al-Mohanna Futwan A,et al.IL-12 immunotherapy of Braf (V600E)-induced papillary thyroid cancer in a mouse model [J].Laboratory Investigation, 2016,96(1):89-97.
- [8]Mukhopadhyay A,Wright J,Shirley S,et al.Characterization of abscopal effects of intratumoral electroporation-mediated IL-12 gene therapy[J].Gene Ther,2019,26(1-2):1-15.
- [9]Kueberuwa G,Kalaitidou M,Cheadle E,et al.CD19 CAR T Cells Expressing IL-12 Eradicate Lymphoma in Fully Lymphoreplete Mice through Induction of Host Immunity [J].Mol Ther Oncolytics,2017(8):41-51.
- [10]Gao P,Zhang C,Bian X,et al.The increasingly anti-tumor effect of a colonic carcinoma DNA vaccine carrying HER2 by the adjuvanticity of IL-12 [J].Journal of Immunopharmacology, 2016,38(6):441-446.
- [11]Leverkus M,Walczak H,McLellan A,et al.Maturation of dendritic cells leads to up-regulation of cellular FLICE-inhibitory protein and concomitant down-regulation of death ligand-mediated apoptosis[J].Blood,2000,96(7):2628-2631.
- [12]刁智娟.肿瘤坏死因子相关凋亡诱导配体的免疫调节功能研究[D].北京协和医学院,2010.
- [13]Beyer K,Normann L,Sendler M,et al.TRAIL Promotes Tumor Growth in a Syngeneic Murine Orthotopic Pancreatic Cancer Model and Affects the Host Immune Response[J].Pancreas,2016,45(3):401-408.
- [14]Huang M,Zhu H,Yi C,et al.A novel TRAIL mutant-TRAIL-Mu3 enhances the antitumor effects by the increased affinity and the up-expression of DR5 in pancreatic cancer [J].Cancer Chemother Pharmacol,2018,82(5):829-838.
- [15]Wu LS,Wang XW,He W,et al.TRAIL inhibits platelet-induced colorectal cancer cell invasion [J].J Int Med Res,2019,47(2):962-972.
- [16]Dai H,Jiang Y,Luo Y,et al.Triptolide enhances TRAIL sensitivity of pancreatic cancer cells by activating autophagy via downregulation of PUM1[J].Phytomedicine,2019(62):152953.
- [17]You C,Sun Y,Zhang S,et al.Trichosanthin enhances sensitivity of non-small cell lung cancer(NSCLC) TRAIL-resistance cells[J].Int J Biol Sci,2018,14(2):217-227.
- [18]Thapa B,Kc R,Bahniuk M,et al.Breathing New Life into TRAIL for Breast Cancer Therapy:Co-Delivery of pTRAIL and Complementary siRNAs Using Lipopolymers[J].Hum Gene Ther,2019,30(12):1531-1546.
- [19]冯忻,王彩霞,欧志英.重组人 TRAIL 蛋白联合顺铂对人卵巢癌细胞生长及凋亡的影响 [J].中国癌症杂志,2016,26(8):648-654.
- [20]王宏艳,常瑛.重组可溶性 TRAIL 联合化疗药诱导急性白血病细胞凋亡[J].首都医科大学学报,2008(3):364-368.

收稿日期:2020-08-18;修回日期:2020-09-09

编辑/杜帆