

[文章编号] 1007-385X(2008)02-0110-05

IFN- γ 增强 TNF 相关凋亡诱导配体对骨巨细胞瘤细胞的抑制

郭 钧^{1,3}, 王 岩^{1*}, 黄靖香¹, 杨子义², 倪 健², 刘蜀彬³, 李鼎锋³ (1. 中国人民解放军总医院 骨科, 北京 100036; 2. 上海富纯中南生物公司, 上海 201203; 3. 中国人民解放军 307 医院 骨科, 北京 100071)

[摘 要] 目的: 探讨肿瘤坏死因子相关凋亡诱导配体(tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand, TRAIL)对人骨巨细胞瘤(giant cell tumor of bone, GCT)的作用及干扰素- γ (interferon- γ , IFN- γ)对 TRAIL 抗瘤活性的影响, 并探讨其影响机制。方法: 选取 2003 年 - 2006 年于 301 医院骨科手术切除的骨巨细胞瘤新鲜标本 9 例, 将取自标本的骨巨细胞瘤细胞分为: 对照组, TRAIL 组, IFN- γ 组, IFN- γ 诱导后加入 TRAIL 组, 应用 CCK-8 法检测 TRAIL、IFN- γ 单独及联合作用对骨巨细胞瘤细胞的增殖抑制作用, 流式细胞仪、TUNEL 法分析 IFN- γ 对 TRAIL 凋亡诱导作用的影响, RT-PCR 法检测 IFN- γ 作用前后肿瘤细胞 DR4、DR5、TRAIL 的表达。结果: 骨巨细胞瘤细胞对照组存活率为(98.64 \pm 0.31)%, TRAIL (100、500、1 000 μ g/L)单独作用对肿瘤细胞增殖无明显抑制作用; IFN- γ (500、1 000 U /ml)单独作用后, 细胞的存活率分别为(94.05 \pm 1.89)%、(90.47 \pm 2.66)%。IFN- γ (500 U /ml)诱导 24 h 后与 TRAIL(100、200 μ g/L)联合作用, 细胞的存活率分别为(84.65 \pm 2.46)%、(77.65 \pm 3.14)%。两者联合作用后流式细胞仪测得联合作用组凋亡率为(27.94 \pm 2.88)%、(38.65 \pm 2.46)%, 对照组凋亡率为(1.77 \pm 0.49)%; TUNEL 法测得联合作用组凋亡率分别为(19.63 \pm 3.51)%、(29.28 \pm 4.80)%, 对照组的凋亡率为(1.1 \pm 0.17)%。RT-PCR 结果显示, IFN- γ 作用 24 h 后肿瘤细胞 TRAIL、DR4、DR5 mRNA 表达明显上调。结论: 骨巨细胞瘤细胞对 TRAIL 不敏感, IFN- γ 可以明显提高 TRAIL 诱导骨巨细胞瘤细胞凋亡的敏感性, 其机制可能与 IFN- γ 上调 TRAIL、DR4、DR5 mRNA 的表达有关。

[关键词] 骨巨细胞瘤; 肿瘤坏死因子相关凋亡诱导配体; 干扰素- γ ; 凋亡

[中图分类号] R738.1; R730.54

[中图分类号] A

IFN- γ enhances the anti-tumor effect of TRAIL against giant cell tumor of bone *in vitro*

GUO Jun^{1,3}, WANG Yan^{1*}, HUANG Jing-xiang¹, YANG Zi-yi², NI Jian², LIU Shu-bin³, LI Ding-feng³ (1. Department of Orthopaedics, General Hospital of PLA, Beijing 100036, China; 2. Shanghai Fuchun Zhongnan Biotech Company Ltd, Shanghai 201702, China; 3. Department of Orthopaedics, No. 307 Hospital of PLA, Beijing 100071, China)

[Abstract] **Objective:** To explore the anti-tumor effect of tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) against giant cell tumor of bone (GCT), and to study the influence of IFN- γ on the anti-tumor effects of TRAIL and the possible mechanisms. **Methods:** Fresh specimens were obtained from 9 patients who were pathologically diagnosed as having GCT in the orthopaedics department of No. 301 Hospital PLA from 2003 to 2006. The GCT cells from specimens were divided into 4 groups: control group, TRAIL group, IFN- γ group and IFN- γ plus TRAIL group. The cell inhibition was examined by CCK-8 assay. Cell apoptosis was detected by flow cytometric analysis and TUNEL assays. RT-PCR was applied to semi-quantitatively assay the mRNA expression of TRAIL, DR4 and DR5 in GCT cells before and after the treatment with IFN- γ (500 U/ml). **Results:** The GCT cell survival rate was (98.64 \pm 0.31)% in the control group. TRAIL alone (100, 500, 1 000 μ g/L) had no obvious effect on tumor cell proliferation. After treatment with IFN- γ at 500 and 1 000 U/ml, the tumor cell survival rates were (94.05 \pm 1.89)% and (90.47 \pm 2.66)%, respectively. After treatment with IFN- γ (500 U /ml) and TRAIL (100, 200 μ g/L), the tumor cell survival rates were (84.65 \pm 2.46)% and (77.65 \pm 3.14)%, respectively; and FCM showed that their apoptosis rates were (27.94 \pm 2.88)% and (38.65 \pm 2.46)%, respectively; the apoptosis rate was (1.77 \pm 0.49)% in the control group. TUNEL revealed that the apoptosis

[基金项目] 国家高技术研究发展(863)计划资助项目(No. 2002AA214081)。Supported by the National High Technology Research and Development Program of China (No. 2002AA214081)

[作者简介] 郭 钧(1971-), 男, 山西省阳泉市人, 博士, 主治医师, 主要从事脊柱外科, 骨肿瘤方面的研究, E-mail: gzd713@163.com

* Corresponding author. E-mail: guanjie301@yahoo.com.cn

rates were (19.63 \pm 3.51)% and (29.28 \pm 4.80)% , respectively; and the rate was (1.1 \pm 0.17)% in the control group. RT-PCR showed that the expression levels of *TRAIL*, *DR4* and *DR5* in tumor cells were up-regulated after treatment with IFN- γ (500 U /ml) for 24 h. **Conclusion:** GCT cells are not sensitive to TRAIL. IFN- γ can up-regulate the apoptosis rate of GCT cells induced by TRAIL, which might be associated with the up-regulation of *TRAIL*, *DR4* and *DR5* mRNA expression by IFN- γ .

[**Key words**] giant cell tumor of bone; tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand; IFN- γ ; apoptosis

[Chin J Cancer Biother, 2008, 15(2): 110-104]

骨巨细胞瘤 (giant cell tumor of bone, GCT) 为低度恶性肿瘤, 侵袭性较强, 局部刮除术后易复发^[1], 多次复发还可发生肉瘤样恶变或肺转移^[2]。因此, 探讨更加安全有效的辅助治疗手段对防治骨巨细胞瘤的复发、恶变和转移具有重要意义^[3]。肿瘤细胞的异常增殖和骨破坏是骨巨细胞瘤的主要病理表现。单核基质细胞能够调节破骨细胞生成, 是骨破坏的最终调节者^[4], 筛选对骨巨细胞瘤细胞具有抑制作用的治疗药物具有重要意义。肿瘤坏死因子相关凋亡诱导配体 (tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand, TRAIL) 属于 II 型跨膜蛋白质, 是 Wiley 等^[5]从人心肌 cDNA 文库中克隆出来的, 因其氨基酸顺序具有肿瘤坏死因子超家族的结构特征, 并能诱导很多肿瘤细胞凋亡而得名。但有一部分肿瘤细胞, 如乳腺癌、膀胱癌等对 TRAIL 是没有反应的。研究^[7]证明, IFN- γ 可逆转肿瘤细胞对 TRAIL 的抗药性, 恢复其对 TRAIL 的敏感性。本研究旨在探讨 TRAIL 对骨巨细胞瘤细胞的作用, 以及 TRAIL 与 IFN- γ 联合应用是否具有协同作用, 并探讨其可能的机制。

1 材料与方法

1.1 主要试剂与仪器

DMEM 培养基、胰蛋白酶、TRIZol 试剂系 GIBCO 公司产品, 新生牛血清系杭州四季青公司产品。TRAIL 系 Pepro Tech 公司产品。IFN- γ 购自上海克隆生物工程制药有限公司。Annexin V-FITC 试剂盒系美国 BD pharmingen 公司产品。M-MLV reverse transcriptase 试剂系 Promega 公司产品; Taq DNA polymerase 系大连宝生物工程有限公司产品。TUNEL 试剂盒购自北京宝赛公司; CCK-8 试剂系日本同仁化学研究所产品。

参照文献对 TRAIL、GAPDH 及死亡受体 DR4、DR5 (death receptors, DR) 进行引物设计^[8], 由北京东胜生物公司合成, 供 RT-PCR 实验中使用 (表 1)。

1.2 细胞培养

选取 2003 年 - 2006 年于 301 医院骨科手术切

除的骨巨细胞瘤新鲜标本 9 例, 常规体外培养传代, 分别取各标本的肿瘤细胞 8 ~ 9 代对数生长期细胞用于实验^[9]。

表 1 RT-PCR 引物序列

Tab. 1 Primers of each gene for RT-PCR

Gene	Primer	bp
GAPDH	Outer 5'-ACCACAGTCCATGCCATCAC-3'	452
	Inner 5'-TCCACCACCCTGTTGCTGTA-3'	
DR4	Outer 5'-CAGAACGTCCTGGAGCCTGTAAC-3'	299
	Inner 5'-ATGTCCATTGCTGATTCCTTTGTG-3'	
DR5	Outer 5'-CCTTGGAGACGCTGGGAGAGA-3'	252
	Inner 5'-TGGGTGATGTTGGATGGGAGACT-3'	
TRAIL	Outer 5'-CTTTACCAACGAGCTG-3'	262
	Inner 5'-GTTATGTGAGCTGCTAC-3'	

1.3 CCK-8 试剂盒检测肿瘤细胞的增殖抑制

本实验分为 5 大组: (1) 空白对照组, 含培养液 350 μ l ; (2) 肿瘤细胞对照组; (3) 单用 IFN- γ (100、500、1 000 U /ml) 组; (4) 单用 TRAIL (100、500、1 000 μ g/L) 组; (5) 提前加入 IFN- γ (500 U/ml) 培养 24 h 后加 TRAIL (100、200 μ g/L) 再培养 24 h 组; 每组设 3 个复孔。取对数生长期细胞, 调细胞密度为 2×10^4 个/ml, 除空白组外余每孔 (96 孔板) 接种 250 μ l 细胞悬液 (5 000 个/孔), 培养 24 h 后, 按上述方案加入培养液或药物 100 μ l, 继续培养 24 h。参照黄鹏等^[10]方法在每孔内加入 10 μ l CCK-8 试剂盒试剂 WST-8 (四甲基偶氮唑蓝), 培养 4 h, 在 450 nm 波长处测定光密度值 (*D*), 参比波长为 600 nm。存活率 (%) = (实验组 *D* 值 - 空白对照组 *D* 值) / (细胞对照组 *D* 值 - 空白对照组 *D* 值) \times 100%

1.4 流式细胞术 (flow cytometric, FCM) 检测肿瘤细胞的凋亡

实验分成 3 组: (1) 对照组不加任何药物; (2) IFN- γ (500 U/ml) 培养 24 h 后加 TRAIL (100 μ g/L)

再培养 24 h 组;(3) IFN- γ (500 U/ml) 培养 24 h 后加 TRAIL(200 $\mu\text{g/L}$)再培养 24 h 组。将 9 例标本的对数生长期细胞接种于 40 cm^2 的培养瓶中,约 1.2×10^6 个/瓶,每例标本细胞接种 3 瓶用于实验。按上述分组情况进行药物处理,收集细胞,稀释至 1×10^6 个/ml。吸取 100 μl 细胞悬液(含 1×10^5 个)至培养管中,加入 5 μl Annexin V-FITC 及 10 μl PI,室温下避光保存 15 min,每管加入 400 μl 缓冲液,混匀后上流式细胞仪检测细胞凋亡。

1.5 脱氧核糖核苷酸末端转移酶介导的缺口末端标记法(TUNEL)检测肿瘤细胞的凋亡

取对数生长期细胞稀释至一定密度接种于 6 孔培养板,每孔 3 ml,细胞约 3×10^5 个/孔。药物处理方法同 1.4。按细胞凋亡检测试剂盒说明的方法进行,用 PBS 代替 TUNEL 反应液作为阴性对照。显微镜下观察,细胞核内出现蓝紫色颗粒或细胞质因核 DNA 溢出有蓝紫色颗粒者为阳性细胞,即凋亡细胞。每张细胞爬片随机计数 200 个细胞,计算凋亡率。

1.6 半定量 RT-PCR 检测细胞中 TRAIL、DR4、DR5 基因的表达

细胞以 $1.5 \times 10^5/\text{ml}$ 的密度接种 40 cm^2 培养瓶中培养 24 h。设对照组和实验组,对照组不加任何药物处理,实验组加入 IFN- γ (500 U/ml),培养 24 h。用药后于相应时间内收集细胞。按 TRIZOL 试剂盒说明提取总 RNA。紫外分光光度仪测 260 nm 和 280 nm 光密度,分析 RNA 纯度并定量。按照 M-MLV 逆转录试剂盒说明合成 cDNA,逆转录产物为模板行 PCR 反应。反应体系共 100 μl ,包括上、下游引物各 10 nmol、cDNA 2 μl 、 $4 \times 2.5 \text{ mmol/L}$ dNTP 8 μl 、25 mmol/L MgCl_2 6 μl 、Taq 酶 3 U。反应条件:95 $^\circ\text{C}$ 预变性 5 min,进入热循环 94 $^\circ\text{C}$ 变性 1 min,55 $^\circ\text{C}$ 退火 1 min,72 $^\circ\text{C}$ 延伸 2 min,反应共进行 30 个循环,72 $^\circ\text{C}$ 延伸 10 min。PCR 产物于 1.5% 琼脂糖凝胶中电泳,Gel Dos 1000 凝胶图像分析仪扫描,以 GAPDH 为内参照。以被检测基因灰度值与 GAPDH 灰度值之比表示各基因的相对表达强度。实验重复 3 次。

1.7 统计学处理

所有实验均重复 3 次,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。采用 SPSS11.0 统计软件,应用 *t* 检验和单因素方差分析进行统计分析, $P < 0.05$ 被认为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 IFN- γ 、TRAIL 单独及联合应用对骨巨细胞瘤

细胞增殖的影响

TRAIL 单独作用,在 1 000 $\mu\text{g/L}$ 时对骨巨细胞瘤肿瘤细胞增殖仍无明显影响。IFN- γ 以 100、500 U/ml 的活性浓度作用于 GCT 细胞,细胞存活率与对照组比无显著性差异;IFN- γ 以 1 000 U/ml 作用后肿瘤细胞存活率明显低于对照组($P < 0.05$)。IFN- γ 500 U/ml 诱导 24 h 后分别加入 100、200 $\mu\text{g/L}$ 质量浓度的 TRAIL 作用 24 h 后,肿瘤细胞的存活率降低,与 IFN- γ 相应浓度单独作用组比较差异有统计学意义($P < 0.01$,表 2)。

表 2 IFN- γ 单独及 TRAIL 联合作用对骨巨细胞瘤细胞存活的影响

Tab.2 Effect of IFN- γ or combined with TRAIL on GCT cells viability

Group	Cells viability(%)
Control	98.64 \pm 0.31
TRAIL 100 $\mu\text{g/L}$	98.02 \pm 1.87
TRAIL 500 $\mu\text{g/L}$	97.17 \pm 1.54
TRAIL 1 000 $\mu\text{g/L}$	96.13 \pm 1.97
IFN - γ 100 U/ml	97.03 \pm 2.08
IFN - γ 500 U/ml	94.05 \pm 1.89
IFN - γ 1 000 U/ml	90.47 \pm 2.66*
IFN- γ (500 U/ml) + TRAIL(100 $\mu\text{g/L}$)	84.65 \pm 2.46**
IFN- γ (500 U/ml) + TRAIL(200 $\mu\text{g/L}$)	77.65 \pm 3.14**

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs control, TRAIL 100 $\mu\text{g/L}$, TRAIL 500 $\mu\text{g/L}$, TRAIL 1 000 $\mu\text{g/L}$, IFN- γ 100 U/ml, respectively

2.2 IFN- γ 、TRAIL 单独及联合应用对骨巨细胞瘤细胞凋亡的影响

细胞经 IFN- γ 诱导后再经与 TRAIL 共同处理 24 h 后进行流式细胞术分析。结果显示,对照组凋亡率为(1.77 \pm 0.49)%, IFN- γ 500 U/ml + TRAIL 100 $\mu\text{g/L}$ 组凋亡率为(27.94 \pm 2.88)%, IFN- γ 500 U/ml + TRAIL 200 $\mu\text{g/L}$ 组凋亡率为(38.65 \pm 2.46)% , 与对照组比较差异有统计学意义($P < 0.01$,图 1)。

TUNEL 法检测显示,联合用药组处理细胞 24 h 后均出现典型的细胞凋亡特征:细胞体积变小,细胞核固缩并有大量深蓝色颗粒沉积,核膜增厚浓染显蓝色,细胞质因核 DNA 溢出有蓝紫色颗粒(图 2)。对照组的凋亡率为(1.1 \pm 0.17)%。IFN- γ 500 U/ml + TRAIL 100 $\mu\text{g/L}$ 组凋亡率为(19.63 \pm

3.51)% , IFN- γ 500 U/ml + TRAIL 200 μ g/L 组凋亡率为(29.28 \pm 4.80)% ,与对照组比较差异有统计学意义($P < 0.01$)。

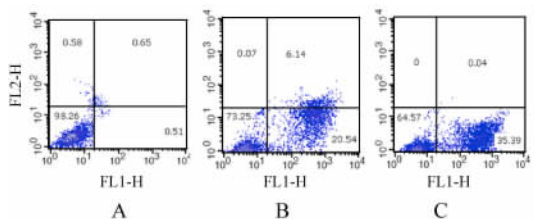


图 1 IFN- γ 与 TRAIL 联合作用对肿瘤细胞凋亡的影响

Fig. 1 Effect of IFN- γ combined with TRAIL on apoptosis of tumor cells

A: Control; B: IFN- γ (500 U/ml) + TRAIL(100 μ g/L);
C: IFN- γ (500 U/ml) + TRAIL(200 μ g/L)

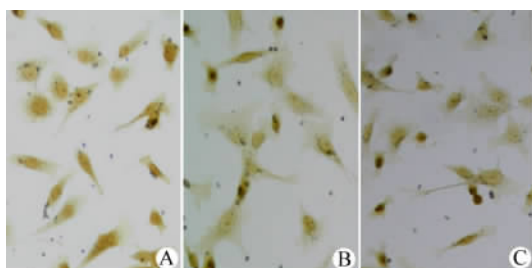


图 2 TUNEL 法检测 IFN- γ 与 TRAIL 联合作用致 GCT 细胞的凋亡($\times 400$)

Fig. 2 Effect of IFN- γ combined with TRAIL on apoptosis of GCT cells as detected by TUNEL($\times 400$)

A: Control group; B: IFN- γ (500 U/ml) + TRAIL (200 ng/ml);
C: IFN- γ (500 U/ml) + TRAIL(200 ng/ml)

2.3 IFN- γ 对 GCT 肿瘤细胞 TRAIL、DR4、DR5 基因表达的影响

半定量 RT-PCR 结果显示,500 U/ml IFN- γ 组处理细胞 24 h 后,TRAIL、DR4、DR5 电泳条带明显变化,各基因 mRNA 相对表达量明显增加,与对照组之间差异有统计学意义($P < 0.05$,图 3,表 3)。

3 讨论

TRAIL 能特异性诱导多种肿瘤细胞的凋亡,而对正常细胞无杀伤作用,这将为肿瘤的临床治疗提供良好前景。TRAIL 对细胞的凋亡诱导作用依赖于其死亡受体 DR4、DR5 激活^[11-12], DR 含有胞内死亡结构域,TRAIL 与死亡受体结合形成复合体,传导凋亡信息至胞质内,引发 caspases 家族瀑布式激活,最终诱导细胞凋亡^[13]。在对骨巨细胞瘤的研究中尚无公认的标准化模型细胞株,国外在研究中多采

取多个组织标本细胞进行研究^[14]。本研究采用 RT-PCR 方法检测 9 例骨巨细胞瘤标本细胞,均显示有 TRAIL 及其死亡受体 DR4、DR5 的表达。然而高达 1 000 μ g/L 的 TRAIL 对 9 例肿瘤标本细胞均无增殖抑制作用,说明骨巨细胞瘤细胞对 TRAIL 不敏感。

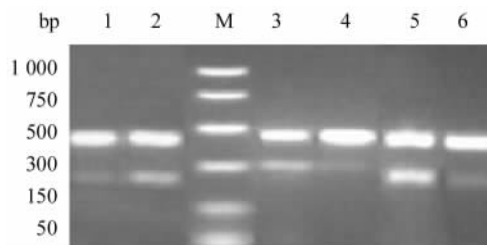


图 3 IFN- γ 对 GCT 细胞中 TRAIL, DR4, DR5 mRNA 表达的影响

Fig. 3 Effect of IFN- γ on expression of TRAIL, DR4, DR5 mRNA in GCT cells

1,4,6: Expression of TRAIL, DR4, DR5 mRNA before treatment, respectively; 2,3,5: Expression of TRAIL, DR4, DR5 mRNA after treatment, respectively; M: Marker

表 3 IFN- γ 作用对肿瘤细胞 TRAIL、DR4、DR5 mRNA 表达的影响

Tab. 3 Effect of IFN- γ on expression of TRAIL, DR4, DR5 mRNA in tumor cells

Group	TRAIL	DR4	DR5
Control	0.208 \pm 0.111	0.185 \pm 0.117	0.213 \pm 0.125
IFN- γ	0.552 \pm 0.202*	0.393 \pm 0.133*	0.383 \pm 0.147*

* $P < 0.05$ vs control group

研究报道^[15-16], IFN- γ 诱导一定时间后再与 TRAIL 联合应用可明显增强 TRAIL 的效果。鉴于这些研究结果,本实验以 IFN- γ 先诱导 24 h 再联合使用 TRAIL 后细胞的抑制率显著增加,与单独应用组相比差异有统计学意义($P < 0.01$),表明 IFN- γ 能逆转骨巨细胞瘤肿瘤细胞对 TRAIL 的耐受。

流式细胞术检测发现,未用药物干预的对照组凋亡率仅有(1.77 \pm 0.49)% ,IFN- γ (500 U/ml) 分别与 TRAIL 100、200 μ g/L 联合应用后凋亡率增到(27.94 \pm 2.88)%、(38.65 \pm 2.46)%。TUNEL 法检测结果再次肯定了两组联合使用后凋亡率明显增高,并且本组 9 例肿瘤标本细胞以两种药物联合处理细胞 24 h 后均出现典型的细胞凋亡表现。以上结果说明, TRAIL 与亚毒性剂量的 IFN- γ

(500 U/ml)联合应用有明显的协同作用,IFN- γ 显著增强 TRAIL 对骨巨细胞瘤细胞凋亡的诱导作用。

TRAIL 对不同的肿瘤细胞具有不同的耐受性,其原因仍不清楚。死亡受体表达的差异可能是其原因之一。本研究的 RT-PCR 检测结果证实,骨巨细胞瘤细胞虽有 TRAIL 及死亡受体表达,但表达微弱,这可能是骨巨细胞瘤肿瘤细胞对 TRAIL 不敏感的原因。为进一步探索 IFN- γ 与 TRAIL 协同作用的机制是否与上调细胞的 TRAIL、DR4、DR5 基因表达有关,本研究进一步观察骨巨细胞瘤肿瘤细胞经 IFN- γ 和 TRAIL 联合作用后 TRAIL、DR4、DR5 基因的表达。结果显示,经 IFN- γ 和 TRAIL 联合作用后 TRAIL、DR4、DR5 的基因表达水平明显增高。

但有学者认为药物增强肿瘤细胞对 TRAIL 诱导凋亡效应更多地依赖于细胞内信号的变化,而不是细胞膜上的死亡受体与诱骗受体的分布。例如 Yamanaka 等^[17]对肝细胞癌细胞株研究时发现,尽管各细胞株的 TRAIL R1、R2 均有很高的表达,但表现出对 TRAIL 诱导的凋亡很强的抵抗性。用死亡受体表达水平被上调来解释 TRAIL 和化疗药物具有协同效应可能略显简单了。IFN- γ 增强肿瘤细胞对 TRAIL 的敏感性的机制可能是多方面、多环节的^[18-19],TRAIL 与一些化疗药物产生协同效应的具体作用机制仍有待于更深入的研究。

总之,IFN- γ 增强骨巨细胞瘤细胞对 TRAIL 敏感性的作用,给我们提供了一个解决 TRAIL 耐药的新思路,IFN- γ 与 TRAIL 联合用药是一种理想的肿瘤生物治疗途径。

【参考文献】

- [1] Turcotte RE, Wunder JS, Isler MH, *et al.* Giant cell tumor of long bone: a canadian sarcoma group study[J]. Clin Orthop Relat Res, 2002, 397: 248-258.
- [2] Cai G, Ramdall R, Garcia R, *et al.* Pulmonary metastasis of giant cell tumor of the bone diagnosed by fine-needle aspiration biopsy [J]. Diagn Cytopathol, 2007, 35(6): 358-362.
- [3] Sakayama K, Sugawara Y, Kidani T, *et al.* Diagnostic and therapeutic problems of giant cell tumor in the proximal femur[J]. Arch Orthop Trauma Surg, 2007, 127(10): 867-872.
- [4] Lau YS, Sabokbar A, Gibbons CL, *et al.* Phenotypic and molecular studies of giant-cell tumors of bone and soft tissue[J]. Hum Pathol, 2005, 36(9): 945-954.
- [5] 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.
- [6] 李爱敏, 李春艳, 于惠芹, 等. 干扰素- γ 加强肿瘤坏死因子相关凋亡诱导配体抑制神经母细胞瘤细胞的作用[J]. 中国实用儿科杂志, 2006, 21(6): 457-460.
- [7] Atkins GJ, Haynes DR, Graves SE, *et al.* Expression of osteoclast differentiation signals by stromal elements of giant cell tumors[J]. J Bone Miner Res, 2000, 15(4): 640-649.
- [8] Nishimura M, Yuasa K, Mori K, *et al.* Cytological properties of stromal cells derived from giant cell tumor of bone (GCTSC) which can induce osteoclast formation of human blood monocytes without cell to cell contact[J]. J Orthop Res, 2005, 23(5): 979-987.
- [9] 黄 鹏, 王 岩, 迟志永, 等. 联合应用重组人骨保护素和阿伦膦酸钠抑制成熟破骨细胞的体外实验研究[J]. 中华外科杂志, 2005, 43(12): 812-816.
- [10] Camidge DR. The potential of death receptor 4- and 5-directed therapies in the treatment of lung cancer[J]. Clin Lung Cancer, 2007, 8(7): 413-419.
- [11] Walczak H, Haas TL. Biochemical analysis of the native TRAIL death-inducing signaling complex[J]. Methods Mol Biol, 2008, 414: 221-239.
- [12] Safa AR, Day TW, Wu CH. Cellular FLICE-like inhibitory protein (C-FLIP): a novel target for cancer therapy[J]. Curr Cancer Drug Targets, 2008, 8(1): 37-46.
- [13] Huang L, Xu J, Li K, *et al.* Thapsigargin potentiates TRAIL-induced apoptosis in giant cell tumor of bone[J]. Bone, 2004, 34(6): 971-981.
- [14] Johnsen JI, Pettersen I, Ponthan F, *et al.* Synergistic induction of apoptosis in neuroblastoma cells using a combination of cytostatic drugs with interferon-gamma and TRAIL[J]. Int J Oncol, 2004, 25(6): 1849-1857.
- [15] Merchant MS, Yang X, Melchionda F, *et al.* Interferon gamma enhances the effectiveness of tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand receptor agonists in a xenograft model of Ewing's sarcoma[J]. Cancer Res, 2004, 64(22): 8349-8356.
- [16] Yamanaka T, Shiraki K, Sugimoto K, *et al.* Chemotherapeutic agents augment TRAIL-induced apoptosis in human hepatocellular carcinoma cell lines[J]. Hepatology, 2000, 32(3): 482-490.
- [17] Miura Y, Tsujioka T, Nishimura Y, *et al.* TRAIL expression up-regulated by interferon-gamma via phosphorylation of STAT1 induces myeloma cell death[J]. Anticancer Res, 2006, 26(6B): 4115-4124.
- [18] Tanaka F, Kawakami A, Tamai M, *et al.* IFN-gamma/JAK/STAT pathway-induced inhibition of DR4 and DR5 expression on endothelial cells is cancelled by cycloheximide-sensitive mechanism: novel finding of cycloheximide-regulating death receptor expression [J]. Int J Mol Med, 2005, 15(5): 833-839.

【收稿日期】 2007-11-08 【修回日期】 2008-02-23

【本文编辑】 郁晓路