

[文章编号] 1000-8861(2009)06-0671-05

抗人 DR5 单克隆抗体的制备、鉴定及活性分析

杨东海^{1Δ}, 庄国洪^{1Δ*}, 刘忠臣^{2Δ}, 张长弓³, 何琼³, 李文珠¹

[摘要] 目的 制备抗人 DR5 单克隆抗体 (mAb), 鉴定其特性, 并进行生物学活性分析。方法 以纯化的可溶性 DR5 (sDR5) 免疫 Balb/c 小鼠, 杂交瘤技术制备抗人 DR5 mAb, 运用 ELISA、SDS-PAGE 电泳方法测定抗 DR5 mAb 与 sDR5 结合的特性; Ig 亚类 ELISA 试剂盒鉴定抗 DR5 mAb 亚类; 间接 ELISA 法检测腹水 mAb 效价; 流式细胞仪检测肿瘤细胞表面 DR5 的表达水平; 流式细胞仪检测抗 DR5 单克隆抗体 (mAb) 诱导肿瘤细胞凋亡的功能。结果 获得 1 株可分泌抗 DR5 mAb 的杂交瘤细胞系 R150, SDS-PAGE 电泳检测证实, 获得的 R150 可特异性地识别 DR5, R150 的 Ig 亚类为 IgG1 (λ 型); 腹水效价为 1×10^6 ; 通过流式细胞仪可敏感地检测到肿瘤细胞表面 DR5 的表达水平及 R150 诱导肿瘤细胞凋亡情况。结论 获得 1 株可分泌抗 DR5 mAb 的细胞系 R150, 抗体具有效价高、特异性强等特点并能有效诱导肿瘤细胞凋亡, 具有较好的应用价值。

[关键词] 死亡受体 5; TRAIL; 单克隆抗体; 细胞凋亡

[中图分类号] R34 **[文献标志码]** A

Preparation, characterization, and activity analysis of monoclonal antibodies against human death receptor 5

YANG Donghai, ZHUANG Guohong, LIU Zhongchen, ZHANG Changgong, HE Qiong, LIWenzhu

Anti-Cancer Research Center, Medical College of Xiamen University, Xiamen 361005, China

[Abstract] **Objective** To prepare monoclonal antibodies (mAbs) against DR5 and characterize their biological properties by using ELISA, flow cytometry and SDS-PAGE. **Methods** Balb/c mice were immunized with soluble DR5 (sDR5), and then mAbs was prepared by hybridoma technique. Ig subclass and specificity of mAbs were analyzed by ELISA and SDS-PAGE, respectively. The titres of mAbs in ascitic fluid were determined by indirect ELISA. Flow cytometry was utilized to detect the tumor cell apoptosis-inducing activity of the mAbs and the DR5 expression on the tumor cell surface. **Results** One hybridoma cell line secreting anti-DR5 mAbs were obtained named R150. DR5 mAb R150 Ig subclass belonged to IgG, whose titer in ascitic fluid was 1×10^6 . The expression of DR5 on different tumor cell surfaces could be sensitively detected by flow cytometry. **Conclusion** Anti-DR5-mAbs against DR5 have been prepared successfully, which possess high titers and specificity and could be used in membrane DR5 and sDR5 testing.

[Key words] death receptor 5; TRAIL; monoclonal antibody; apoptosis

细胞凋亡的信号传递受体配体对有 3 组, 分别为 TNF/TNFR1, Fas (CD95)/FasL 和 TRAIL (TNF related apoptosis inducing ligand) (Apo2L)/DR4/DR5^[1]。1995 年 Wiley 等^[2]发现的肿瘤坏死因子相关凋亡诱导配体 (Tumour necrosis factor apoptosis inducing ligand, TRAIL), 能够选择性杀伤肿瘤细胞, Takeda Cretney 等^[3-5]学者进一步研究发现, 其能够活化转录因子 NF-κB, 有效的抑制原发的肿瘤细胞及转移灶的生长, 而不杀伤正常细胞, 故 TRAIL 一度被誉为最有前景的抗癌药物。但后来的研究发

现, 某些形式的 TRAIL 能诱发正常人部分细胞的凋亡, 特别是肝细胞的凋亡显得尤为突出^[6], 人们对于 TRAIL 抗肿瘤治疗的安全性产生了疑虑。

DR5 (Death receptor 5) 是 TRAIL 受体, Pan 等^[7]学者于 1997 年发现其构型由 411 个氨基酸组成。研究表明, DR5 受体高水平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。其作用机制为激活起始因子胱冬酶原 (caspase-8) 后, 通过线粒体途径和非线粒体途径及一系列的级联效应, 最终激活效应酶 (如 caspase-3, caspase-7 等), 从而介导细胞的凋亡。由此, Ichikawa 等^[8]率先制备了抗 DR5 抗体, 发现其表达更具特异性。同时发现 DR5 在与配体结合时, 只产生暂时性的 NF-κB, 不同于其它肿瘤坏死因子受体激活 NF-κB 诱导巨噬细胞和内皮细胞的前炎症基因活化而引起全

作者单位: 1 厦门大学医学院抗癌研究中心; 2 厦门大学附属中山医院; 3 厦门市波生生物有限公司

收稿日期: 2009-03-23 修回日期: 2009-05-07

基金项目: 福建省自然科学基金 (C0710046) 资助

* 通信作者: 庄国洪, 厦门大学医学院抗癌研究中心, 厦门 361005

Tel: 0592-2180587; E-mail: zhuangguohong@yahoo.com.cn

Δ 共同第一作者

身严重的炎症反应, DR5 选择性细胞毒性也表明其更具安全性。使死亡受体为靶点的肿瘤生物治疗成为新的研究热点。

本研究室在成功构建、表达 sDR5 的前提下, 进一步制备抗 DR5 单克隆抗体, 鉴定其特异性并评价其在 ELISA、Western blot、Flow cytometry 的应用前景。为 ELISA 试剂盒的研制及肿瘤的诊断奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料 1) 动物及试剂: 6~8 周龄雌性 Balb/c 小鼠由厦门大学医学院实验动物中心提供。重组 DR5 蛋白、L342 (肺腺癌) 细胞为本实验室储存。NTA 层析纯化所获 sDR5 纯品、对照抗 DR5 (p-DR5 IgG) 单克隆抗体购自美国 Biovision 公司。辣根过氧化物酶标记的羊抗鼠 IgG (厦门市波生生物技术有限公司惠赠), Fluorescent (FITC) 标记的羊抗鼠 IgG 蛋白、AnnexinV-FITC/PI 双染试剂 (Sigma USA)、弗氏完全及不完全佐剂购自 Sigma 公司。2) 仪器: Protein G 亲和层析柱为 Pharmacia 公司产品。酶联免疫分析仪 (型号 MOLD1354) 为芬兰 Labsystems 公司产品。流式细胞仪 (型号 FACSCalibur) 为美国 BD 公司产品。

1.2 杂交瘤细胞的建立 1) 免疫动物: 参照文献 [9], 以纯化的 sDR5 100 μ L (约 27 μ g) 与等量弗氏完全佐剂乳化后经腹腔注射小鼠, 每隔 2 周以相同剂量的 sDR5 加等量不完全佐剂加强免疫 2 次。末次加强免疫后 3 d 采用 ELISA 法测定小鼠血清中抗 sDR5 抗体的效价, 效价高 ($> 1:12800$) 的小鼠经尾静脉再加强注射 sDR5 100 μ L, 3 d 后进行细胞融合。2) 细胞融合、筛选、克隆化及腹水制备, 均按实验室常规方法进行, 参照文献 [10]。

1.3 腹水 mAb 的纯化 首先将所用材料和试剂在室温中平衡, 去掉 Protein G 亲和层析柱顶部和下端的盖子, 排出柱内的储存液, 加 5 mL 结合缓冲液 ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$, $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, NaCl pH = 6 的 0.05 mol/L 磷酸盐缓冲液) 平衡柱子。将 mAb 腹水用 10~15 mL 结合缓冲液适当稀释后上样, 待样品完全进入层析柱后, 用结合缓冲液洗柱, 再用 6~10 mL 洗脱液 (pH = 2.7 的 0.1 mol/L 甘氨酸缓冲液) 进行洗脱, 收集洗脱液, 后使用浓缩管进行浓缩, 用紫外分光光度计测定其蛋白含量, 用 SDS-PAGE 鉴定其纯度。

1.4 mAb 的特异性鉴定 1) ELISA 法: 用不同浓度 (0.25, 0.5, 0.75, 1.0, 1.25 及 1.5 μ g/mL) 的 sDR5 包被 96 孔板, 每孔 100 μ L, 4 $^{\circ}$ C 过夜。PBST 洗涤 4 次, 每孔加 200 μ L (10 mg/mL) BSA 封闭反应板, 37 $^{\circ}$ C 反应 2 h, PBST 洗涤 4 次, 备用。每孔

加入 R150 杂交瘤 100 μ L, 以购买的抗 DR5 抗体 (p-DR5 mAb) 作为阳性对照, PBS 溶液作为阴性对照, 37 $^{\circ}$ C 反应 1 h, PBST 洗涤 4 次, 加羊抗鼠 IgG-HRP, 每孔 100 μ L, 室温反应 1 h, PBST 洗涤 4 次, 加底物 TMB 显色, 加终止液, 测 $A_{450\text{nm}}$, 绘制曲线。

2) SDS-PAGE 电泳方法检测: 将不同量 (2.5, 5.0, 7.5, 10, 12.5, 15, 20 μ L) 的 mAb 与 100 μ L sDR5 (1 mg/mL) 混合, 分别加入到小离心管中, 室温反应 30 min 后于冰浴中反应 30 min 以 sDR5 细胞作为对照, 用 SDS-PAGE 测定 mAb 与 sDR5 的结合。

1.5 mAb 的效价及 Ig 亚类鉴定 1) 效价测定: 用 sDR5 (2 mg/L) 包被 96 孔板, 按间接 ELISA 法的常规进行测定。2) Ig 亚类的鉴定: 采用鼠 Ig 亚类 ELISA 检测试剂盒进行鉴定。

1.6 流式细胞仪检测 L342 细胞表面 DR5 表达情况 将加入到小离心管中的 L342 细胞 (1×10^5 /mL) 分别与 PBS 稀释的对照 p-DR5 mAb (100 μ L/mL) 及 PBS 稀释的 R150 (100 μ L/mL) 充分混匀, 冰浴 30 min, PBS 洗涤 3 次。再分别与 Fluorescent (FITC) 标记的羊抗鼠 IgG 蛋白 (Sigma USA) 混合, 冰浴反应 30 min, PBS 洗涤 3 次。通过流式细胞仪技术检测 L342 细胞表面 DR5 的表达水平。

1.7 MTT 法检测 mAb 对 L342 细胞增殖的抑制作用 计数细胞, 5×10^5 /孔接种培养板, 按 50, 0, 25, 0, 12.5, 6.25, 3.125 及 1.5625 μ g/mL 分别加入 R150, FasL 及鼠 IgG, 培养 4 h, 加入 20 μ L MTT (7.5 g/L) 继续培养 4 h, 加 100 μ L 二甲亚砜 (DMSO), 于波长 570 nm 测定吸光度 (A) 值, 并计算抑制率 (%)。实验重复 3 次, 取其平均值。抑制率 = $(1 - \text{实验组的 } A \text{ 值} / \text{对照组的 } A \text{ 值}) \times 100\%$ [11]。

1.8 流式细胞仪检测 mAb 对肿瘤细胞诱导凋亡作用 采用 AnnexinV-FITC/PI 双染色标记法, 收集培养的 L342 细胞, 调细胞密度为 1.0×10^6 /mL。于 96 孔板中分别加入 50 μ L 孔的 PBS 对照 p-DR5 mAb (50 μ g/mL) 及 R150 (50 μ g/mL), 于 37 $^{\circ}$ C 温育 30 min, 每孔加细胞悬液 100 μ L, 于 37 $^{\circ}$ C 培养 2 h, 收集每孔细胞悬液, 用标记缓冲液洗 2 次, 每孔细胞孵育于 100 μ L 的标记缓冲液中, 每管分别加 5 μ L AnnexinV-FITC 溶液 (20 μ g/mL), 混匀后于冰上避光孵育 15 min, 最后补 PBS 400 μ L, 上机前每管加入 2 μ L PI (50 μ g/mL), 流式细胞仪检测细胞凋亡情况。结果用 Cellquest 软件进行细胞凋亡分析。

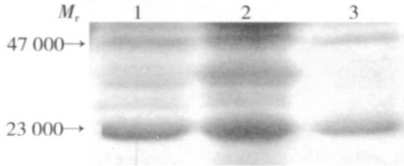
1.9 统计学方法 全部数据使用 Excel 和 SPSS 10.1 做统计学处理, 数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 两组间的比较采用配对 *t* 检验。

2 结果

2.1 杂交瘤细胞系的建立 经动物免疫、细胞融

合、筛选及克隆化, 建立了一株能稳定分泌抗 DR5 抗体的杂交瘤细胞株, 命名为 R150。该细胞株在体外连续传代培养半年以上, 冻存、复苏后, 仍可保持分泌 mAb 的能力。

2.2 腹水 mAb 的纯化 R150 腹水经 Protein G 析柱纯化后用浓缩管进行浓缩, 用紫外分光光度计测定纯化蛋白的浓度为 2.0 mg/mL。经 SDS-PAGE 鉴定 mAb 的纯度在 95% 以上, 相对分子质量 (M_r) 为 140 000, 其中, 轻链 23 000, 重链 47 000。R150 SDS-PAGE 鉴定如下 (图 1)。



1) purchased R150 and IgG; 2) pre-purified R150; 3) purified R150.

图 1 纯化的 R150 的 SDS-PAGE 鉴定

Fig 1 Identification of purified R150 by SDS-PAGE

2.3 mAb 的特异性鉴定

2.3.1 ELISA 检测 R150 与 sDR5 结合特性 ELISA 结果显示, R150 与不同浓度的 sDR5 结合反应的 $A_{450\text{nm}}$ 值为 0.282, 0.454, 0.793, 0.900, 1.135, 1.137。阳性对照组抗 DR5 单克隆抗体与不同浓度的 sDR5 结合反应的 $A_{450\text{nm}}$ 值为 0.280, 0.462, 0.811, 0.944, 1.140, 1.144。不同浓度 R150/p-DR5 mAb 与 sDR5 结合组间差异显著 ($P < 0.05$), R150/p-DR5 mAb 组间无差异 ($P < 0.05$), 说明 R150 为 sDR5 的特异性抗体 (图 2)。

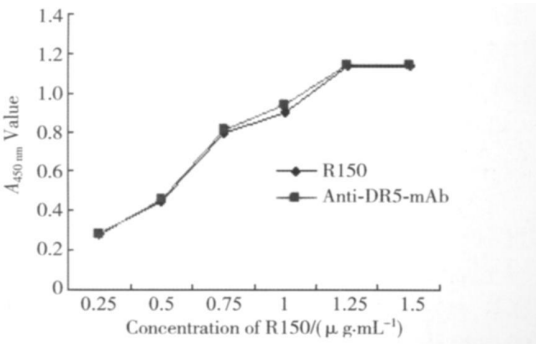
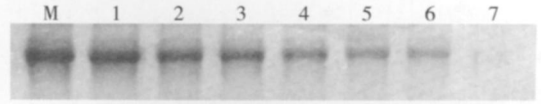


图 2 ELISA 法检测 R150 与 sDR5 结合的特性

Fig 2 Binding activities of R150 to sDR5 detected by ELISA

2.3.2 SDS-PAGE 电泳测定 R150 与 sDR5 的结合 将 2.5, 5.0, 7.5, 10, 12.5, 15, 20 μL R150 与 100 μL sDR5 (1 mg/mL) 混合, 分别加入到小离心管中, 室温反应 30 min 后于冰浴中反应 30 min, 以 sDR5 细胞作为对照。用 SDS-PAGE 测定 mAb 与 sDR5 的结合。结果发现, 在 M_r 17 000^[12] 处, 随着 mAb 浓度的增加, 电泳条带逐渐变浅, 说明 R150 能

够与 sDR5 特异的结合 (图 3)。



M) sDR5 without R150 treatment; 1-7) sDR5 treated with 2.5, 5.0, 7.5, 10, 12.5, 15, 20 μL R150 respectively.

图 3 SDS-PAGE 检测 R150 与 sDR5 结合特性

Fig 3 Bonding effect of R150 to sDR5 analyzed by SDS-PAGE

2.4 mAb 的效价测定及 Ig 亚类鉴定 间接 ELISA 检测表明, R150 腹水的效价为: 1×10^6 ; R150 亚型为 IgG1 (λ 型)。

2.5 流式细胞仪检测 L342 细胞表面 DR5 表达情况 流式细胞仪结果表明, PBS 对照组未能检出 L342 细胞表面 DR5 表达; R150 检测 L342 细胞表面 DR5 表达率为 25.5%; 对照 p-DR5 mAb 检测 L342 细胞表面 DR5 表达率为 26.4% (图 4)。

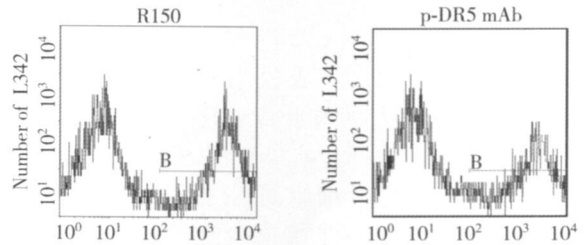


图 4 流式细胞仪检测 L342 细胞表面 DR5 表达情况

Fig 4 Surface expression of DR5 on L342 cell line measured by flow cytometry

2.6 R150 对细胞生长的影响 经 MTT 法分析发现, 肿瘤细胞死亡率与 R150 浓度成正比, 随着 R150 浓度的上升, L342 细胞死亡率也升高。R150 浓度为 1.5625 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时, 肿瘤细胞死亡率仅为 (7.33 \pm 0.46)%, 当 R150 浓度上升至 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时, 肿瘤细胞死亡率可达 (48.78 \pm 0.91)%, 提示肿瘤细胞对 R150 反应敏感。以鼠 IgG 为阴性对照, 鼠 IgG 对细胞生长无明显影响; FasL 为阳性对照, FasL、R150 单独应用于 L342 组间差异显著 ($P < 0.05$), 6.25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ FasL/R150 组间无差异 ($P > 0.05$)。

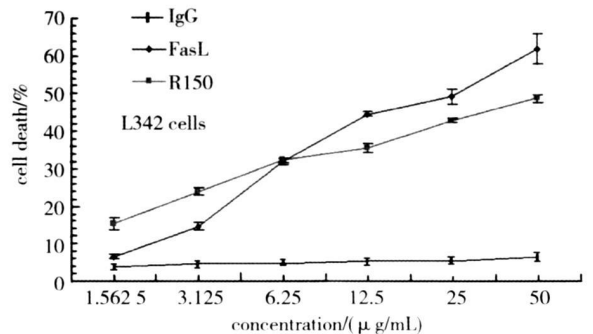


图 5 FasL/R150/鼠 IgG 对 L342 的细胞毒效应

Fig 5 Cytotoxic effects of FasL and R150 on L342 cell line

2.7 流式细胞仪检测 R150 对肿瘤细胞诱导凋亡作用 使用流式细胞仪通过 Annexin-V-FITC/PI 双染法检测 R150 诱导的肿瘤细胞凋亡率, 其中早期凋亡 (11.8 ± 1.1)%, 中晚期凋亡 (30.2 ± 1.3)%,

总凋亡率约为: (40.1 ± 1.9)%. 对照 p-DR5 mAb 诱导肿瘤细胞早期凋亡 (21.3 ± 0.8)%, 中晚期凋亡 (22.2 ± 1.1)%, 总凋亡率 (42.6 ± 1.7)%. 结果同样提示肿瘤细胞对 R150 敏感。

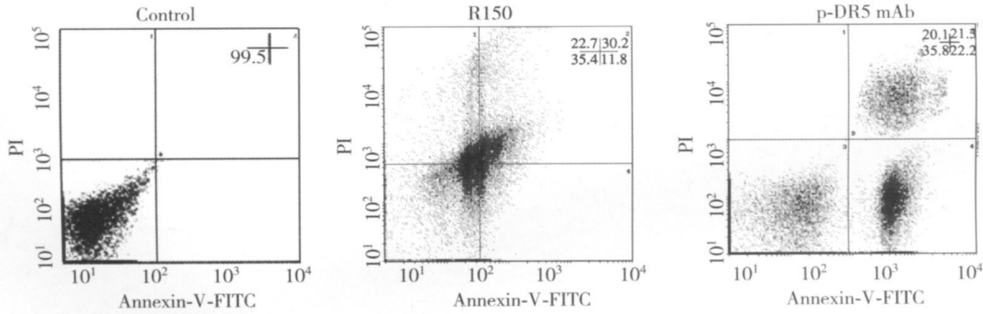


图 6 流式细胞仪检测 R150 对肿瘤细胞诱导凋亡作用

Fig 6 R150-induced cells apoptosis detected by flow cytometry

3 讨论

可溶性 TRAIL 的抗肿瘤作用在小鼠和灵长类动物试验中已经得到证实。然而, TRAIL 的某些形式能够诱导人正常肝细胞凋亡, 因此, 对 TRAIL 临床应用的安全性产生了疑虑。由于在 TRAIL 的 2 种死亡受体中, DR5 与 TRAIL 结合的亲和力更为突出, 研制 DR5 的特异性抗体, 激发肿瘤细胞凋亡信号将是抗肿瘤治疗的一条有效途径。

DR5 编码基因定位于人类染色体 8p22-p21。其 mRNA 序列全长 1460 bp 已经发现有 2 种构型 DR5A/TRICK2A (短) 及 DR5B/TRICK2B (长), 其中 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, 与 DR4 的同源性为 58%, 与 TNFR1 死亡受体结构的同源性达 64%。DR5 与配体相结合后, 通过一个 Fas 相关死亡结构域 (Fas-associated death domain, FADD) 为接头器与凋亡信号的起始因子胱冬酶原 (pro-caspase-8) 结合。这样, 死亡配体-死亡受体-FADD-胱冬酶原分子以串联形式组合成死亡诱导信号复合体 (death-inducing signal complex, DISC)。随后激活 caspase-8 启动非线粒体依赖途径和线粒体依赖途径诱导肿瘤细胞的凋亡^[13]。

Ichikawa 等^[8] 于 2001 年制备了抗 DR5 单克隆抗体 TRA-8, DR5 表达水平的高低与 TRA-8 的敏感性呈正相关^[8,14]。有研究发现 TRA-8 与配体联合作用时, 可通过提高 JNK/P38 及 caspase-8 的活性发挥协同促凋亡作用; 与化疗药物联合作用时, 也可通过 MAPKK4 (mitogen-activated protein kinase kinase) 激酶活化激活 JNK/P38 途径发挥协同促细胞

凋亡作用。

我们以高纯度的重组 DR5 蛋白作为抗原, 使用细胞融合技术, 成功地获得抗 DR5 抗体 R150 运用 ELSIA、SDS-PAGE 方法证明所筛选出 R150 为 sDR5 的特异性抗体且 R150 可与 sDR5 特异性结合。

通过流式细胞仪检测 L342 肿瘤细胞表面 DR5 的表达情况, 证实 DR5 在肿瘤细胞表面的表达率为 25.5%。MTT 法与流式细胞仪分别检测 R150 对肿瘤细胞的杀伤效用: MTT 法表明 R150 浓度为 1.5625 μg/mL 时, 肿瘤细胞死亡率为 (7.33 ± 0.46)%, 当 R150 浓度上升至 50 μg/mL 时, 肿瘤细胞死亡率可达 (48.78 ± 0.91)%; 流式细胞仪检测 R150 诱导的肿瘤细胞凋亡率, 早期凋亡 (30.2 ± 1.3)%, 中晚期凋亡 (11.0 ± 1.1)%, 总凋亡率约为 (40.1 ± 1.9)%。2 种方法结论均显示 L342 对 R150 敏感。

抗 DR5 抗体具有与 DR5 结合的高度特异性, 且不与诱骗分子 (decoy receptor DcR) 相互作用, 不会形成 DR5/DcR 复合体^[15], 因此肿瘤细胞表面 DcR 表达量不影响抗 DR5 抗体的抗肿瘤疗效, 部分对 TRAIL 有耐受性的肿瘤细胞对抗 DR5 抗体也敏感, 而且抗 DR5 抗体在体内半衰期很长, 可达 17 d 因此能持续发挥抗肿瘤作用^[1,8]。此外, 抗 DR5 抗体还可以激活体内 T 细胞免疫杀伤肿瘤^[16]。因此, 抗 DR5 抗体抗肿瘤效果更显著, 具有良好的抗肿瘤应用前景。

总之, 抗人 DR5 单克隆抗体 (mAb) 的成功制备、鉴定及应用, 不但可进一步研究分析 DR5 蛋白的表达及分布, 还为其 ELISA 试剂盒的研制及肿瘤的诊断奠定了坚实的基础。

(致谢: 在此诚挚感谢厦门市波生生物技术有限公司提供羊抗鼠 IgG-HRP; 国家传染病诊断试剂与疫苗工程技术研究中心(厦门大学)帮助检测抗体亚型。)

[参考文献]

- [1] Duker EW, M am CH, de Jong S, et al The clinical trail of TRAIL [J]. Eur J Cancer 2006, 42 (14): 2233-2240
- [2] Wiley SR, Schooley K, Smolak P J et al Identification and characterization of a new member of the TNF family that induces apoptosis [J]. Immunity 1995, 3 (6): 673-682
- [3] Takeda KY, Hayakawa M J, Smyth N, et al Involvement of tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand in surveillance of tumor metastasis by liver natural killer cells [J]. Nat Med 2001, 7 (1): 94-100
- [4] Takeda K, Smyth M J, Cretney E, et al Critical role for tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand in immune surveillance against tumor development [J]. Exp Med 2002, 195 (2): 161-169
- [5] Cretney E, Takeda K, Yagita H, et al Increased susceptibility to tumor initiation and metastasis in TNF-related apoptosis-inducing ligand-deficient mice [J]. J Immunol 2002, 168 (3): 1356-1361
- [6] 白慧玲, 裴景堂, 杜耀武, 等. 兔抗人 DR5 分子多克隆抗体的制备与初步应用 [J]. 免疫学杂志, 2008, 24(6): 634-637.
- [7] Pan G, Ni J, Wei YF, et al An antagonist decoy receptor and a death domain-containing receptor for TRAIL [J]. Science 1997, 277 (5237): 815-818
- [8] Ichikawa K, Liu W, Zhao L, et al Tumoricidal activity of a novel anti human DR5 monoclonal antibody without hepatocyte cytotoxicity [J]. Nat Med 2001, 7 (8): 954-960
- [9] 杨明珍, 李 鹏, 张竹君, 等. 抗淋巴样增强因子-1 羧基端单克隆抗体的制备及其表位的初步鉴定 [J]. 免疫学杂志, 2008, 24(2): 142-145
- [10] 刘瑞振, 张长弓, 何 琼, 等. 抗人 DR3 单克隆抗体的制备、鉴定及应用 [J]. 免疫学杂志, 2009, 25(1): 53-57.
- [11] 庄国洪, 孙红光, 杜柏榕, 等. 抗人 DR5 单克隆抗体诱导 U343 细胞凋亡研究 [J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2004, 11(2): 96-99
- [12] 张长弓, 宋玉国, 李文珠, 等. DR5 的构建、表达纯化及活性分析 [J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2006, 13(6): 462-466
- [13] Screaton GR, Mongkolsapaya J, Xu XN, et al TRICK2, a new alternatively spliced receptor that transduces the cytotoxic signal from TRAIL [J]. Curr Biol 1997, 7 (9): 693-696
- [14] 李 妍, 曹云新, 张 赞, 等. IFN- α 对肿瘤细胞上 TRAIL 受体 DR4 和 DR5 表达的调节及意义 [J]. 第四军医大学吉林军医学院学报, 2005, 26(1): 7-10
- [15] Lee HW, Lee SH, Lee YW, et al Homomeric and heteromeric interactions of the extracellular domains of death receptors and death decoy receptors [J]. Biochem Biophys Res Commun 2005, 330 (4): 1205-1212
- [16] Takeda K, Yanaguchi N, Akiba H, et al Induction of Tumor-specific T Cell immunity by Anti-DR5 Antibody therapy [J]. J Exp Med 2004, 199(4): 437-448

(编辑 侯 瑞)