

TRAIL 及其受体 DR₅ 在病毒性心肌炎小鼠心肌组织中的表达和意义

宋嘉 王玉林

【摘要】 目的 研究肿瘤坏死因子相关的凋亡诱导配体(TRAIL)及其死亡受体 5(DR₅)在病毒性心肌炎小鼠心肌组织中病变不同时期的表达及与细胞凋亡的关系。方法 建立病毒性心肌炎小鼠模型,于注射病毒后第 7、10、14、21、28 天取心肌组织,HE 染色做心肌病理积分,TUNEL 法检测凋亡细胞百分率,免疫组织化学法和逆转录-聚合酶链反应(RT-PCR)检测心肌组织中 TRAIL 和 DR₅ 蛋白及 mRNA 的表达。结果 病毒感染组小鼠和正常对照组小鼠心肌组织中均存在 TRAIL 和 DR₅ 蛋白和 mRNA 的表达。病毒感染后第 14 天,病毒感染组小鼠心肌组织中 TRAIL 蛋白表达高于同期正常对照组($P < 0.05$)和第 7 天病毒感染组($P < 0.05$),组间比较差异有统计学意义($F = 9.17, P < 0.01$)。病毒感染后第 10、14、21 天,病毒感染组小鼠 DR₅ 蛋白表达高于同期正常对照组($P < 0.01$)和第 7 天病毒感染组($P < 0.01$),组间比较差异有统计学意义($F = 13.32, P < 0.01$)。且 TRAIL 和 DR₅ 蛋白的表达与心肌病理积分、心肌细胞凋亡率密切相关($P < 0.05$)。病毒感染组第 10 天 TRAIL mRNA 表达高于同期正常对照组($P < 0.01$)和第 7 天病毒感染组($P < 0.01$),组间比较差异有统计学意义($F = 10.86, P < 0.01$)。病毒感染组第 10、14 天 DR₅ mRNA 表达高于同期正常对照组($P < 0.01$)和第 7 天病毒感染组($P < 0.01$),组间比较差异有统计学意义($F = 22.75, P < 0.01$)。结论 病毒性心肌炎小鼠发病中期,TRAIL 及其受体 DR₅ 在心肌组织中出现高表达,且与病理积分、心肌细胞凋亡率成正相关,TRAIL 及其受体 DR₅ 可能通过调控心肌细胞凋亡参与病毒性心肌炎的病理过程。

【关键词】 柯萨奇病毒;心肌炎;肿瘤坏死因子相关的凋亡诱导配体;死亡受体 5;细胞凋亡

Expression and significance of TRAIL and its receptor DR₅ in murine myocardium with acute viral myocarditis
 SONG Jia, WANG Yu-lin. Department of Pediatrics, Shandong Provincial Hospital, Shandong University, Ji'nan 250021, China

【Abstract】 Objective To determine the expression of TNF-related apoptosis inducing ligand (TRAIL) and its receptor DR₅ in murine myocardium with acute viral myocarditis (VM). Methods We built the model of VM. Eight mice of the VM group and the normal control group were sacrificed on the 7th, 10th, 14th, 21st, 28th day after inoculation CVB3 virus. The myocardial histopathological scores were counted. The terminal retransferase-mediated dUPT-biotin nick end-labeling (TUNEL) assays was used to quantified apoptosis rate. The expression of TRAIL and DR₅ protein and mRNA were determined by the method of immunohistochemistry and reverse-transcription polymerase chain reaction (RT-PCR). Results

The expression of TRAIL and DR₅ protein and mRNA were found in myocardium of both the normal control group and the VM group. The expression of TRAIL protein of the VM group (14th) were significantly higher than which in the normal group at the same time and the VM group (7th) ($F = 9.17, P < 0.01$). The DR₅ protein of the VM group (10th, 14th, 21st) were significantly higher than which in the normal group at the same time and the VM group (7th) ($F = 13.32, P < 0.01$). The expression of TRAIL and DR₅ protein were positive correlated with the myocardial histopathological scores and the apoptosis rate. The expression of TRAIL mRNA of the VM group (10th) were significantly higher than which in the normal group at the same time and the VM group (7th) ($F = 10.86, P < 0.01$). The DR₅ mRNA of the VM group (10th, 14th) were significantly higher than which in the normal group at the same time and the VM group (7th) ($F = 22.75, P < 0.01$). Conclusion High characteristic expressions of protein/mRNA TRAIL and DR₅ were observed in the myocardium of mice with VM. The level was positive correlated with the account of pathology and the rate of apoptosis. The apoptosis induced by TRAIL and DR₅ may participate in the pathophysiological processes of VM.

【Key words】 Coxsackie virus; Myocarditis; Tumor necrosis factor related apoptosis inducing ligand; Death receptor 5; Apoptosis

病毒性心肌炎 (VM) 的发病机制尚未完全阐明,病毒直接损伤、T 细胞介导的细胞毒作用是 VM 的主要

发病机制。近年研究证实,细胞毒性 T 细胞通过诱导心肌细胞凋亡造成病理损伤。肿瘤坏死因子相关的凋亡诱导配体 (TNF-related apoptosis inducing ligand, TRAIL) 是近年新发现的凋亡分子^[1],为 TNF 超家族成员之一,在许多组织中存在,与死亡受体 (death

DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-4408.2010.04.004

作者单位: 250021 济南, 山东大学附属省立医院新生儿科

通信作者: 王玉林, Email: jiasong777@sina.com

receptor, DR) 结合后, 活化 caspase 级联反应, 诱导细胞凋亡。TRAIL 在病毒感染诱导的细胞凋亡过程中起重要作用。本研究建立 VM 小鼠模型, 检测各时期心肌组织切片中 TRAIL 和 DR₅ 蛋白及 mRNA 的表达, 并与心肌病理积分和心肌细胞的凋亡率进行相关分析, 探讨 TRAIL 诱导的细胞凋亡是否参与 VM 的病理损伤。

1 材料和方法

1.1 实验动物和材料 5 周龄 Balb/c 雄性小鼠 100 只, 体质量 18 ~ 22 g, 购自山东大学医学院实验动物中心; 柯萨奇 B₃ 病毒 Nancy 标准株由山东省医学科学院病毒室提供; 兔抗小鼠 DR₅ 多克隆抗体购自美国 R&D 公司; 兔抗小鼠 TRAIL 多克隆抗体购自武汉博士德公司; TRAIL、DR₅、β-actin 引物由上海生工合成。

1.2 VM 小鼠模型的制备 100 只小鼠随机分为 2 组 (随机数字表法): 正常对照组 40 只, 病毒感染组 60 只。将柯萨奇病毒 B 组 3 型 (CVB3) 在 HeLa 细胞上传代, 冻融 3 次, 用 Eagle's 液稀释病毒滴度为 10⁹ 半数细胞感染率/ml (TCID₅₀/ml)。实验组给予腹腔注射上述 CVB3 病毒液 0.15 ml, 对照组腹腔注射 0.15 ml 不含病毒的 Eagle's 液。

1.3 标本采集 于腹腔注射后第 7、10、14、21、28 天每组分别随机处死 8 只小鼠 (随机数字表法), 无菌取心脏, 沿左心室中线分为 2 份, 1/2 做 HE 染色、免疫组化、TUNEL。另外 1/2 做逆转录-聚合酶链反应 (RT-PCR)。

1.4 检测方法

1.4.1 心肌病理积分 HE 染色, 参照 Rezkalla 等^[2] 方法, 计算心肌病变 (炎细胞浸润和坏死) 积分。每张切片取 5 个视野, 计算每个视野中炎性细胞浸润及坏死区域面积和整个视野的面积之比。无病变, 计 0 分, 轻度: < 1/3, 计 1 分。中度: < 2/3, 计 2 分。重度: 心肌病变广泛而严重, 计 3 分。

1.4.2 免疫组织化学检测 TRAIL、DR₅ 蛋白 切片常规脱蜡水化, 6% 过氧化氢-甲醇溶液室温浸泡 30 min, 热修复后滴加 5% 正常山羊血清封闭液, 滴加一抗 (1:100 PBS 稀释的兔抗小鼠的抗 TRAIL 抗体或兔抗小鼠的抗 DR₅ 抗体), 置湿盒内 4℃ 过夜。加生物素化山羊抗兔 IgG (二抗), 室温 15 min, 滴加试剂 SABC, DAB 试剂盒室温下显色, 平均显色 50s ~ 1 min, 苏木精复染 5 min, 盐酸酒精分化 3 ~ 5 s, 镜下观察。以 PBS 代替一抗做空白对照, 以正常兔血清代替一抗做阴性对照。每张切片随机取 5 个视野, 应用全自动图像分析仪对蛋白表达进行分析, 以平均吸光度值作为蛋白表达的标志。

1.4.3 TUNEL 法检测心肌细胞凋亡 切片常规脱蜡

水化, 3% H₂O₂ 中浸泡 30 min, 加 1:200 稀释的蛋白酶 K, 37℃ 消化 10 min, 滴加 TdT 和 DIG-dUTP, 37℃ 标记 2 h, 滴加封闭液, 室温 30 min, 滴加抗体稀释液稀释的生物素化地高辛抗体, 37℃ 反应 30 min, DAB 显色, 平均约 5 min, 蒸馏水终止显色, 苏木精轻度复染, 镜下观察。每张切片随机选取 5 个视野, 计算阳性细胞百分率。

1.4.4 RT-PCR 检测 TRAIL、DR₅ mRNA 的表达 根据文献^[3,4] 设计 TRAIL、DR₅ 引物序列, 见表 1。

表 1 PCR 引物序列及产物大小

名称	引物序列	合成目的基因片段长度 (bp)
TRAIL 上游	5'-TCA GCA CTT CAG GAT GAT GG-3'	614
TRAIL 下游	5'-CAC CAG CTG TTT GGT TCT CA-3'	
DR ₅ 上游	5'-TGA CGG GGA AGA GGA ACT GA-3'	466
DR ₅ 下游	5'-GGC TTT GAC CAT TTG GAT TTG A-3'	
β-actin 上游	5'-TCA TCA CCA TTG GCA ATG AG-3'	154
β-actin 下游	5'-CAC TGT GTT GGC GTA CAG GT-3'	

PCR 条件: 94℃ 预变性 15 min; 94℃ 变性 1 min; 退火 1 min, TRAIL 60℃, DR₅ 51℃, β-actin 60℃, 30 个循环; 72℃ 延伸 7 min, 4℃ 终止。将电泳凝胶置紫外线下观察照相, 并用计算机凝胶电泳成像系统扫描分析条带, 以目的片段与 β-actin 的相对比值表示 TRAIL 和 DR₅ mRNA 表达量。

1.5 统计学分析 应用 SPSS16.0 统计分析软件, 数据以 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 两组数据分析采用 *t* 检验, 组间数据分析之前先进行方差齐性检验, 方差齐性指标进行单因素方差分析, 及组间两两比较 *q* 检验, 方差不齐的指标进行独立样本秩和检验及两两比较分析。部分指标进行直线相关分析, *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 VM 小鼠模型制备结果 病毒感染组小鼠 60 只, 死亡 14 只, 存活 46 只, 存活率 76.7%。经病理检查, 存活小鼠 44 例心肌切片出现病理改变, 建模成功。

2.2 病理及心肌细胞凋亡检查结果 病毒感染组选取 40 例心肌切片出现病理改变的标本进行心肌病理积分 (每时间点各 8 例)。病毒感染 7 ~ 10 d, 心肌病理积分明显升高, 14 d 时最高, 21 d 开始下降, 组间比较差异有统计学意义 (*F* = 12.48, *P* < 0.01)。TUNEL 检测 40 例, 37 例 (92.5%) 可见阳性细胞。3 例未见阳性细胞者为感染 28 d 标本, 病理改变相对较轻, 病情明显恢复。病毒感染后第 10 天细胞凋亡明显增加, 第 14 天达高峰, 第 21 天开始下降, 第 28 天仍有部分凋亡细胞存在, 组间比较差异有统计学意义 (*F* = 27.19, *P* < 0.01)。正常对照组选取 10 例, 未见明显病理改变。

表 2 病毒感染组小鼠心肌病理及 TUNEL 检查结果 (n=8)

指标	第 7 天	第 10 天	第 14 天	第 21 天	第 28 天
心肌病理积分(分)	1.16 ± 0.18	1.54 ± 0.22	2.23 ± 0.21**	1.87 ± 0.38	1.59 ± 0.43
心肌细胞凋亡百分率(%)	18.24 ± 5.12	24.78 ± 6.02	33.92 ± 7.12**	16.04 ± 5.96	13.96 ± 4.22

注:与第 7 天比较,** P<0.01

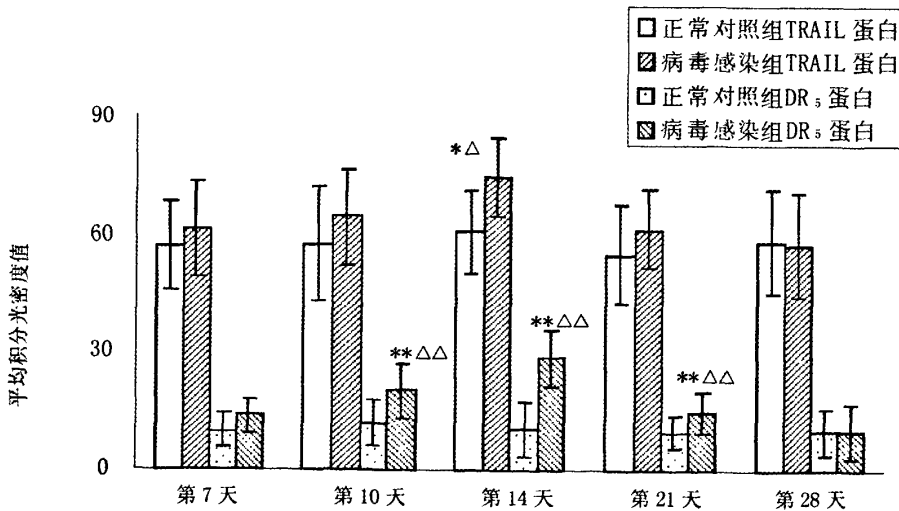
TUNEL 检测未见阳性细胞。结果见表 2。

2.3 免疫组化结果 见图 1。

2.3.1 TRAIL 免疫染色阳性物质广泛表达于心肌细胞、浸润淋巴细胞的细胞膜和细胞质,细胞核无表达,表现为细胞膜、细胞质被染成黄色或棕黄色。在正常对照组弱阳性表达较多见;在病毒感染组早、中期可见阳性表达量增加,同时部分浸润细胞、血管内皮细胞、炎症灶周围的心肌细胞出现散在强阳性表达,可见粗大的棕黄色颗粒。后期可见散在分布的心肌细胞阳性表达。病毒感染组第 7 天 TRAIL 蛋白表达开始升高,第 14 天达高峰,第 21 天开始下降。组间比较差异有统计学意义 (F=9.17, P<0.01)。病毒感染组第 14 天 TRAIL 蛋白表达高于同期正常对照组 (P<0.05) 和病毒感染组第 7 天 (P<0.05)。病毒感染后不同时期 TRAIL 蛋白的表达与病理积分成正相关关系 (y=0.1187x-6.3709, r=0.717, t=2.91, P<0.05); 与凋

亡细胞百分率成正相关关系 (y=1.9162x-105.79, r=0.856, t=43.69, P<0.05)。

2.3.2 DR₅ DR₅ 免疫染色阳性产物主要位于细胞膜和细胞质,为黄色颗粒状。在正常对照组为散在分布的弱阳性表达,主要位于心肌细胞。在病毒感染组主要表达于炎症灶周围的心肌细胞、血管内皮细胞,可见强阳性表达。浸润淋巴细胞免疫染色较弱或呈阴性。正常对照组小鼠心肌组织有少量表达,病毒感染组第 7 天 DR₅ 蛋白表达开始升高,第 14 天达高峰,第 21 天开始下降。组间比较差异有统计学意义 (F=13.32, P<0.01)。病毒感染组第 10、14、21 天高于同期正常对照组 (P<0.01) 和病毒感染组第 7 天 (P<0.01)。病毒感染后不同时期 DR₅ 蛋白的表达与病理积分、凋亡细胞百分率成正相关关系,相关方程及相关系数分别为 y=0.1119x-0.7458, r=0.75, t=3.18, P<0.05; y=1.8004x-14.536, r=0.88, t=5.41, P<0.05。



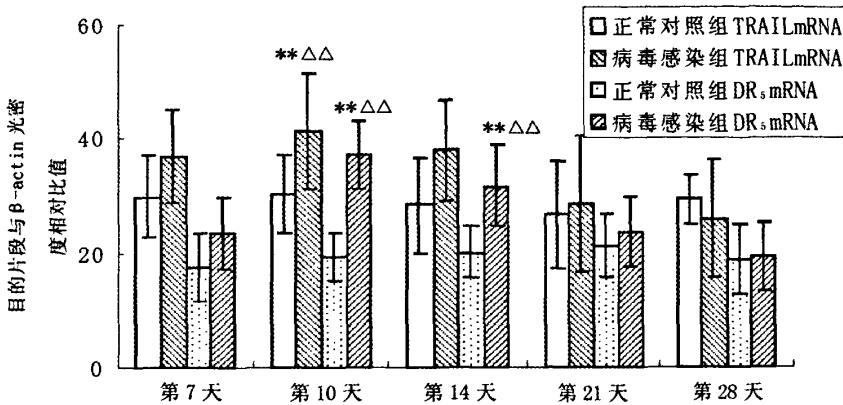
注:与同期正常对照组比较,* P<0.05, ** P<0.01;与第 7 天病毒感染组比较,ΔP<0.05, ΔΔP<0.01

图 1 TRAIL 及 DR₅ 蛋白表达平均积分光密度值 (n=8)

2.4 RT-PCR 结果 见图 2。

正常对照组 40 例,实验组 40 例,均有目的产物表达。产物大小分别为 600bp (TRAIL)、450bp (DR₅)、150bp (β-actin) 左右,基本符合目的产物大小。病毒感染后第 7 天,TRAIL mRNA 表达开始升高,第 10 天达高峰,第 21 天开始下降,与正常对照组相比,差异有统计学意义 (F=10.86, P<0.01)。病毒感染组第 10 天

TRAIL mRNA 表达高于同期正常对照组 (P<0.01) 和第 7 天病毒感染组 (P<0.01)。病毒感染组 DR₅ mRNA 表达升高,与对照组相比差异有统计学意义 (F=22.75, P<0.01)。病毒感染组第 10、14 天 DR₅ mRNA 表达高于同期正常对照组 (P<0.01) 和第 7 天病毒感染组 (P<0.01)。



注:与同期正常对照组比较, * P<0.05, ** P<0.01;与第7天病毒感染组比较, Δ P<0.05, ΔΔ P<0.01

图2 TRAIL及DR₅ mRNA表达 (n=8)

3 讨论

VM的发病机制未完全阐明,近年通过动物实验和临床研究发现,细胞凋亡参与VM的发病机制,如急性重症VM的心肌细胞凋亡率与致死性心力衰竭密切相关^[5],且细胞凋亡也是VM转化为扩张型心肌病的重要机制。细胞凋亡是由遗传基因控制的细胞自主性死亡过程,受多种因素的调控,其中病毒是较重要的因素。病毒感染后,一方面机体使病毒感染的细胞凋亡以消除外物,发挥防御作用;另一方面病毒调控宿主细胞凋亡,维持自身的存活和繁殖,引起宿主病理损伤^[6]。目前对VM发病机制中细胞凋亡方面研究较多的是Fas/FasL系统和TNF系列因子,TRAIL及其受体DR₅在VM的作用国内外未见研究。本研究通过检测心肌组织切片中TRAIL和DR₅蛋白及mRNA的表达,并与心肌病理积分和心肌细胞的凋亡率进行相关分析,探讨TRAIL诱导的细胞凋亡是否参与VM的病理损伤。

TRAIL是1995年由Wiley等^[1]发现的TNF超家族成员,广泛表达于多种组织,如:脾、胸腺、外周血淋巴细胞、小肠、结肠、心脏、骨骼肌、肾脏、胎盘等。TRAIL最主要的生物学特性为选择性细胞毒作用,即仅能诱导肿瘤细胞、转化细胞或病毒感染细胞凋亡,而不能诱导正常细胞凋亡。TRAIL组织学分布的广泛性和其选择性细胞毒作用,提示其诱导的细胞凋亡是通过严格的受体表达来调控的^[7]。目前已发现5种TRAIL受体^[8]:DR₁、DR₂、DcR₁、DcR₂和OPG。根据功能不同,TRAIL受体分为两类:一类是DR,包括DR₁和DR₂,均含有死亡结构域并能向细胞内传递死亡信号,当TRAIL与DR结合时可以直接激活半胱氨酸-天冬氨酸酶而诱导靶细胞凋亡。DR₅过度表达时可以不依赖

TRAIL直接诱导细胞凋亡^[9-10]。另一类是诱骗受体,包括DcR₁、DcR₂和OPG,由于死亡结构域缺失,与TRAIL结合后不能传递凋亡信号,竞争性阻止TRAIL与DR₄或DR₅的结合,从而发挥抑制凋亡的作用。

本研究结果显示,在正常对照组和病毒感染组小鼠心肌组织中均有TRAIL及其受体DR₅蛋白和mRNA的表达,在VM病程中期,病毒感染组TRAIL及DR₅蛋白和mRNA的表达明显升高,并与心肌病理积分和细胞凋亡百分率成正相关关系,提示TRAIL及其受体DR₅可能通过调控细胞凋亡参与VM的病理过程。

目前很多研究证实,TRAIL在病毒诱导的细胞凋亡过程中起到重要作用,Griffith等^[11]用抗TRAIL抗体和可溶性的TRAIL受体可以阻断呼吸肌病毒引起的细胞凋亡。Walczak等^[12]用TRAIL或TRAIL受体的抗体作用于正常人和HIV患者的外周血淋巴细胞和巨噬细胞,发现TRAIL可以诱导HIV潜伏感染的细胞发生凋亡。腺病毒通过下调TRAIL受体的表达阻止细胞发生凋亡^[13]。本研究结果显示,CVB₃病毒可能通过上调TRAIL及DR₅的表达诱导心肌细胞凋亡。在VM病程中期,TRAIL蛋白较正常对照组升高0.29倍,而DR₅蛋白较正常对照组升高1.75倍,由此可见,TRAIL主要通过大量表达死亡受体而诱导细胞凋亡。洪燕等^[14]检测心力衰竭患者血浆中可溶性TRAIL和DR₅水平的变化,发现患者血浆可溶性DR₅较健康人显著升高,且随心功能损害程度加重而增高,提示TRAIL及其受体诱导心肌细胞的凋亡主要是在受体的表达水平进行调控,与本研究结果一致。

本研究结果还显示,病毒感染后,心肌细胞和浸润淋巴细胞均有TRAIL表达增加,同时(下转第441页)

~3 次,可使睾丸进一步增大和引发精子生成^[9]。

5.2.2 GnRH 脉冲治疗 下丘脑 GnRH 分泌不足者,使用便携式的程序可调式输液泵,每 90 min 以脉冲形式进行皮下或静脉注射 GnRH(2 ~ 20 μg),虽可诱导 GnRH 不足性性腺功能减低症男性患者生成精子^[10],但疗效不优于联合疗法,且比较昂贵。间隔时间一般设定为 90 ~ 120 min,每次皮下注射的剂量为 GnRH(10 肽)5 ~ 25 μg 或 25 ng/kg。

男性患者连续应用,一般 3 个月后会出青春期的变化,血清 LH、FSH 和睾酮水平升高至正常成年男子范围,精液中出现成熟的精子。连续治疗约 1 年具有使妻子受孕的能力。少数患者可能是因为皮下吸收不良,治疗反应差,需要较大剂量。

参 考 文 献

[1] Srinivas-Shankar U, Sharma D. Testosterone treatment in elderly men. *Adv Ther*, 2009, 26(1): 25-39.
 [2] Tsutsumi R, Webster NJ. GnRH pulsatility, the pituitary response and reproductive

dysfunction. *Endocr J*, 2009, 56(6): 729-737.

[3] Degros V, Cortet-Rudelli C, Soudan B, et al. The human chorionic gonadotropin test is more powerful than the gonadotropin-releasing hormone agonist test to discriminate male isolated hypogonadotropic hypogonadism from constitutional delayed puberty. *Eur J Endocrinol*, 2003, 149(1): 23-29.
 [4] Grumbach MM. A window of opportunity: the diagnosis of gonadotropin deficiency in the male infant. *J Clin Endocrinol Metab*, 2005, 90(5): 3122-3127.
 [5] Efeosy O, Cayan S, Akbay E. The efficacy of recombinant human follicle-stimulating hormone in the treatment of various types of male-factor infertility at a single university hospital. *J Androl*, 2009, 30(6): 679-684.
 [6] Yazici M, Sahin M, Bolu E, et al. Prediction of testosterone response to human chorionic gonadotrophin in idiopathic hypogonadotropic hypogonadism patients. *J Natl Med Assoc*, 2009, 101(1): 71-76.
 [7] Foresta C, Selice R, Ferlin A, et al. Recombinant FSH in the treatment of oligozoospermia. *Expert Opin Biol Ther*, 2009, 9(5): 659-666.
 [8] Viswanathan V, Eugster EA. Etiology and treatment of hypogonadism in adolescents. *Endocrinol Metab Clin North Am*, 2009, 38(4): 719-738.
 [9] Foresta C, Selice R, Garolla A, et al. Follicle-stimulating hormone treatment of male infertility. *Curr Opin Urol*, 2008, 18(6): 602-607.
 [10] 狄福松, 崔毓桂, 贾悦. 促性腺激素治疗男性低促性腺激素性腺功能减退症的疗效评估. *中华内科杂志*, 2005, 44(11): 836-839.
 (收稿日期: 2010-06-17)
 (本文编辑: 林强)

(上接第 348 页)心肌细胞高表达 DR₅, 从而调控心肌细胞发生凋亡; 而浸润淋巴细胞 DR₅ 低表达或不表达, 可能保护淋巴细胞避免凋亡, 从而逃避外周克隆剔除和活化淋巴细胞的清除。这也可能是造成淋巴细胞浸润, 并产生抗心肌抗体的原因之一。

由于 TRAIL 只诱导病毒感染细胞发生凋亡, 而不能诱导正常细胞发生凋亡, 且通过受体高表达对细胞凋亡进行调控, 因此进一步研究 TRAIL 在 VM 中的具体作用和调控机制, 适当干预心肌细胞凋亡, 减轻病理损伤, 可能为 VM 免疫调节治疗提供新的方向。

参 考 文 献

[1] Wiley SR, Schikey K, Smolak PJ, et al. Identification and characterization of a new member of the TNF family that induces apoptosis. *Immunity*, 1995, 3: 67.
 [2] Rezkalla S, Kloner RA, Khatib G, et al. Beneficial effects of captopril in acute coxsackievirus B3 murine myocarditis. *Circulation*, 1990, 81(3): 1039-1040.
 [3] Higuchi H, Bronk SF, Taniai M, et al. Cholestasis increases tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL)-R2/DR5 expression and sensitizes the liver to TRAIL-Mediated cytotoxicity. *J Pharmacol Exp Ther*, 2002, 303(2): 461-467.
 [4] Hayashibara T, Yamada Y, Miyaniishi T, et al. Vascular endothelial growth

factor and cellular chemotaxis: a possible autocrine pathway in adult T-cell leukemia cell invasion. *Clin Cancer Res*, 2001, 7(9): 2719-2726.

[5] Sarasate A, Arola A, Vuorinen T, et al. Cardiomyocyte apoptosis in experimental coxsackievirus B3 myocarditis. *Cardiovasc Pathol*, 2003, 12(5): 255-262.
 [6] Esolen LM, Park SW, Hardwick JM, et al. Apoptosis as a cause of death in measles virus-infected cell. *J Virol*, 1995, 69(6): 3955-3958.
 [7] Masters SA, Pitti RA, Sheridan JP, et al. Control of apoptosis signaling by Apo2 ligand. *Recent Prog Horm Res*, 1999, 54: 225-234.
 [8] Emery JG, McDonnell P, Burke MB, et al. Osteoprotegerin is a receptor for the cytotoxic ligand TRAIL. *J Bio Chem*, 1998, 273(23): 14363-14367.
 [9] Pan G, O'Rourke K, Chinnaiyan AM, et al. The receptor for the cytotoxic ligand TRAIL. *Science*, 1997, 276(5309): 111-113.
 [10] Pan G, Ni J, Wei YF, et al. An antagonist decoy receptor and a death domain-containing receptor for TRAIL. *Science*, 1997, 277(5327): 815-818.
 [11] Griffith TS, Chin WA, Jackson GC, et al. Intracellular regulation of TRAIL induced apoptosis in human melanoma cells. *J Immunol*, 1998, 161(6): 2833-2840.
 [12] Walczak H, Miller RE, Ariail K, et al. Tumoricidal activity of tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand in vivo. *Nat Med*, 1999, 5(2): 157-163.
 [13] Jo M, Kim TH, Seol DW, et al. Apoptosis induced in normal human hepatocytes by tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing-ligand. *Nat Med*, 2000, 6(5): 564-567.
 [14] 洪燕, 谢艳芳, 谢文, 等. 心力衰竭患者血浆 sICF-1, sTRAIL, sDR5 水平的变化及其相关性. *武警医学*, 2008, 19(10): 877-879.
 (收稿日期: 2009-11-13)
 (本文编辑: 林强)