

死亡受体 DR5 与肿瘤细胞凋亡

朱冉旭, 林菊生

朱冉旭, 林菊生, 华中科技大学同济医学院附属同济医院肝病研究所
湖北省武汉市 430030
项目负责人: 朱冉旭, 430030, 湖北省武汉市, 华中科技大学同济医学院附
属同济医院肝病研究所. stiffrix@yahoo.com.cn
电话: 027-62506273
收稿日期: 2004-05-07 接受日期: 2004-06-24

摘要

死亡受体 DR5 (TRAILR2) 是 TRAILR 中的一员, 属于肿瘤坏死因子受体超家族。当他与相关配体结合时, 能选择性地杀伤多种肿瘤细胞而对正常细胞没有毒性。他的作用机制是通过 DR5 受体上的 FADD 形成 DISC 和 caspase-8, 然后启动非线粒体依赖途径和线粒体依赖途径来介导细胞的凋亡信号。TRAIL 是最先发现的 DR5 配体, 曾被誉为最有发展前途的抗肿瘤药物。然而随后发现不同形式的 TRAIL 对于正常人的不同的细胞有毒性, 尤其是肝细胞。于是, 人们研制出 TRA-8—针对人 DR5 受体的特异性 mAb。发现他不仅杀瘤效应比 TRAIL 强出数倍, 而且对正常人的肝细胞及其他细胞均没有毒副作用。目前正被考虑为最安全最有效的抗癌药物。人们对 DR5 受体和配体的不断探索, 为进一步了解肿瘤细胞的凋亡和抗癌药物的研制, 开创了新的途径。

朱冉旭, 林菊生. 死亡受体 DR5 与肿瘤细胞凋亡. 世界华人消化杂志 2004; 12(8):1909-1912

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/12/1909.asp>

0 引言

目前研究得最多最清楚的是死亡受体介导的凋亡。某些细胞表面存在着特殊的感受器—死亡受体 (death receptor, DR), 他能识别外来的死亡信号, 并迅速启动细胞凋亡机制。死亡受体 DR5 与目前已知的其他死亡受体 CD95 (又称 Fas/Apo1), TNFR1, DR3 (又称 Wsl-1/Apo3/TRAMP), DR4 一样, 都属于肿瘤坏死因子受体 (tumor necrosis factor receptor TNFR) 超家族, 都是 I 型跨膜蛋白, 他们之间有很高的同源性。然而死亡受体 DR5 的独特之处就在于当外来的配体与之相结合时, 他仅选择性地杀伤肿瘤细胞或转化细胞, 而对机体的正常组织不具有明显的毒性。这是 CD95, TNFR1, DR3, DR4 所无法比拟的。针对这一特性, 促使人们对 DR5 展开了深入地研究。研究显示死亡受体 DR5 也是 TRAIL 或 TRA-8 诱导许多肿瘤细胞凋亡的主要死亡受体^[1]。现将对死亡受体 DR5 及其相应配体的结构、功能和他们在肿瘤细胞凋亡中作用的研究进展作一综述。

1 死亡受体 DR5 及其配体的结构

1.1 死亡受体 DR5 的发现及其结构 死亡受体 DR5 是 1997 年 Pan *et al*^[2] 在克隆出 DR4 的全长基因后, 发现在某些细胞表面上存在着另外一种分子。他与 DR4 具有高度同源性, 遂命名为死亡受体 DR5。他是由 411 个氨基酸组成, 1-55 氨基酸是信号肽, 84-179 氨基酸残基含有 2 个富含半胱氨酸的重复功能区的链状结合区, 184-206 氨基酸为跨膜区, 胞内区含死亡结构域, 与 DR4 的同源性为 58%, 与 TNFR1 死亡受体结构的同源性达 64%。研究表明, DR5 受体的独特性就在于他高水平地广泛表达于许多肿瘤组织, 如肝癌、肺癌、乳腺癌、睾丸癌、卵巢癌、胰腺癌、直肠癌、宫颈癌、子宫癌、甲状腺癌、咽喉癌、前列腺癌等; 而不表达或较少表达于正常的组织细胞中^[3]。这也成为了他不同于 DR4 的优越之处, 因为 DR4 不仅不能普遍地高表达于这些肿瘤细胞, 且在较多的正常组织中也有表达, 如脾脏、外周血白细胞、小肠、胸腺、活化的 T 细胞^[4-5]。

1.2 配体

1.2.1 TRAIL 1995 年 Wiley *et al* 克隆并发现了肿瘤坏死因子相关诱导配体 (tumor necrosis factor related apoptosis-inducing ligand, TRAIL) 基因, 第 2 a 由 Pitti *et al* 证实并命名为 Apo-2L。TRAIL 广泛表达于正常人的各种组织如外周淋巴细胞、肺、肾、脾、胸腺、前列腺、卵巢、小肠、心脏、胎盘、骨骼肌等中, 而在脑、肝和睾丸中未检测到表达^[6]。TRAIL 为 TNF 超家族成员, 其基因定位于染色体 3q26, 编码 281 个氨基酸, *M_r* 为 32 500, 等电点为 7.63, 属于 II 型跨膜蛋白, N 端 15-40 氨基酸为疏水区域并形成跨膜结构, 胞内区很短, 胞外区与 FasL 的同源性最高, 为 28%。1 个 TRAIL 单体包括 4 个反向平行的 “β” 折叠, 形成 1 个 “β” 三明治夹心结构, 3 个单体头尾相接形成钟形三聚体, 而这种三聚体的形式则是 TRAIL 和受体相结合时, 发挥活性的功能模式。TRAIL 同 TNF 家族其他成员最独特的区别是在 137-152 位形成一个 12-16 氨基酸的插入环 A' loop, 此结构可插入受体的 TRAIL 结合位点, 保证受体与 TRAIL 的特异性结合。研究证实, 这个插入结构在传递同型受体识别特异性方面有关键作用^[2]。目前已知 TRAIL 有两种形式: 膜结合型 TRAIL (全长的 TRAIL) 和可溶型 TRAIL (胞外区 C 端的 168 个氨基酸), 他们在体外均能诱导多种肿瘤细胞的凋亡, 作用范围很广。

1.2.2 TRA-8 人 DR5 特异的竞争性 mAb (agonistic mono-

clonal antibody specific for human DR5, TRA-8)是特异性针对人细胞膜表面的死亡受体 DR5 而合成的 mAb, 他与一般的抗人 DR5 的 mAb(monoclonal antibody against human DR5)不同, 他能特异性地与死亡受体 DR5 相结合, 发挥配体的作用, 从而诱导细胞凋亡. 2001 年, Kimihisa *et al* 将人 DR5 的细胞外区和人 IgG1(DR5-Ig)的 Fc 段组成融合蛋白来免疫 BALB/c 的 ♀ 小鼠^[1], 从而合成了 TRA-8 这种 mAb. 实验证明 TRA-8 能诱导许多表达 DR5 受体的肿瘤细胞的凋亡, 而对正常组织细胞无毒性. 并且用 Western-blot 法分析, TRA-8 不会与其他的死亡受体发生交叉反应.

2 死亡受体 DR5 的作用机制

2.1 配体单独地作用于死亡受体 DR5 当配体与死亡受体 DR5 以前联合(pre-associated)受体的三聚体形式相结合时, 被激活的死亡受体是通过募集着一个被称之为 Fas 相关死亡结构域(fas-associated death domain, FADD)的接头器来诱导凋亡的. FADD 包含有两个相互作用的结构域蛋白, 即死亡结构域 (death domain, DD)和死亡效应器(death effector domain, DED). 目前的研究结果认为接头器 FADD 是通过两个 DD 之间的相互作用来结合受体, 并同时通过 DED 之间的相互作用来结合凋亡信号的起始因子胱冬酶原(pro-caspase-8). 这样, 人们把由“死亡配体-死亡受体-FADD-胱冬酶原分子”以串联形式组合而成的复合物称之为死亡诱导信号复合体 (death-inducing signal complex, DISC). 在 DISC 中的被激活的两个 pro-caspase-8 发生分子内水解, 随后二聚化成胱冬酶 caspase-8(又称为 FADD-like interleukin-1 β converting enzyme, FLICE)^[7], 从而引发了细胞凋亡的流程. 于是, 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(如图 1)^[8].

(1)非线粒体依赖途径: 通过激活的 caspase8 自动裂解和活化, 经过一系列的级联效应(cascade), 最终激活效应酶(如 caspase3), 从而介导细胞的凋亡. (2)线粒体依赖途径: 通过激活的 caspase8 作用于 Bid (Bel-2inhibitory BH3-domain-containing protein)形成有活性的 tBid (truncated BID), tBid 迁移到线粒体内, 促使包括 cytochrome c 在内的线粒体蛋白的释放. 被释放的 cytochrome c 再与 apaf-1, pro-caspase9 和 dATP 形成一种被称之为 apoptosome 的复合体^[9]. 这种复合体二聚化以后再激活 caspase9, 进而通过 caspase3, caspase7 诱导肿瘤细胞的凋亡; 其他被释放的线粒体蛋白包括了 AIF (apoptosis inducing factor)^[10], Smac/Diabo(second mitochondria-derived activator of caspase)^[11-12], 核酸内切酶 G. 然而这些线粒体蛋白在配体单独作用下释放得并不明显.

有报道称死亡受体 DR5 诱导细胞凋亡需要依赖于 FADD 和 caspase-8^[13]. 通过一种内生的抑制因子 C-FLIP (cellular FLICE-like inhibitor protein), 可以调控 DR5 受体的死亡信号转导途径. C-FLIP 与 caspase-8 相关, 但

他没有蛋白水解酶的活性, 他通过与 caspase-8 竞争性结合 DISC^[4], 从而阻断由 caspase-8 引发的细胞死亡信号途径.

2.2 配体与化疗药物协同作用 许多化疗药物能协同由死亡受体 DR5 介导的体内外肿瘤细胞的凋亡, 如阿霉素和顺铂, 这些能够诱导细胞 DNA 损伤的化疗药物, 他们主要是通过激活 JNK/P38 和线粒体死亡信号途径来诱导细胞凋亡^[15-16]. 由 TRA-8 配体和化疗药物联合作用所诱发的凋亡是通过 MKK4 (mitogen-activated protein kinase kinase) 这种酶激活 JNK/P38 途径的. 在乳腺癌 (MDA-MB-231-KS, MDA-MB-231-PO 细胞)、星型细胞瘤 (1321NI 细胞)、宫颈癌 (HeLa 细胞)、结肠癌 (Widr 细胞) 以及卵巢癌 (UL-3B, UL-3C 细胞) 中单独使用化疗药物时, 药物本身就可以在肿瘤中引发微弱的 JNK/P38 的途径, 但不足以促使细胞凋亡. 而在与配体联合作用时, 他则是通过提高 JNK/P38 的活性以及 caspase 的活性(即促进 caspase9, caspase3 的裂解), 从而得以发挥协同作用, 促使细胞凋亡. Ohtsuka *et al*^[10] 用一种 caspase 抑制剂 Z-VAD-FMK 证明了 JNK/P38 的途径对 caspase 的依赖性. 而在线粒体途径中, 线粒体膜电位的丧失以及 cytochrome c 和 Smac/Diabo 的释放则是促使该途径的重要因素.

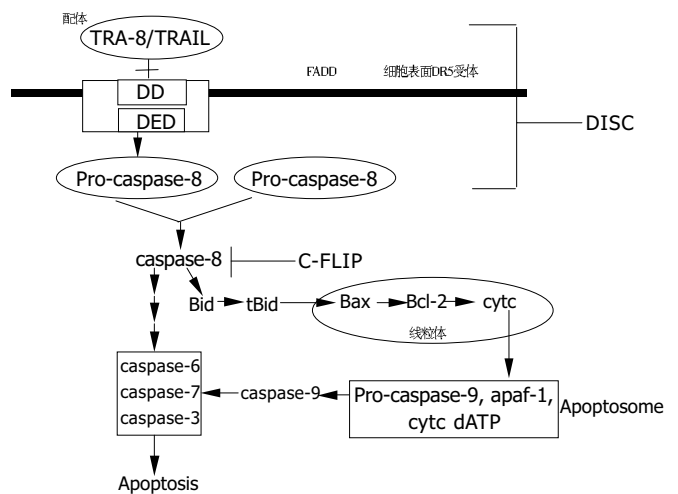


图 1 配体单独作用于死亡受体 DR5 的信号转导机制.

3 死亡受体 DR5 与配体在肿瘤细胞凋亡中的意义

肿瘤坏死因子受体 CD95, TNFR 等因其在死亡信号传递过程中同时激活细胞因子 NF- κ B 而被限制. 激活的 NF- κ B 能够调控多种免疫基因的表达, 诱导巨噬细胞和内皮细胞的前炎症基因活化, 引起全身严重的炎症反应, 同时他也会促使肿瘤细胞对凋亡产生抵抗性. 然而, 受体 DR5 在与配体 (TRAIL 或 TRA-8) 结合时, 虽然也产生 NF- κ B, 但只是暂时性的, 不能起到拮抗肿瘤细胞凋亡的作用. 原因是 NF- κ B 效应的发挥取决于他的动力学特性^[17]. 因而, DR5 受体相关配体选择性的细胞毒性决定了他们特有的安全性.

TRAIL 具有相应的五种受体: (1) 死亡受体 TRAILR1 (DR4)^[4-5]; (2) 死亡受体 TRAILR2 (DR5)^[2, 18-19]; (3) 诱捕受体

TRAILR3(decoy receptor-1, DcR1)^[20]; (4)诱捕受体 TRAILR4(decoy receptor-2, DcR2)^[21]; (5)OPG 受体 (osteoprotegerin receptor, OPGR)^[22]. 由于 DcR1 没有胞内区, DcR2 的胞内区仅有一段不完整的 DD. 因此二者都不能传递 TRAIL 介导的死亡信号. 但是他们都有与 DR4 和 DR5 高度同源的富含半胱氨酸的伪重复序列, 能够与 TRAIL 结合, 从而与死亡受体 DR4、DR5 竞相结合 TRAIL. 研究表明 DcR1 和(或)DcR2 普遍地表达于正常细胞, 其中 DcR1 在外周血淋巴细胞与脾脏组织表达尤为丰富, DcR2 在胎肝组织和成人睾丸组织表达较为丰富; 而肿瘤细胞或转化细胞则较多的含有 DR4 和(或)DR5, 且较少或不含 DcR1、DcR2, 故而正常细胞由于诱捕受体的保护, 而免于 TRAIL 诱导的凋亡, 而肿瘤细胞则可受到 TRAIL 应有的攻击. 而 OPG 则是另一种与 TRAIL 相结合的可溶性受体, 但是当他与配体结合时, 他能抑制破骨细胞的生长, 增加骨密度, 在调节骨密度的代谢方面起着重要的作用. 因而 OPG 受体不能诱导细胞凋亡, 而是作为诱捕受体来拮抗 TRAIL 诱导的凋亡. 由此, 因为这种选择性杀伤肿瘤的效应, 近年来一直被誉为最有前景的抗癌药物. 但是, 随着深入地研究, 发现 TRAIL 的某种形式, 能诱发正常人某些细胞的凋亡, 特别是肝细胞的凋亡显得尤为突出. 如膜结合型 TRAIL (全长的 TRAIL) 可以在体内诱发正常的肝细胞凋亡, 引发严重的肝炎^[1]. 经过分析, TRAIL 的作用机制可能是通过复合受体 - 即不单单是通过 DR5 还有其他受体, 从而发生交叉反应. 而可溶型 TRAIL 的各种融合寡肽对人的正常细胞也有促凋亡作用: 即融合寡聚组氨酸的可溶型 TRAIL. his (114-281 氨基酸) 对正常人的肝脏细胞有明显的诱导凋亡作用^[23], 对正常人的红细胞生成有负调控作用, 对淋巴细胞具有诱导凋亡作用; 融合亮氨酸拉链的可溶型 TRAIL. leuzip(95-281 氨基酸) 对人的角质细胞具有损伤作用^[24]; FLAG - TRAIL 对人的脑细胞具有诱导凋亡作用^[25]. 这种对不同细胞的毒性差异可能是由于融合 TRAIL 在化学及空间结构方面的改变所造成的. 由此人们对于 TRAIL 抗肿瘤治疗的安全性产生了疑虑.

面对这一难题, 人们在小鼠身上制成了针对人死亡受体 DR5 的 mAb-TRA-8. 在研究中人们发现, 虽然 DR5 的 mRNA 广泛地表达于人的正常组织, 但是在许多正常组织如肝脏、肺、乳腺、肾、脾、睾丸、卵巢、心脏、胰腺等却未能用 TRA-8 检测出 DR5 受体蛋白; 而在其相应的肿瘤组织和其他的癌组织却可检测出 DR5 受体蛋白的高表达, 并可对 TRA-8 有很高的敏感性^[1, 26]. 与此同时, 人们虽然在正常的星形胶质细胞和外周血 T, B 淋巴细胞中可检测出 DR5 受体的表达, 但其蛋白水平不高, 不足以对 TRA-8 产生敏感, 不会被诱导凋亡. 而在其相应的神经胶质瘤 (SH687, U87 细胞) 和淋巴瘤组织 (Jukat, CEM-6 细胞) 中, DR5 受体蛋白的水平却明显增高, 能够被 TRA-8 诱导凋亡^[1, 27-28]. 这充分说明了

DR5 受体蛋白表达水平的高低与 TRA-8 的敏感性成正相关; 同时也意味着 DR5 受体蛋白水平的高表达和对 TRA-8 的敏感性的增高是转化细胞和肿瘤细胞的特性之一. 随后在实验中, 人们发现 DR5 的 mAb(TRA-8) 在肝癌、乳腺癌, 纤维肉瘤, 胶质细胞瘤等癌细胞上的特异性杀伤效应比 TRAIL 高出数倍, 而且对正常组织包括人正常肝细胞均无毒副作用^[1, 26-28]. 这也显示了 TRA-8 比 TRAIL 更有效更具安全性. 随着研究的深入, 人们已将放射疗法和(或)化学治疗与 TRA-8 相结合, 协同运用于治疗肿瘤的方案上, 并取得了备受瞩目的成效^[15, 26]. 因此, TRA-8 这种高效能选择性杀伤肿瘤细胞以及对机体的正常组织细胞无毒性的优越性引起了人们极大的兴趣. 2003 年北京生物工程课题组首席科学家孟路教授申请了 TRAIL-R2/DR5 这种 mAb 的中国专利. 不久, 人们将进一步深入研究 TRA-8 在人体内确实可行的效果. TRA-8 有望成为新一代的最有前景的抗癌药物之一.

由于死亡受体 DR5 在细胞分布及作用机制的独特性, 已为人们研究肿瘤细胞凋亡的方向上提供了良好的前景. 随着对死亡受体 DR5 及其配体的深入研究, 人们发现在抗癌治疗上也存在着某些问题, 如 TRAIL 对肝癌的耐药性, 及他对肝细胞的毒性等, 目前已成为人们着力探讨的课题. 而 TRA-8 也正处于研制当中. 但是对 DR5 受体的新配体的不断探索, 加深了人们对 DR5 受体在肿瘤细胞凋亡的发生发展及治疗方面的认识, 并为全新的肿瘤治疗方案提供了广阔的理论依据.

4 参考文献

- 1 Ichikawa K, Liu W, Zhao L, Wang Z, Liu D, Ohtsuka T, Zhang H, Mountz JD, Koopman WJ, Kimberly RP, Zhou T. Tumorcidal activity of a novel anti-human DR5 monoclonal antibody without hepatocyte cytotoxicity. *Nat Med* 2001;7: 954-960
- 2 Pan G, Ni J, Wei YF, Yu G, Gentz R, Dixit VM. An antagonist decoy receptor and a death domain-containing receptor for TRAIL. *Science* 1997;277:815-818
- 3 Cha SS, Sung BJ, Kim YA, Song YL, Kim HJ, Kim S, Lee MS, Oh BH. Crystal structure of TRAIL-DR5 complex identifies a critical role of the unique frame insertion in conferring recognition specificity. *J Biol Chem* 2000;275:31171-31177
- 4 Griffith TS, Lynch DH. Trail: a molecule with multiple receptor and control mechanisms. *Curr Opin Immunol* 1998;10: 559-563
- 5 Pan G, O'Rourke K, Chinnaiyan AM, Gentz R, Ebner R, Ni J, Dixit VM. The receptor for the cytotoxic ligand TRAIL. *Science* 1997;276:1111-1113
- 6 范学工. 一个新的凋亡分子 - Trail. *世界华人消化杂志* 2001;8: 84-85
- 7 Chen M, Orozco A, Spencer DM, Wang J. Activation of initiator caspases through a stable dimeric intermediate. *J Biol Chem* 2002;277:50761-50767
- 8 Kim K, Fisher MJ, Xu SQ, el-Deiry WS. Molecular determinants of response to TRAIL in killing of normal and cancer cells. *Clin Cancer Res* 2000;6:335-346
- 9 Li P, Nijhawan D, Budihardjo I, Srinivasula SM, Ahmad M, Alnemri ES, Wang X. Cytochrome c and dATP-dependent formation of Apaf-1 /caspase-9 complex initiates an apoptotic protease cascade. *Cell* 1997; 91:479-489

- 10 Susin SA, Lorenzo HK, Zamzami N, Marzo I, Snow BE, Brothers GM, Mangion J, Jacotot E, Costantini P, Loeffler M, Larochette N, Goodlett DR, Aebersold R, Siderovski DP, Penninger JM, Kroemer G. Molecular characterization of mitochondrial apoptosis-inducing factor. *Nature* 1999;397:441-446
- 11 Du C, Fang M, Li Y, Li L, Wang X. Smac, a mitochondrial protein that promotes cytochrome c-dependent caspase activation by eliminating IAP inhibition. *Cell* 2000;102:33-42
- 12 Verhagen AM, Ekert PG, Pakusch M, Silke J, Connolly LM, Reid GE, Moritz RL, Simpson RJ, Vaux DL. Identification of DIABLO, a mammalian protein that promotes apoptosis by binding to and antagonizing IAP proteins. *Cell* 2000;102:43-53
- 13 Bodmer JL, Holler N, Reynard S, Vinciguerra P, Schneider P, Juo P, Blenis J, Tschopp J. TRAIL receptor-2 signals apoptosis through FADD and caspase-8. *Nat Cell Biol* 2000;2:241-243
- 14 Tschopp J, Irmeler M, Thome M. Inhibition of fas death signals by FLIPs. *Curr Opin Immunol* 1998;10:552-558
- 15 Muhlenbeck F, Haas E, Schwenzler R, Schubert G, Grell M, Smith C, Scheurich P, Wajant H. TRAIL/Apo2L activates c-Jun NH2-terminal kinase (JNK) via caspase-dependent and caspase-independent pathways. *J Biol Chem* 1998;273: 33091-33098
- 16 Ohtsuka T, Buchsbaum D, Oliver P, Makhija S, Kimberly R, Zhou T. Synergistic induction of tumor cell apoptosis by death receptor antibody and chemotherapy agent through JNK/p38 and mitochondrial death pathway. *Oncogene* 2003;22: 2034-2044
- 17 Zwacka RM, Stark L, Dunlop MG. NF-kappaB kinetics pre-determine TNF-alpha sensitivity of colorectal cancer cells. *J Gene Med* 2000;2:334-343
- 18 Sheridan JP, Marsters SA, Pitti RM, Gurney A, Skubatch M, Baldwin D, Ramakrishnan L, Gray CL, Baker K, Wood WI, Goddard AD, Godowski P, Ashkenazi A. Control of TRAIL-induced apoptosis by a family of signaling and decoy receptors. *Science* 1997;277:818-821
- 19 Walczak H, Degli-Esposti MA, Johnson RS, Smolak PJ, Waugh JY, Boiani N, Timour MS, Gerhart MJ, Schooley KA, Smith CA, Goodwin RG, Rauch CT. TRAIL-R2: a novel apoptosis-mediating receptor for TRAIL. *EMBO J* 1997;16:5386-5397
- 20 Degli-Esposti MA, Smolak PJ, Walczak H, Waugh J, Huang CP, DuBose RF, Goodwin RG, Smith CA. Cloning and characterization of TRAIL-R3, a novel member of the emerging TRAIL receptor family. *J Exp Med* 1997;186:1165-1170
- 21 Marsters SA, Sheridan JP, Pitti RM, Huang A, Skubatch M, Baldwin D, Yuan J, Gurney A, Goddard AD, Godowski P, Ashkenazi A. A novel receptor for Apo2L/TRAIL contains a truncated death domain. *Curr Biol* 1997;7:1003-1006
- 22 Emery JG, McDonnell P, Burke MB, Deen KC, Lyn S, Silverman C, Dul E, Appelbaum ER, Eichman C, DiPrinzio R, Dodds RA, James IE, Rosenberg M, Lee JC, Young PR. Osteoprotegerin is a receptor for the cytotoxic ligand TRAIL. *J Biol Chem* 1998; 273:14363-14367
- 23 Jo M, Kim TH, Seol DW, Esplen JE, Dorko K, Billiar TR, Strom SC. Apoptosis induced in normal human hepatocytes by tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand. *Nat Med* 2000;6:564-567
- 24 Qin J, Chaturvedi V, Bonish B, Nickoloff BJ. Avoiding premature apoptosis of normal epidermal cells. *Nat Med* 2001;7: 385-386
- 25 Nitsch R, Bechmann I, Deisz RA, Haas D, Lehmann TN, Wendling U, Zipp F. Human brain-cell death induced by tumour-necrosis-factor-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL). *Lancet* 2000;356:827-828
- 26 Buchsbaum DJ, Zhou T, Grizzle WE, Oliver PG, Hammond CJ, Zhang S, Carpenter M, LoBuglio AF. Antitumor efficacy of TRA-8 anti-DR5 monoclonal antibody alone or in combination with chemotherapy and/or radiation therapy in a human breast cancer model. *Clin Cancer Res* 2003;9(10 Pt 1):3731-3741
- 27 Kaliberov S, Stackhouse MA, Kaliberova L, Zhou T, Buchsbaum DJ. Enhanced apoptosis following treatment with TRA-8 anti-human DR5 monoclonal antibody and overexpression of exogenous Bax in human glioma cells. *Gene Ther* 2004;11:658-667
- 28 Choi C, Kutsch O, Park J, Zhou T, Seol DW, Benveniste EN. Tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand induces caspase-dependent interleukin-8 expression and apoptosis in human astrogloma cells. *Mol Cell Biol* 2002;22: 724-736

World Journal of Gastroenterology 点击和下载次数

《World Journal of Gastroenterology, WJG》从 2003 年第 4-9 期电子版, 实现了动态网页制做, 记录每篇论文的点击和下载次数。4-9 期共发表论文 322 篇, 其中 265 篇有点击和下载次数的记录, 占 82.29%, 无点击和下载次数记录的为 57 篇(17.70%)。2003-04-15/2003-10-13, 265 篇论文的点击次数为 35745, 平均每篇论文点击次数为 134.89, 最高点击次数为 1 918, 最低点击次数为 11。其中每篇论文点击次数 100 次以上为 131 篇(49.43%); 30-99 次为 123 篇(46.41%); 11-29 次为 11 篇(4.15%)。最高下载次数 1 087, 最低下载次数 10。例如, 2003 年第 8 期刊出的第四军医大学唐都医院感染科王全楚等撰写的“RNA interference: Antiviral weapon and beyond. World J Gastroenterol 2003;9(8):1657-1661”一文的点击次数为 1 918, 下载次数为 1 087。