

## Szlak liganda czynnika martwicy nowotworu indukującego apoptozę (TRAIL) jako potencjalny cel terapii w raku prostaty

The pathway of tumor necrosis factor-related apoptosis inducing ligand (TRAIL) as a potential target in therapy of prostate cancer

Magdalena Kowalska, Ewelina Szliszka, Wojciech Król

### STRESZCZENIE

Rak prostaty jest jednym z najczęściej występujących nowotworów złośliwych u mężczyzn. Ligand czynnika martwicy nowotworu indukujący apoptozę (*tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand* – TRAIL, Apo-2L) jest cytokiną należącą do nadrodziny czynnika martwicy nowotworu (*tumor necrosis factor* – TNF). TRAIL ma zdolność indukowania apoptozy w komórkach raka prostaty nie będąc toksycznym w stosunku do prawidłowych komórek, co czyni go jednym z potencjalnych leków przeciwnowotworowych. Poprzez interakcję z receptorami TRAIL-R1/DR4 i TRAIL-R2/DR5 na powierzchni komórek raka prostaty uruchamia transdukcję sygnału do apoptozy. Rekombinowany TRAIL i przeciwciała swoiste w stosunku do receptorów TRAIL-R1 i TRAIL-R2 wykazują satysfakcjonujące efekty terapeutyczne w badaniach klinicznych I i II fazy. Niestety, wiele komórek nowotworowych, w tym komórek raka prostaty, wykazuje oporność na apoptozę mediowaną przez TRAIL. Mechanizmy TRAIL-oporności komórek raka prostaty dotyczą wielu etapów szlaku apoptozy. Zidentyfikowano szereg czynników chemicznych (cytostatyki) oraz fizycznych (promieniowanie gamma), które mogą uwrażliwiać komórki raka prostaty i przełamać ich oporność na działanie TRAIL.

#### SŁOWA KLUCZOWE

TRAIL, receptory TRAIL, apoptoza, rak prostaty, mechanizmy TRAIL-oporności, przełamywanie oporności na TRAIL (chemioterapia, radioterapia)

### ABSTRACT

Prostate cancer is one of the most common malignant tumors in men. Tumor necrosis factor-related apoptosis inducing ligand (TRAIL, Apo-2L) is a cytokine of the tumor necrosis factor (TNF) superfamily. TRAIL possesses the ability to induce apoptosis in prostate cancer cells without toxicity to normal cells, which makes it one of the potential anticancer drugs. TRAIL activates the transduction

Katedra i Zakład Mikrobiologii i Immunologii  
Wydziału Lekarskiego  
z Oddziałem Lekarsko-Dentystycznym w Zabrze  
Śląskiego Uniwersytetu Medycznego  
w Katowicach

#### ADRES DO KORESPONDENCJI:

Prof. dr hab. n. med. Wojciech Król  
Katedra i Zakład Mikrobiologii i Immunologii  
Wydziału Lekarskiego  
z Oddziałem Lekarsko-Dentystycznym w Zabrze  
Śląskiego Uniwersytetu Medycznego  
w Katowicach  
ul. Jordana 19  
41-808 Zabrze  
tel. +48 32 272 25 54  
e-mail: wkrol@sum.edu.pl

Ann. Acad. Med. Siles. 2013, 67, 5, 315–321  
Copyright © Śląski Uniwersytet Medyczny  
w Katowicach  
eISSN 1734-025X

signal of apoptosis through its interaction with receptors TRAIL-R1/DR4 and TRAIL-R2/DR5 on the surface of prostate cancer cells. The recombinant TRAIL and antibodies specific to receptors TRAIL-R1/DR4 and TRAIL-R2/DR5 show satisfactory therapeutic effects in phases I and II of clinical trials. Unfortunately, many tumor cells, including prostate cancer cells appear resistant to TRAIL-mediated apoptosis. The mechanisms of TRAIL-resistance in prostate cancer cells concern many stages of apoptotic pathways. A number of agents, both chemical (cytostatics drugs) as well as physical (gamma radiation), have been identified to sensitize prostate cancer cells and overcome their resistance to TRAIL.

#### KEY WORDS

TRAIL, TRAIL receptors, apoptosis, prostate cancer, mechanisms of TRAIL-resistance, overcome TRAIL-resistance (chemotherapy, radiotherapy)

#### Ligand TRAIL i jego receptory

Jedną z obiecujących terapii w leczeniu raka prostaty może być zastosowanie liganda czynnika martwicy nowotworu indukującego apoptozę (*tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand*, TRAIL, Apo-2L). Został on odkryty w latach 1995–1996 jako kolejna cząsteczka należąca do rodziny TNF (*tumor necrosis factor*) przez dwa niezależne zespoły badawcze [1,2,3]. Jak większość członków rodziny TNF, TRAIL jest białkiem błonowym typu II, złożonym z 281 aminokwasów. Jego cząsteczka zbudowana jest z dwóch zasadniczych fragmentów: C-terminalnej, długiej (142-aminokwasowej) domeny pozakomórkowej oraz N-terminalnej i krótkiej (17-aminokwasowej) domeny cytoplazmatycznej. Domena C-końcowa TRAIL wykazuje dużą homologię z podobnymi domenami innych przedstawicieli z rodziny TNF, takich jak ligand Fas (FasL) i TNF $\alpha$  [4,5,6]. Geny kodujące białko TRAIL zlokalizowane są na długim ramieniu chromosomu 3 w pozycji 3q26 [2,7]. Cząsteczka TRAIL występuje w postaci rozpuszczalnej (*soluble* TRAIL – sTRAIL) lub jest związana z powierzchnią komórek immunokompetentnych, takich jak: limfocyty T i komórki NK, makrofagi, neutrofile czy komórki dendrytyczne [1,3,8,9]. Obie formy funkcjonują jako trimery i wywołują apoptozę poprzez oddziaływanie ze swoistymi receptorami występującymi na powierzchni komórek docelowych [5]. Ligand TRAIL indukuje apoptozę w komórkach nowotworowych, nie będąc toksyczny w stosunku do prawidłowych komórek organizmu [10]. Fizjologiczne znaczenie TRAIL nie zostało w pełni poznane. Zaobserwowano, że endogenny TRAIL odgrywa istotną rolę w nadzorze immunologicznym oraz w niszczeniu nieprawidłowych, nowotworowych komórek [7, 11,12].

Wyróżniamy pięć rodzajów receptorów dla liganda TRAIL: TRAIL-R1 (DR4), TRAIL-R2 (DR5), TRAIL-R3 (DcR1), TRAIL-R4 (DcR2) i osteoprotegerynę (OPG) [1,5,13]. Geny dla tych receptorów znajdują się na krótkim ramieniu chromosomu 8 (8p21-22) [1]. Poza OPG, która jest receptorem rozpuszczalnym, wszystkie pozostałe receptory dla

TRAIL to białka błonowe typu I, zawierające zewnątrzkomórkową bogatą w cysteinę N-końcową domenę rozpoznającą ligand. TRAIL-R1 i TRAIL-R2, nazywane receptorami śmierci (*death receptor* – DR) posiadają wewnątrzkomórkową domenę śmierci (*death domain* – DD), niezbędną do aktywacji zewnątrzkomórkowego szlaku apoptozy [14,15]. Natomiast przyłączenie liganda TRAIL do TRAIL-R3 lub TRAIL-R4 nie inicjuje procesu apoptozy, ponieważ receptory te charakteryzuje częściowy lub całkowity brak wewnątrzkomórkowej domeny śmierci. Receptory te określane jako „pułapki” lub „wabiki” (*decoy receptor* – Dc) przez konkurowanie z receptorami śmierci o przyłączenie TRAIL mogą hamować apoptozę, promując proliferację oraz przeżycie komórek nowotworowych [1,5]. Podobnie OPG nie posiada funkcjonalnej domeny śmierci. Stwierdzono, że jeden z receptorów, TRAIL-R1 lub TRAIL-R2, może być dominujący w transdukcji sygnału do śmierci komórki. TRAIL-R1 odgrywa zasadniczą rolę w indukcji apoptozy w komórkach białaczek, natomiast wysoka ekspresja i aktywacja TRAIL-R2 ma kluczowe znaczenie dla TRAIL-mediowanej apoptozy komórek litych guzów nowotworowych. Receptory śmierci są obecnie postrzegane jako atrakcyjny cel w terapii przeciwnowotworowej [1,5,11].

#### Rola liganda TRAIL w procesie apoptozy

Ligand TRAIL oraz jego receptory śmierci odgrywają ważną rolę w indukowaniu apoptozy w komórce nowotworowej [1,14,16]; TRAIL-R1 i TRAIL-R2 za pomocą domeny zewnątrzkomórkowej wiążą ligand, natomiast dzięki wewnątrzkomórkowej domenie śmierci (DD) przyłączają białko adaptorowe FADD (*fas-associated death domain*) [17]. W ten sposób powstaje kompleks sygnałowy DISC (*death initiated signaling complex*) zapoczątkowujący proces apoptozy [5,9,17]. Następnie przez wykonawczą domenę śmierci – DED (*death execution domain*), stanowiącą N-końcową część białka adaptorowego, do kompleksu DISC zostaje przyłączona prokaspaza 8. Aktywacja kompleksu DISC prowadzi do uwolnienia enzymu proteolitycznego – kaspazy 8. Aktywna kaspaza 8

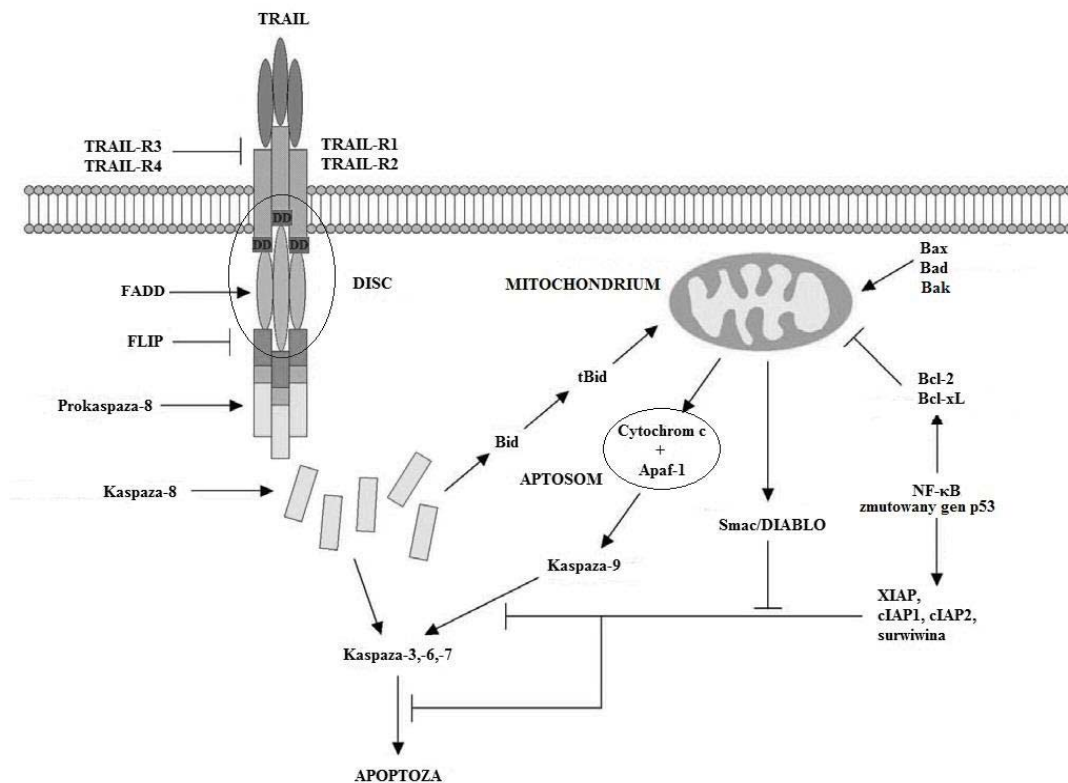
zapoczątkowuje autokatalityczną kaskadę kaspaz efektorowych 3, 6 i 7 [1,5,15]. Ilość powstałego kompleksu DISC aktywowanego poprzez szlak zewnętrzny (receptorowy) jest wystarczająca do uruchomienia procesu apoptozy w komórkach określanych jako komórki typu I.

W odróżnieniu od nich stymulacja komórek typu II wymaga dodatkowo przekazywania sygnału z mitochondrium (ze szlaku wewnątrzpochodnego) [5,15,18,19]. Wspólnym elementem dla zewnątrzpochodnego (receptorowego) i wewnątrzpochodnego (mitochondrialnego) szlaku jest kaspaza 8. Aktywacja szlaku zależnego od mitochondriów związana jest ze zdolnością kaspazy 8 do rozszczepienia białka Bid (*BH3-interacting domain death agonist*), należącego do rodziny Bcl-2 (*B-cell leukemia/lymphoma-2*) [20,21]. Bid ulega proteolitycznej modyfikacji do formy tBid (*truncated Bid*), która przemieszcza się do zewnętrznej błony mitochondrialnej i wraz z innymi proapoptycznymi białkami z rodziny Bcl-2 (Bax, Bad oraz Bak) uczestniczy w tworzeniu kanałów mitochondrialnych odpowiadających za spadek potencjału mitochondrialnego oraz uwolnienie cytochromu c i Smac/Diablo (*second mitochondrial activator of caspases/direct inhibitor of apoptosis binding protein*

*with low isoelectric point*) [14,15]. Cytochrom c przechodzi do cytoplazmy tworząc wraz z prokaspazą 9, ATP (*adenosine-5'-triphosphate*) oraz białkiem Apaf1 (*apoptotic protease activating factor-1*) kompleks nazywany aptosomem. W obrębie aptosomu dochodzi do przekształcenia prokaspazy 9 do kaspazy 9, która następnie aktywuje kaspazy efektorowe, głównie kaspazę 3 [11,18,21]. Aktywacja drogi wewnątrzpochodnej (mitochondrialnej) wzmacnia transdukcję sygnału do apoptozy ze szlaku receptorowego (zewnątrzpochodnego). Główne szlaki TRAIL-mediowanej apoptozy oraz mechanizmy TRAIL-oporności w komórkach raka prostaty przedstawia rycina 1.

### Rak prostaty

Rak prostaty jest jednym z najczęściej diagnozowanych nowotworów złośliwych, stanowiąc drugą co do częstości przyczynę zgonów wśród mężczyzn w Unii Europejskiej i w Stanach Zjednoczonych [19,20]. Do czynników ryzyka zachorowania należą: wiek, dieta, predyspozycje dziedziczne oraz pochodzenie etniczne [8,20]. W ostatnich kilkudziesięciu latach obserwujemy znaczny wzrost zapadalności na raka prostaty, co może wiązać się z wydłużeniem życia pacjentów,



Ryc. 1. Szlaki TRAIL-indukowanej apoptozy oraz mechanizmy TRAIL-oporności w komórkach raka prostaty.  
Fig. 1. Pathways of TRAIL-induced apoptosis and mechanisms of TRAIL-resistance in prostate cancer cells.

a także z rozwojem nowych metod diagnostycznych wprowadzanych do codziennej praktyki klinicznej, takich jak oznaczenie PSA (*prostate specific antigen*, swoisty antygen sterczowy) w surowicy krwi [18, 20,21].

Molekularne mechanizmy odpowiedzialne za inicjowanie i rozwój raka prostaty nie zostały w pełni wyjaśnione [22]. Jest to nowotwór hormonozależny. We wczesnym stadium (ograniczonym do narządu) chorzy kwalifikowani są do prostatektomii radykalnej lub radioterapii. W przypadku zaawansowanej choroby leczeniem z wyboru jest hormonoterapia, często w skojarzeniu z radio- lub chemioterapią [23]. Pomimo stosowania tych metod, dochodzi do zaburzeń w indukcji apoptozy komórek raka, czego konsekwencją jest niepowodzenie wymienionych wcześniej terapii przeciwnowotworowych. Z czasem rak prostaty staje się oporny na hormonoterapię (CRPC – *castration resistant prostate cancer*). Za jedną z przyczyn powstania CRPC uważa się deregulację procesów apoptozy, dlatego też obecnie do głównych celów strategii leczenia CRPC należy uruchomienie w komórkach nowotworowych mechanizmów prowadzących do apoptozy [20].

### Mechanizmy oporności na TRAIL

Wiele komórek nowotworowych, w tym komórek raka prostaty, wykazuje oporność na apoptozę medioną przez TRAIL. Mechanizmy TRAIL-oporności komórek raka prostaty nie zostały jeszcze w pełni poznane [1,5,16]. Uważa się, że oporność ta może dotyczyć wielu etapów szlaku apoptozy [24]. Wrażliwość komórek nowotworowych na TRAIL wynika m.in. z różnic w ekspresji receptorów śmierci na ich powierzchni. Obniżona ekspresja receptorów TRAIL-R1 i TRAIL-R2 oraz mutacje genów dla tych receptorów w komórkach raka prostaty mogą prowadzić do TRAIL-oporności [1,5]. Z kolei zwiększona ekspresja „receptorów wabików”, szczególnie TRAIL-R3, chroni komórki raka prostaty przed apoptozą indukowaną przez TRAIL [25,26].

Wykazano, że wrażliwość komórek raka prostaty na TRAIL zależy od obecności wewnątrzkomórkowych białek inhibitorów transdukcji sygnału prowadzącego do apoptozy [27,28]. Przykładem jest zwiększona ekspresja białka FLIP (*FLICE – FAAD-like interleukin-1beta-converting enzyme – inhibitory protein*), które łączy się z kompleksem DISC, uniemożliwiając aktywację prokaspazy-8 [25].

Kolejnym ważnym elementem związanym z opornością komórek raka prostaty na działanie ligandu TRAIL jest nasilona ekspresja inhibitorów z rodziny IAPs (*inhibitor of apoptosis proteins*): cIAP1, cIAP2 (*cellular inhibitor of apoptosis 1 and 2*), XIAP (*X-linked inhibitor of apoptosis*), surwiwiny [29]. Białka IAPs, zwłaszcza XIAP, blokują aktywację kaspazy 3, 7

oraz 9. Natomiast Smac/Diablo odpowiada za hamowanie funkcji IAPs w komórkach raka prostaty.

W wielu typach komórek nowotworowych wywołanie apoptozy indukowanej przez TRAIL zależy od aktywacji drogi wewnątrzpochodnej, zależnej od mitochondriów. Zmniejszona ekspresja lub mutacje białek proapoptotycznych z rodziny Bcl-2 (Bax, Bak, Bad), które uczestniczą w uruchomieniu mitochondrialnego szlaku apoptozy w komórkach raka prostaty, w znacznej mierze przyczyniają się do TRAIL-oporności [26,29]. Nie bez znaczenia pozostaje także nadekspresja białek antyapoptotycznych z rodziny Bcl-2 (Bcl-2, Bcl-xL), które blokują proapoptotyczne Bax i Bak, zapobiegając zwiększeniu przepuszczalności błony mitochondrium i spadkowi potencjału mitochondrialnego [29,30]. Oporność komórek raka prostaty na apoptozę TRAIL-zależną wiąże się również z nieprawidłowym uwalnianiem z mitochondriów białka Smac/Diablo będącego antagonistą białek IAPs. Zmniejszone wydzielanie lub niedobór Smac/Diablo przyczynia się do wzrostu stężenia białek IAPs, znanych inhibitorów kaspaz [14].

Oporność wielu linii komórkowych raka prostaty na apoptozę indukowaną przez TRAIL uwarunkowana jest aktywacją czynnika jądrowego NF-κB (*nuclear factor κB*). NF-κB indukuje ekspresję antyapoptotycznych białek z rodziny Bcl-2, IAPs i FLIP [31]. W komórkach raka prostaty ważną rolę w TRAIL-oporności odgrywają mutacje genu supresorowego p53. Brak funkcjonalnego białka p53 (*protein 53*) prowadzi do wzmożonej ekspresji Bcl-2, Bcl-xL oraz IAPs, a także blokowania genu białka Apaf-1. Nieprawidłowe białko p53 zaburza proces redystrybucji receptorów śmierci, głównie receptora TRAIL-R2, na powierzchni komórek raka prostaty [26].

### Zastosowanie TRAIL w badaniach klinicznych

W badaniach klinicznych znalazły zastosowanie różne formy TRAIL pod postacią rekombinowanego ligandu (rhSTRAIL) oraz przeciwciał monoklonalnych swoistych w stosunku do receptorów TRAIL-R1 – mapatumumab (HGS-ETR1) lub TRAIL-R2 – leksatumumab (HGS-ETR2), conatumumab (AGM655), drozitumab (PR095780), tigatuzumab (TRA-8, CS1008), apomab (4H6) [16,32]. W porównaniu z rozpuszczalnym TRAIL, ogromną zaletą przeciwciał monoklonalnych jest specyficzne powinowactwo do receptorów śmierci, ograniczające wiązanie się z „receptorami wabikami”. Ponadto, HGS-ETR1 i HGS-ETR2 mają dłuższy okres półtrwania niż rekombinowany TRAIL, dzięki czemu ułatwiony jest dobór odpowiedniej dawki przeciwciał [33]. Wyniki I i II fazy badań klinicznych wykazały zadowalającą skuteczność i niską toksyczność preparatów mapatumumab i leksatumumab u pacjentów z zaawansowanymi nowotworami płuc, okrężnicy i nerek [31,34].

Badania przeprowadzone przez Shimada i wsp. potwierdziły cytotoksyczne działanie HGS-ETR2 w stosunku do komórek raka prostaty. Przeciwciała indukują apoptozę w komórkach raka prostaty, zarówno hormonowrażliwych LNCaP, jak i hormonoopornych DU145 i PC3. W doświadczeniach zaobserwowano, że efektywność działania przeciwciała HGS-ETR2 zależy od ekspresji na powierzchni komórek nowotworowych receptora śmierci TRAIL-R2. HGS-ETR2 aktywował zarówno szlak receptorowy, jak i mitochondrialny [35].

Wstępne badania nad apoptozą komórek raka prostaty z zastosowaniem przeciwciał monoklonalnych anti-TRAIL-R1 i/lub anti-TRAIL-R2 w monoterapii lub skojarzeniu z czynnikami chemicznymi (cytostatykami) i fizycznymi (promieniowanie gamma) wskazują na skuteczność ich działania przeciwnowotworowego oraz możliwość zastosowania przeciwciał HGS-ETR2 w kolejnych etapach badań klinicznych u chorych z rakiem prostaty.

### **Przełamywanie TRAIL-oporności komórek raka prostaty na działanie TRAIL**

Chemioterapia stosowana jest w przypadkach zaawansowanego raka prostaty z przerzutami oraz w trakcie progresji choroby, gdy pojawiła się oporność na hormonoterapię [36]. Głównymi cytostatykami wykorzystywanymi w chemioterapii raka prostaty są taksany (taksoidy), substancje pochodzenia naturalnego o silnych właściwościach przeciwnowotworowych [37,38]. Początkowo związki te były izolowane z kory cisu drobnolistnego (*Taxus brevifolia*), obecnie wytwarzane są na drodze półsyntetycznej poprzez modyfikację niecytotoksycznego naturalnego prekursora 10-deacetylobakatyiny III [39]. Do mechanizmów przeciwnowotworowego działania taksanów zaliczamy: zaburzenie funkcji mikrotubul, tworzenie nieprawidłowego wrzeciona mitotycznego podczas podziału komórek oraz zatrzymanie cyklu komórkowego w fazie S, M i G<sub>2</sub> oraz indukcją apoptozy [37,40].

Chemioterapia z zastosowaniem taksanów aktywuje w komórkach raka prostaty mitochondrialny szlak apoptozy poprzez hamowanie ekspresji genów antyapoptotycznych białek z rodziny Bcl-2 (głównie Bcl-xL) oraz zwiększenie ekspresji p53 [39,41]. Taksany odpowiadają za spadek potencjału mitochondrialnego, nasilenie uwalniania cytochromu *c* do cytoplazmy oraz indukcję białka Apaf-1 [42].

Do aktualnie stosowanych taksanów w leczeniu pacjentów z zaawansowanym rakiem prostaty należą: paklitaksel, docetaksel (taksany I generacji) oraz kabazytaksel (taksany II generacji) [39,43]. Paklitaksel i docetaksel to leki pierwszego rzutu w CRPC, natomiast kabazytaksel to lek drugiego rzutu w leczeniu CRPC u chorych, u których wystąpiła oporność na docetaksel i paklitaksel. W celu uzyskania korzystne-

go efektu terapeutycznego wymienione cytostatyki stosowane są zarówno w monoterapii, jak i w skojarzeniu z innymi lekami przeciwnowotworowymi [39]. W doświadczeniach *in vitro* zaobserwowano synergistyczne działanie taksanów z ligandem TRAIL w stosunku do komórek raka prostaty. Uzyskane wyniki potwierdzają, że taksany mogą przełamywać oporność komórek raka prostaty na działanie TRAIL [42,44]. Nimmanapalli i wsp. wykazali, że paklitaksel w skojarzeniu z TRAIL nasila apoptotyczny efekt ligandu zarówno w stosunku do hormonowrażliwych komórek linii LNCaP, jak i hormonoopornych komórek DU145 i PC3. Po zastosowaniu paklitakselu w kombinacji z TRAIL odnotowano zwiększoną aktywność prokaspazy 8 i 9 oraz kaspazy 3, pobudzenie rozszczepienia białka Bid oraz nasiloną akumulację cytochromu *c* w cytozolu komórek wymienionych wcześniej linii raka prostaty. Mechanizm eliminujący oporność komórek raka prostaty na TRAIL wiązał się również z obniżeniem ekspresji białek IAPs, głównie cIAP-1, XIAP [42]. Udowodniono, że docetaksel indukuje proces apoptozy w komórkach linii PC3, DU145 i RWPE2 poprzez nasilenie aktywności kaspazy 3 [44]. Yoo i wsp. potwierdzili, że cytostatyki uwrażliwiają komórki zarówno hormonowrażliwej linii LNCaP, jak i hormonoopornej linii C4-2B na TRAIL-mediowaną apoptozę. Synergistyczne działanie ligandu TRAIL i docetakselu tłumaczy się obniżeniem ekspresji antyapoptotycznych białek z rodziny Bcl-2 (głównie Bcl-xL), zwiększonym uwalnianiem cytochromu *c* z mitochondriów oraz aktywacją prokaspazy 9 [45].

Kolejnym ważnym cytostatykiem stosowanym w chemioterapii raka prostaty jest mitoksantron – syntetyczny antybiotyk antracyklinowy o udowodnionym działaniu przeciwnowotworowym [46]. Lek hamuje replikację i syntezę DNA, zaburza naprawę DNA, hamuje syntezę RNA i białek oraz blokuje aktywność topoizomerazy II, przez co spowalnia wzrost i inwazyjność komórek raka prostaty [47]. W leczeniu opornego na kastrację raka prostaty mitoksantronem stosowany jest w monoterapii lub w skojarzeniu z innymi lekami, takimi jak prednizon lub docetaksel [47,48]. Doświadczenia *in vitro* potwierdzają, że mitoksantron nasila apoptotyczną aktywność TRAIL. Zastosowanie kombinacji TRAIL z mitoksantronem indukuje apoptozę i poprzez aktywację kaspaz przełamuje TRAIL-oporność komórek raka prostaty linii PC3-TR [47].

Obecnie prowadzone są eksperymenty z zastosowaniem rekombinowanego TRAIL oraz przeciwciał monoklonalnych skierowanych przeciwko receptorom śmierci TRAIL-R1 i TRAIL-R2. Odnotowano nasilenie cytotoksycznego działania leksatumumabu w połączeniu z cisplatyną w stosunku do hormonoopornych komórek PC3 i DU145. Synergistyczne działanie obu czynników tłumaczy się aktywacją kaspazy 8,

popudzeniem proteolizy białka Bid do tBid, wzrostem ekspresji Bax oraz zwiększeniem uwalniania cytochromu *c* z mitochondriów. Natomiast zastosowanie mapatumumab w skojarzeniu z cisplatyną nie przełamowało oporności komórek raka prostaty PC3 i DU145 [34].

Radioterapia stosowana jest zarówno we wczesnym stadiach raka prostaty (nowotwór ograniczony do narządu), jak i w zaawansowanych postaciach choroby. W przypadku podejrzenia wznowy guza może być również zalecana w skojarzeniu z hormonoterapią [49]. Radioterapia indukuje wewnątrzpochodny (mitochondrialny) szlak apoptozy w komórkach nowotworowych poprzez wywołanie stresu oksydacyjnego i uszkodzenie DNA [50,51].

Radioterapia wzmacnia cytotoksyczny efekt TRAIL w stosunku do hormonowazliwych komórek LNCaP oraz hormonoopornych komórek PC3 i DU145. Udowodniono, że promieniowanie gamma aktywują mitochondrialny szlak apoptozy w komórkach raka prostaty poprzez regulację pro- i antyapoptycznych białek z rodziny Bcl-2. Radioterapia w kombinacji z TRAIL indukuje ekspresję białek Bax i Bak oraz hamuje ekspresję białka Bcl-2 [52].

Dotychczasowe wyniki badań na komórkach raka prostaty z zastosowaniem TRAIL są obiecujące i zachęcają do dalszych testów. Istotne wydaje się określenie strategii przełamania oporności oraz uwrażliwienia komórek raka prostaty na działanie TRAIL z udziałem cytostatyków i promieniowania gamma. Chemio- i radioterapia aktywują wewnątrzpochodny (mitochondrialny) szlak apoptozy, podczas gdy pobudzenie receptorów śmierci za pomocą TRAIL uruchamia drogę zewnątrzpochodną (receptorową). Z tego względu leczenie pacjentów z rakiem prostaty można by uzupełniać przez zastosowanie TRAIL.

Analiza mechanizmów uwrażliwienia komórek raka prostaty na działanie TRAIL pozwala na wysunięcie hipotezy, że radio- lub chemioterapia poprzez stymulację drogi z mitochondriów mogą amplifikować sygnał pochodzący ze szlaku receptorowego aktywowanego przez TRAIL. Ponadto wykorzystanie TRAIL w skojarzeniu z cytostatykami lub radioterapią pozwoliłoby na zwiększenie aktywności przeciwnowotworowej, zredukowanie dawki stosowanych terapeutyków i zmniejszenie ich ogólnoustrojowej toksyczności, przy zachowaniu pożądanej skuteczności przeciwnowotworowej.

## PIŚMIENNICTWO

- Kruyt F.A. TRAIL and cancer therapy. *Cancer Lett* 2008; 263: 14–25.
- Wiley S.R., Schooley K., Smolak P.J. i wsp. Identification and characterization of a new member of the TNF family that induces apoptosis. *Immunity* 1995; 3: 673–682.
- Pitti R.M., Marsters S.A., Ruppert S., Donahue C.J., Moore A., Ashkenazi A. Induction of apoptosis by Apo-2 ligand, a new member of the tumor necrosis factor cytokine family. *J. Biol. Chem.* 1996; 271: 12687–12690.
- Christian P.A., Thorpe J.A., Schwarze S.R. Velcade sensitizes prostate cancer cells to TRAIL induced apoptosis and suppresses tumor growth in vivo. *Cancer Biol. Ther.* 2009; 8: 73–80.
- Wu G.S. TRAIL as a target in anti-cancer therapy. *Cancer Lett.* 2009; 285: 1–5.
- Holoch P.A., Griffith T.S. TNF-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL): a new path to anti-cancer therapies. *Eur. J. Pharmacol.* 2009; 625: 63–72.
- Manzo F., Nebbioso A., Miceli M. i wsp. TNF-related apoptosis-inducing ligand: signalling of a 'smart' molecule. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 2009; 41: 460–466.
- Szliszka E., Czuba Z.P., Sędek Ł., Paradysz A., Król W. Enhanced TRAIL-mediated apoptosis in prostate cancer cells by the bioactive compounds neobavaisoflavone and psoralidin isolated from *Psoralea corylifolia*. *Pharmacol. Rep.* 2011; 63: 139–148.
- Szliszka E., Krol W. Soy isoflavones augment the effect of TRAIL-mediated apoptotic death in prostate cancer cells. *Oncol. Rep.* 2011; 26: 533–541.
- Ashkenazi A., Pai R.C., Fong S. i wsp. Safety and antitumor activity of recombinant soluble Apo2 ligand. *J. Clin. Invest.* 1999; 104: 155–162.
- Yagita H., Takeda K., Hayakawa Y., Smyth M.J., Okumura K. TRAIL and its receptors as targets for cancer therapy. *Cancer Sci.* 2004; 95: 777–783.
- Held J., Schulze-Osthoff K. Potential and caveats of TRAIL in cancer therapy. *Drug Resist. Updat.* 2001; 4: 243–252.
- Szliszka E., Mazur B., Zydowicz G., Czuba Z.P., Król W. TRAIL-induced apoptosis and expression of death receptor TRAIL-R1 and TRAIL-R2 in bladder cancer cells. *Folia Histochem. Cytobiol.* 2009; 47: 579–585.
- Siekierski J. Badanie działania cytotoksycznego substancji chemicznych. *Post. Biol. Kom.* 2008; 24: 147–163.
- Stańczyk M., Majsterek I. Apoptoza – cel ukierunkowanej terapii przeciwnowotworowej. *Post. Biol. Kom.* 2008; 35: 467–484.
- Chilmonczyk Z. Receptory śmierci – cel molekularny leków przeciwnowotworowych. *Gazeta Farmaceutyczna* 2009; 1: 34–37.
- Stępień A., Izdebska M., Grzanka A. Rodzaje śmierci komórki. *Post. Hig. Med. Dosw.* 2007; 61: 420–428.
- Szliszka E., Czuba Z.P., Mazur B., Paradysz A., Krol W. Chalcones and dihydrochalcones augment TRAIL-mediated apoptosis in prostate cancer cells. *Molecules.* 2010; 15: 5336–5353.
- Szliszka E., Krol W. The role of dietary polyphenols in tumor necrosis factor-related apoptosis inducing ligand (TRAIL)-induced apoptosis for cancer chemoprevention. *Eur. J. Cancer Prev.* 2011; 20: 63–69.
- Taylor R.A., Toivanen R., Risbridger G.P. Stem cells in prostate cancer: treating the root of the problem. *Endocr. Relat. Cancer* 2010; 17: R273–285.
- Szliszka E., Czuba Z.P., Bronikowska J., Mertas A., Paradysz A., Krol W. Ethanollic Extract of Propolis Augments TRAIL-Induced Apoptotic Death in Prostate Cancer Cells. *Evid. Based. Complement. Alternat. Med.* 2011; 2011: 535172.
- Szliszka E., Zydowicz G., Mizgala E., Krol W. Arterillin C (3,5-diprenyl-4-hydroxycinnamic acid) sensitizes LNCaP prostate cancer cells to TRAIL-induced apoptosis. *Int. J. Oncol.* 2012; 41: 818–828.
- Marsters S.A., Pitti R.A., Sheridan J.P., Ashkenazi A. Control of apoptosis signaling by Apo2 ligand. *Recent Prog. Horm. Res.* 1999; 54: 225–234.
- Voelkel-Johnson C. TRAIL-mediated signaling in prostate, bladder and renal cancer. *Nat. Rev. Urol.* 2011; 8: 417–427.
- Norris J.S., Hyer M.L., Voelkel-Johnson C., Lowe S.L., Rubinchik S., Dong J.Y. The use of Fas Ligand, TRAIL and Bax in gene therapy of prostate cancer. *Curr. Gene Ther.* 2001; 1: 123–136.
- Van Ophoven A., Ng C.P., Patel B., Bonavida B., Belldegrun A. Tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) for treatment of prostate cancer: first results and review of the literature. *Prostate Cancer Prostatic Dis.* 1999; 2: 227–233.
- Jung Y.H., Heo J., Lee Y.J., Kwon T.K., Kim Y.H. Quercetin enhances TRAIL-induced apoptosis in prostate cancer cells via increased protein stability of death receptor 5. *Life Sci.* 2010; 86: 351–357.
- Li W., Zhang X., Olumi A.F. MG-132 sensitizes TRAIL-resistant prostate cancer cells by activating c-Fos/c-Jun heterodimers and repressing c-FLIP(L). *Cancer Res.* 2007; 67: 2247–2255.

29. Guseva N.V., Taghiyev A.F., Rokhlin O.W., Cohen M.B. Death receptor-induced cell death in prostate cancer. *J. Cell Biochem.* 2004; 91: 70–99.
30. Chwiałkowska A., Kulbacka J., Saczko J. Śmierć komórek nowotworowych. Udział reakcji fotodynamicznej w indukcji apoptozy w komórkach nowotworowych. *Pol. Merkuriusz Lek.* 2011; 175: 45–48.
31. Mahalingam D., Szegezdi E., Keane M., de Jong S., Samali A. TRAIL receptor signalling and modulation: Are we on the right TRAIL? *Cancer Treat. Rev.* 2009; 35: 280–288.
32. Amm H.M., Oliver P.G., Lee CH., Li Y., Buchsbaum D.J. Combined modality therapy with TRAIL or agonistic death receptor antibodies. *Cancer Biol. Ther.* 2011; 11: 431–449.
33. Huang Y., Sheikh M.S. TRAIL death receptors and cancer therapeutics. *Toxicol Appl. Pharmacol.* 2007; 224: 284–289.
34. Wu X.X., Kakehi Y. Enhancement of lexatumumab-induced apoptosis in human solid cancer cells by Cisplatin in caspase-dependent manner. *Clin. Cancer Res.* 2009; 15: 2039–2047.
35. Shimada O., Wu X., Jin X. i wsp. Human agonistic antibody to tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand receptor 2 induces cytotoxicity and apoptosis in prostate cancer and bladder cancer cells. *Urology* 2007; 69: 395–401.
36. Krzakowski M. Chemioterapia raka gruczołu krokowego. *Onkol. Prakt. Klin.* 2005; 2: 72–75.
37. Dou D., Tao W., Li L. The effect of polysaccharide peptide and taxol on human solid tumor tissue in vitro. *J. Med. Plant. Res.* 2011; 5: 4267–4273.
38. Fu Y., Li S., Zu Y. Medicinal chemistry of paclitaxel and its analogues. *Curr. Med. Chem.* 2009; 16: 3966–3985.
39. Tabaczar S., Koceva-Chyła A., Matczak K., Gwoździński K. Molekularne mechanizmy aktywności przeciwnowotworowej taksanów. I. Oddziaływanie docetakselu na mikrotubule. *Post. Hig. Med. Dosw.* 2010; 64: 568–581.
40. Abdulla A., Kapoor A. Emerging novel therapies in the treatment of castrate-resistant prostate cancer. *Can. Urol. Assoc. J.* 2011; 5: 120–133.
41. Bodnar L., Wcisło G., Miedzińska-Maciejewska M., Szczylik C. Docetaxel i paklitaxel: porównanie ich budowy, farmakologii oraz mechanizmów oporności. *Współcz. Onkol.* 2004; 8: 435–446.
42. Nimmanapalli R., Perkins CL., Orlando M., O'Bryan E., Nguyen D., Bhalla KN. 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. *Cancer Res.* 2001; 61: 759–763.
43. Cersosimo R.J. New agents for the management of castration-resistant prostate cancer. *Ann. Pharmacother.* 2012; 46: 1518–1528.
44. Mediavilla-Varela M., Pacheco F.J., Almaguel F. i wsp. Docetaxel-induced prostate cancer cell death involves concomitant activation of caspase and lysosomal pathways and is attenuated by LEDGF/p75. *Mol. Cancer.* 2009; 8: 68.
45. Yoo J., Park S.S., Lee Y.J. Pretreatment of docetaxel enhances TRAIL-mediated apoptosis in prostate cancer cells. *J. Cell Biochem.* 2008; 104: 1636–1646.
46. Fox E.J. Mechanism of action of mitoxantrone. *Neurology* 2004; 63: 15–18.
47. Taylor D.J., Parsons C.E., Han H., Jayaraman A., Rege K. Parallel screening of FDA-approved antineoplastic drugs for identifying sensitizers of TRAIL-induced apoptosis in cancer cells. *BMC Cancer* 2011; 11: 470.
48. Garcia J.A., Rini B.I. Castration-resistant prostate cancer: many treatments, many options, many challenges ahead. *Cancer* 2012; 118: 2583–2593.
49. Jereczek-Fossa B.A. Rola radioterapii w leczeniu raka gruczołu krokowego. *Współcz. Onkol.* 2003; 3: 176–182.
50. Eriksson D., Stigbrand T. Radiation-induced cell death mechanisms. *Tumour Biol.* 2010; 31: 363–372.
51. Verheij M. Clinical biomarkers and imaging for radiotherapy-induced cell death. *Cancer Metastasis Rev.* 2008; 27: 471–480.
52. Shankar S., Singh T.R., Srivastava R.K. Ionizing radiation enhances the therapeutic potential of TRAIL in prostate cancer in vitro and in vivo: Intracellular mechanisms. *Prostate* 2004; 61: 35–49.