

비소세포폐암에서 DR5 TRAIL 수용체와 p53에 관한 면역조직화학적 분석

건국대학교 의과대학 내과학교실

이계영, 이정현, 김순종, 유광하

Immunohistochemical Analysis for the Expression of DR5 TRAIL Receptor and p53 in Non-small Cell Lung Cancer

Kye-Young Lee, M.D., Jung-Hyun Lee, M.D., Sun-Jong Kim, M.D., Kwang-Ha Yoo, M.D.

Department of Internal Medicine, Konkuk University School of Medicine, Seoul, Korea

Background: TRAIL is a promising anticancer agent which induces selective tumor cell death due to a unique receptor system that includes death receptors and decoy receptors. DR5 TRAIL receptor is an originally identified p53-regulated death receptor gene that was induced, by doxorubicine, only in cells with a wild-type p53 status. We investigated that focused on the correlation between the DR5 and p53 expressions in non-small cell lung cancer (NSCLC).

Methods: Immunohistochemical analysis, with using avidin-biotinylated horseradish peroxidase complex, was carried out in 89 surgically resected NSCLC formalin-fixed paraffin-embedded tissue sections. As primary antibodies, we used anti-DR5 polyclonal antibody and anti-p53 monoclonal antibody. A negative control was processed with each slide. The positive tumor cells were quantified twice and these values were expressed as percentage of the total number of tumor cells, and the intensity of immunostaining was expressed. The analysis of the DR5 expression was done separately in tumor area and in a nearby region of normal tissue.

Results: The DR5 expression was high in the bronchial epithelium (89% of cases) but this was almost absent in type I & II pneumocytes, lymphocytes and smooth muscle cells. High DR5 expression rate in tumor was seen in 28% (15/53) of squamous cell carcinomas, in 47% (15/32) of adenocarcinomas and, in 50% (2/4) of large cell carcinomas. The DR5 expression did not show any statistical significance relationship with the T stage, N stage, or survival. However, the DR5 expression showed significant inverse correlation with the p53 expression. ($p < 0.01$).

Conclusion: We demonstrated that the DR5 expression in NSCLC via immunohistochemical analysis is relatively tumor-specific except for that in the normal bronchial epithelium and it is significantly dependent on the p53 status. This might be *in vivo* evidence for the significance of the DR5 gene as a p53 downstream gene. (*Tuberc Respir Dis* 2008;64:278-284)

Key Words: TRAIL, DR5, p53, NSCLC

서론

TRAIL (TNF-related apoptosis-inducing ligand)은 TNF-

α 및 Fas 같이 암세포의 세포사를 유도하는 TNF 가족군의 일원이다. TNF- α 가 NF- κ B 활성화를 통한 급성 폐손상 및 패혈증을 유발시키고, Fas는 동물실험에서 전격성 간염을 유발하는 등의 치명적인 독성으로 인하여 임상적 유용성이 배제된 반면, TRAIL은 정상세포는 보존하고 종양세포에서만 선택적으로 세포사를 유도하는 특징 때문에 새로운 항암치료제로 주목 받고 있다¹⁻⁴. 그 이유는 TRAIL 수용체의 독특한 특징에 기인하는데, TRAIL 수용체는 DR4와 DR5와 같은 death 수용체와 DcR1과 DcR2와 같은 decoy 수용체가 각각 종양과 정상 조직에 선택적으로 발현하기 때문인 것으로 알려져 있다¹. 이 중에서 DR5

이 논문은 2006년도 건국대학교 학술진흥연구비 지원에 의한 논문임.

Address for correspondence: Kye-Young Lee, M.D., Ph.D.
Department of Internal Medicine, Konkuk University School of Medicine, 4-12, Hwangang-dong, Gwangjin-gu, Seoul 143-729, Korea
Phone: 82-2-2030-7521, Fax: 82-2-2030-7748
E-mail: kyleemd@kuh.ac.kr

Received: Feb. 11, 2008

Accepted: Apr. 10, 2008

는 wild-type p53 세포에서 DNA 손상억제인 doxorubicine에 의해서 유도 발현되는 *KILLER* 유전자와 동일한 유전자로 밝혀져 있어 p53-유도성 세포사에 있어서 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다⁵. 폐암 세포주에서 p53을 과발현 시키면 TRAIL의 효과가 항진된다는 사실도 밝혀져 있다^{6,7}.

이러한 배경에서 저자는 *in vitro*가 아닌 절제된 폐암 조직에서 정상 부위와 폐암 부위에서의 TRAIL 수용체 DR5의 발현을 면역조직화학적 방법으로 분석함으로써 실제로 DR5가 종양선택적인 발현을 하는가라는 의문을 확인하고 그렇다면 폐암에서의 발현 빈도는 어떠한지를 파악하며, 실험적으로 확인된 DR5와 p53의 관계가 실제 폐암 조직에서도 존재하는지를 확인하기 위하여 본 연구를 시행하였다.

대상 및 방법

1. 대상

수술적 절제를 시행한 89명의 비소세포폐암 환자를 대상으로 하였다. 평균 연령은 61.3±6.3세였고, 남녀비는 85.4 : 14.6, 조직학적 분류는 편평상피암 59.6%, 선암 36.0%, 대세포암 4.5%였으며, 병기별로는 IA 19.1%, IB 23.6%, IIA 6.7%, IIB 13.5%, IIIA 31.5%, IIIB 5.6%였다 (Table 1).

2. 조직 처리 및 면역조직화학 염색

1) 조직 처리: 각 예의 파라핀 블록을 4 마이크로미터

Table 1. Patients' clinical characteristics

Age (years)	61.2±6.3
Sex	
Male	76 (85.4%)
Female	13 (14.6%)
Histology	
Squamous cell carcinoma	53 (59.6%)
Adenocarcinoma	32 (36.0%)
Large cell carcinoma	4 (4.4%)
Stage	
IA	17 (19.1%)
IB	21 (23.6%)
IIA	6 (6.7%)
IIB	12 (13.5%)
IIIA	28 (31.5%)
IIIB	5 (5.6%)

두께로 절편을 만들고, 이 조직을 슬라이드 위에 올려놓고 하루 밤 동안 공기건조 시켰다. 이후 60°C 이하의 건조기에서 60분간 건조시킨 후 Xylene에 5분간 3회씩 잠기게 하여 파라핀을 제거하였다. 다음에 알코올에 100%, 90%, 80%, 70%의 순서로 각 2회씩 2분간 처치하여 합수화 시켰다. Endogenous peroxidase의 작용을 방해하기 위하여 3% H₂O₂ 용액으로 15분간 처리하고 PBS (phosphate buffered saline, pH 7.4)로 5분씩 2회 세척하였다. 비특이적 항체결합을 억제하기 위해 bovine blocking serum으로 30분간 처리하였다.

2) 면역조직화학 염색: 면역조직화학 염색은 avidin-biotinylated horseradish peroxidase complex (Dako LSAB kit, Los Angeles, CA, USA)를 이용한 immuno-peroxidase 방법으로 시행하였다. 신선 동결된 정상 폐조직과 폐암조직을 먼저 이용하여 일차항체의 특이도와 적정농도를 결정하였다. 1차 항체로 anti-DR5 polyclonal antibody (Pro Sci Inc., Poway, CA, USA)를 이용하였고 1 : 20으로 희석한 용액을 1시간 동안 반응시켰다. 이후 PBS로 5분간 세척하고 이차항체를 30분간 반응시킨 뒤 다시 PBS로 5분간 세척하였다. Streptavidin-biotin complex peroxidase와 30분간 반응시킨 후 PBS로 5분간 세척하고 diaminobenzidine과 5분간 반응시킨 뒤 PBS로 5분간 세척하였다. p53과의 관련성을 분석하기 위해 시행한 anti-p53 monoclonal antibody (DO-7, Novocastra, Inc, Manhasset, NY, USA)를 이용한 면역조직화학 염색도 동일한 방법으로 시행하였다.

3. 면역조직화학 염색의 판정

면역조직화학 염색의 DR5 발현 정도는 면역염색의 범위와 강도를 합산하여 다음과 같이 판정하였다; 0, non-staining; 1+, weak and diffuse (>50%) or focal (<50%) or moderate and focal; 2+, strong and focal or moderate and diffuse; 3+, strong and diffuse. 2+ 이상을 고발현(high expression)으로 분류하였다.

p53 발현 정도에 따른 p53 wild type과 mutant type의 구분은 3+의 강양성인 경우를 mutant type으로 판정하였고, 나머지 0, 1+, 2+ 발현은 wild type p53으로 판정하였다.

4. 결과분석 및 통계처리

DR5 발현 여부에 따른 연령, 성별, 조직학적 분류, 병기, 재발률 등의 임상적 지표들과 p53 발현과의 상관관계

분석은 SPSS version 10.0을 이용하여 Spearman 상관계수를 구하여 p값이 0.05 미만인 경우를 통계적으로 유의한 것으로 간주하였다.

결 과

1. 폐암 조직과 주변 정상조직에서의 DR5 발현

주변 정상 조직에서의 DR5 발현을 기관지상피세포, 폐포세포(type I and II pneumocyte), 폐포대식세포, 림프구, 그리고 평활근 세포 등에서 관찰하였다. 폐포세포, 림

Table 2. DR5 expression in non-small cell lung cancer and regional normal tissues

	n	0	1+	2+	3+	High expression
Regional normal tissue						
Bronchial epithelium	84	0	9	18	57	75 (89%)
Type I & II pneumocytes	81	54	21	6	0	6 (7%)
Alveolar macrophage	81	21	39	18	6	24 (30%)
Lymphocytes	89	82	4	3	0	3 (3%)
Smooth muscle cells	89	86	3	0	0	0 (0%)
NSCLC						
Squamous cell carcinoma	53	21	17	12	3	15 (28%)
Adenocarcinoma	32	5	12	10	5	15 (47%)
Large cell carcinoma	4	2	0	2	0	2 (50%)
Overall	89	28	29	24	8	32 (36%)

NSCLC: non-small cell lung cancer.

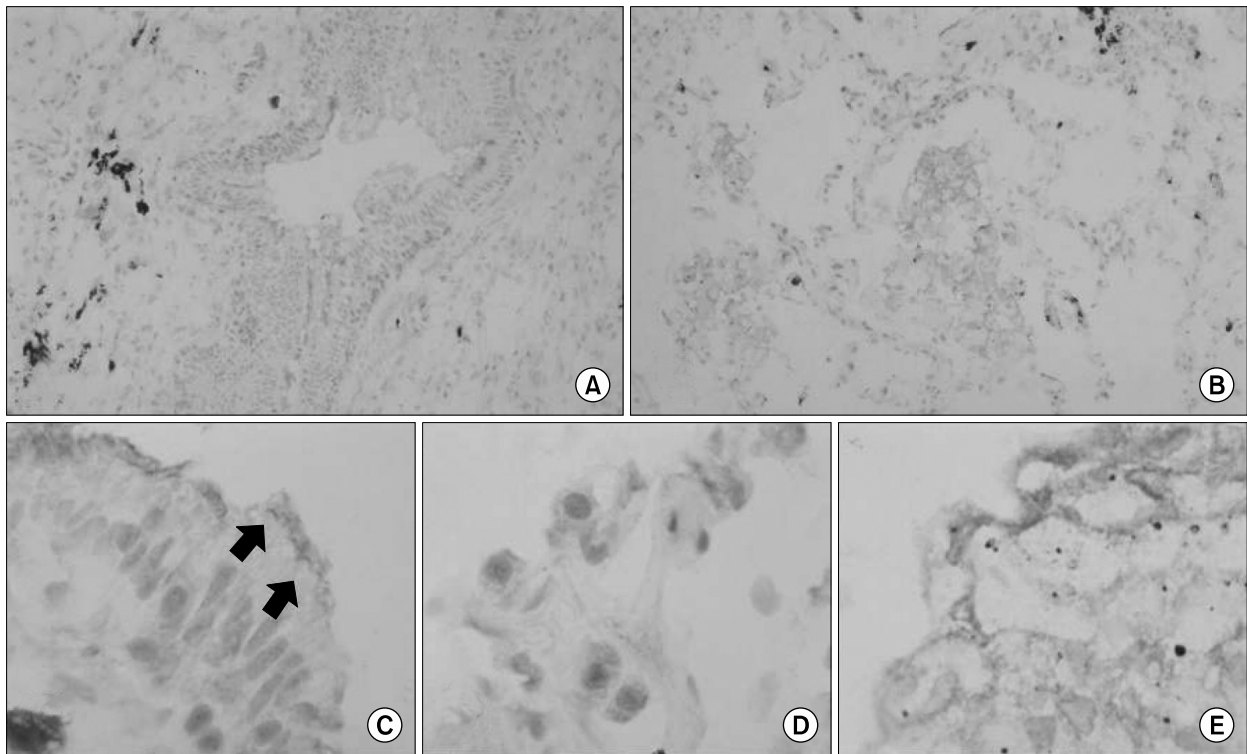


Figure 1. DR5 expression in regional normal tissues. (A) Bronchial epithelium ($\times 100$), (B) Alveolar macrophages ($\times 100$), (C) Cilia ($\times 400$), (D) Pneumocytes ($\times 400$), (E) Cytoplasmic expression in macrophages ($\times 400$).

프구, 그리고 평활근 세포 등에서는 예상과 같이 DR5 발현이 없거나 매우 낮았다(Table 2). 대식세포에서의 30% 발현율은 막성 발현(membranous expression)이 아니라 세포질 발현(cytoplasmic expression)으로서 비특이적 발현일 것으로 생각된다(Figure 1B, E). 예상과 달리 기관지 상피세포에서 75%의 높은 발현율이 나타남과 동시에, 특히 섬모(cilia)에서 특징적인 발현이 관찰되었는데 현재로서 이에 대한 임상적 의미를 결론 내기에는 어렵다고 생각된다.

반면 폐암조직에서의 +2 이상의 DR5 고발현율(high expression rate)은 전반적으로 36%에 머물러 예상보다는 낮은 발현율이 관찰되었다. +1까지의 발현을 포함한다면 68.5%로 비교적 높은 발현율이 관찰된다. 조직학적으로는 대세포암과 선암이 각각 50%와 47%로 상대적으로 높게 나왔고 편평상피암이 28%로서 낮게 나왔다(Table 2).

2. DR5와 p53 발현 간의 상관관계

비소세포폐암에서 DR5 발현과 각 임상지표 연령, 성별, 조직학적 분류, T-병기, N-병기, 병리학적 병기, 그리고 생존기간 등과의 상관관계를 분석하였으나 유의한 상관관계를 나타낸 지표는 없었다. 하지만 흥미롭게도 p53 발현과는 유의한 역 상관관계를 나타내고 있어서($p < 0.01$) DR5는 p53이 wild-type인 경우에 발현됨을 확인할 수 있었다(Table 3). 본 연구에서 사용된 p53 항체는 돌연변이 p53을 표적으로 하고 있기 때문에 wild-type에서는 발현이 안되고 돌연변이 p53단백질이 있는 경우 염색되어 발현된다. Figure 2에서 p53 음성발현 종양조직에서 DR5 양성 발현을 잘 보여주고 있다. DR5의 발현은 일부 정상 세포에서와 마찬가지로 세포표면의 막성 발현이 아니라 세포질 발현이 대부분이었다.

고 찰

폐암에서의 현재 저조한 치료 성적을 볼 때 TNF- α , FasL, TRAIL 등과 같은 TNF 수용체군의 유전자 재조합 수용성 death ligand는 암세포의 아포프토시스 기작을 직접적으로 활성화시키기 때문에 많은 관심을 끌고 있다^{8,9}. 즉 폐암에서의 높은 p53 돌연변이율과 bcl-2 과발현율을 볼 때 미토콘드리아 경로를 bypass할 수 있는 death ligand는 매우 매력적인 치료 표적이 될 수 있다. 하지만 TNF- α 는 NF- κ B 활성화를 통한 급성 폐손상 및 패혈증을 유발시키고, Fas는 동물실험에서 전격성 간염을 유발하는 등의 치명적인 독성이 있기 때문에 임상적 유용성이

Table 3. The correlation between DR5 expression and clinical parameters

	r	p
Age	0.0214	0.9087
Sex	-0.2818	0.1313
Pathologic types	0.4504	0.0742
T stage	0.0858	0.6464
N stage	0.0846	0.6510
Pathologic staging	-0.0009	0.9964
Survival	0.0303	0.8714
p53 expression	-0.5692	0.0097*

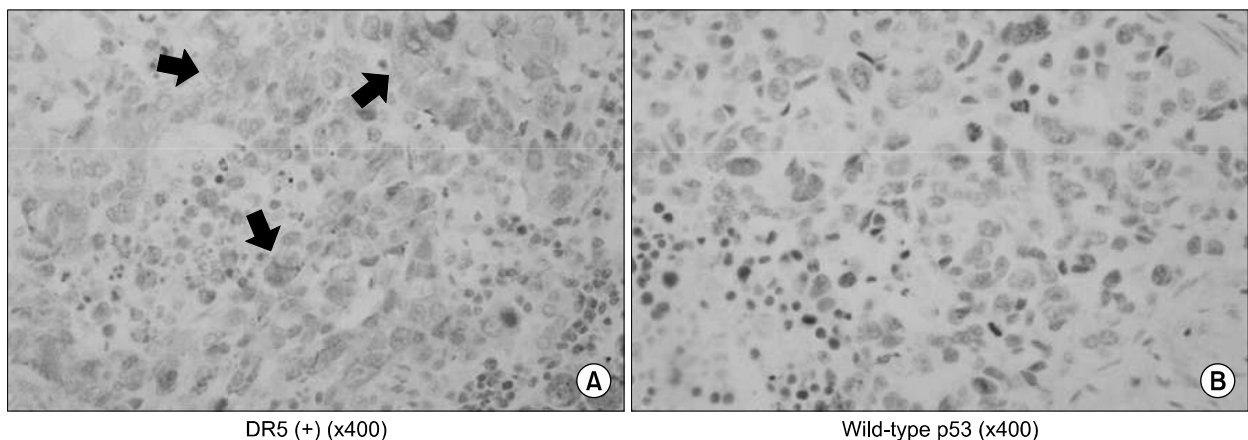


Figure 2. Inverse correlation between p53 and DR5 expression, (A) DR5 (+) ($\times 400$), (B) wild-type p53 ($\times 400$).

거의 없는 반면 서론에서 언급한 바와 같이 독특한 decoy 수용체 시스템 덕분에 TRAIL이 주목 받고 있고 실제로 rhTRAIL과 DR4와 DR5에 대한 인간화 단일클론 항체가 개발되어 현재 임상 시험 중에 있다^{9,10}.

하지만 TRAIL 수용체가 정상세포는 보호하고 종양 선택적 살상을 유도한다는 이론적, 실험적 근거에도 불구하고 임상적으로 이를 뒷받침할 만한 증거는 아직 불확실하다. 따라서 본 연구에서 폐암 조직과 주변의 정상 조직에서 TRAIL 수용체 중 DR5의 발현을 비교연구한 것은 그 의미가 크다고 할 수 있다. 아직 정상 폐조직에서 TRAIL 수용체 발현을 조사한 연구결과는 보고되지 않고 있다. 본 연구결과에서 대부분의 정상 폐세포에서 DR5는 발현 빈도가 매우 낮았다. 일부 대식세포에서의 발현 증가가 보이는 하지만 막성 분포를 보이지 않고 세포질에서 주로 관찰된다는 점과 대식세포의 생물학적 특성으로 볼 때 이는 비특이적 발현에 의한 것일 가능성이 높다고 추정된다. 반면 정상 기관지 상피세포에서의 75%의 고발현율은 예상 밖의 사실로서 과연 그 의미를 어떻게 두어야 할 지 결론 내리기에는 어려운 문제라고 생각된다. 아직 TRAIL과 그 수용체 시스템이 정상적으로 갖는 생리학적 기능이 확실하지 않은 점으로 볼 때 이에 대한 평가는 추후로 미루어져야 할 것으로 판단된다¹¹.

폐암에서의 DR5 발현에 관한 연구 보고는 아직 많지 않은 실정이다. 초기 연구에서 국내 가톨릭의대 병리학교실에서 104명의 비소세포폐암 환자의 조직에서 DR5의 돌연변이를 조사한 결과 10.6%의 빈도에서 DR5 돌연변이가 존재한다고 보고함으로써 비소세포폐암 병태생리에 DR5가 일부 관여한다고 주장한 바 있다¹². 그러나 이러한 비소세포폐암에서의 DR5 유전자의 돌연변이 연구는 미국인을 대상으로 한 추후 연구에서는 거의 발견되고 있지 않아서¹³, 결론 내리기에는 어려운 점이 있다고 생각되며 이후 추후 연구 결과는 보고되지 않는다. 비소세포폐암에서의 DR5 발현에 관한 연구 결과는 두 개가 보고되어 있는데, Wu 등은 23%에서 DR5가 과발현되어 있다고 보고하여, 본 연구 결과 36%의 고발현율과 유사한 결과를 보이고 있다. 반면 Spierings 등은 비소세포폐암에서 면역조직화학적 염색으로 DR4 99%, DR5 82%, TRAIL 91%의 매우 높은 발현율을 보인다고 보고한 바 있다¹⁴. 이는 DR5 발현을 양성과 음성 두 가지로 구분하여 보고하였기 때문인 것으로 생각되며, 본 연구에서도 +1 이상의 양성 발현율로 결과를 낸다면 68.5%로 상대적으로 약간 낮기는 하지만 비교적 높은 발현율을 보이고 있다. 이에 대해서는 좀

더 많은 추후 연구가 필요할 것으로 생각되며 면역조직화학적 분석이 갖는 방법론적 한계를 고려할 때 DR5 발현에 대한 다른 방법을 이용한 연구도 필요할 것으로 생각된다.

폐암에서의 DR5 발현은 향후 도입될 rhTRAIL의 치료 반응률을 결정하는 중요한 요소가 될 것이다. 특히 세포 표면에 DR5가 충분히 존재하는가 하는 점이 rhTRAIL에 대한 감수성을 결정할 가능성이 높다. 실제로 Ewing씨 육종세포종에서 세포표면의 DR4와 DR5 발현 정도가 충분하면 rhTRAIL에 민감한 반면 DR4와 DR5가 결핍되어 있으면 rhTRAIL에 내성을 보인다고 보고되고 있다^{15,16}. 세포 표면에 DR5 발현 수준을 회복시키면 rhTRAIL에 대한 감수성 역시 향상된다고 알려져 있다. 이러한 점에서 본 연구결과에서 폐암 조직에서 DR5의 발현이 세포막에서 발현되지 않고 세포질에 주로 발현된다는 점은 관심을 가질 만하지만 이는 면역조직화학적 방법이 세포 표면의 발현을 확인하기에는 적절한 방법이 아니라는 점에서 결론 내리기에는 어렵다고 생각된다. 실제로 Wu 등의 연구결과에서도 DR5가 주로 세포질에 발현되어 있다고 보고하고 있다¹⁴. 게다가 최근 Zhang 등은 DR4와 DR5가 세포표면에도 존재하지만 주로 trans-Golgi network에 존재한다고 보고한 바 있다¹⁷.

DR5는 처음에는 wild-type p53 세포에서 DNA 손상 항암제인 doxorubicine에 의해 유도발현되는 KILLER 유전자로 밝혀졌다가 나중에 TRAIL receptor-2와 동일한 유전자임이 밝혀진 유전자이다⁵. 따라서 bax나 bid, IGF-BP3 등과 같은 p53에 유도되고 아포프토시스를 유도하는 유전자의 계보에 속해 있다^{18,19}. p53은 암에서 약 50% 정도 돌연변이에 의해 그 기능을 잃고 있는 것으로 보고하고 있고 폐암에서도 50~60% 정도에서 돌연변이가 관찰되는 것으로 밝혀져 있다. 항암요법제나 방사선치료가 주로 DNA 손상과 이에 수반되는 p53 활성화에 의해 암세포 살상을 유도하는 바, 이러한 p53의 돌연변이는 치료 내성의 중요한 인자로 주목되고 있어서 p53 경로와 관련이 없는, 즉 p53 비의존적인 세포사 경로가 그 대안으로 떠오르고 있으며 이러한 점에서 TRAIL과 같은 death ligand가 주목받고 있는 것이다. 따라서 TRAIL 시스템 역시 p53과 긴밀히 관련이 있다면 그 치료적 유용성은 감소될 것이기 때문에 그 연관성을 확인하는 것은 중요하다고 할 수 있겠다.

현재 DR5는 물론 DR4와 DcR1, DcR2 등 4가지 TRAIL 수용체 모두가 p53에 의해 조절되고 있다고 보고되고 있다^{20,21}. 그러나 초기 연구에 의하면 비소세포폐암 조직에

서 DR5 발현과 p53 발현과는 관련이 없음이 보고되었고¹³, 이후 III기 비소세포폐암을 대상으로 한 연구에서도 DR5 발현과 p53 발현과의 연관관계가 없음을 확인해 주었고 DR4의 발현도 p53 발현과 관련이 없다고 언급되어 있다¹⁴. 하지만 본 연구에서는 DR5의 발현과 p53의 발현 간에 역 상관관계가 있음을 확인하였다. 이러한 차이를 설명할 만한 학술적 근거에 대해서는 아직 발견되고 있지 않지만 아마도 면역조직화학 방법이 갖는 방법적 한계에 있지 않는가 하는 추정을 해 볼 수 있겠다. p53은 비교적 유전자 크기가 큰 유전자로서 그 돌연변이가 복잡한 양상을 보이고 인종적 차이를 보이는 것으로 알려져 있지만 우리나라 폐암에서의 p53 돌연변이 양상에 대한 체계적 자료는 아직 밝혀져 있지 않다. 따라서 DR5와 p53간의 관계를 명확히 밝히기 위해서는 면역조직화학적 방법이 아니라 염기서열 분석과 같은 보다 객관적인 방법을 도입하여 이루어져야 할 것으로 생각된다.

이상과 같이 본 연구에서 비소세포폐암 조직과 주변 정상조직에서 면역조직화학적 분석을 이용하여 DR5의 발현이 기관지상피를 제외하고는 중앙 선택적인 발현을 확인하였으며, DR5와 p53 발현 간에 유의한 상관관계가 있음을 확인한 바 이는 DR5와 p53의 상호관련성을 뒷받침하는 결과라고 생각되나 이에 대해서는 추후 보완연구가 필요하다.

요 약

연구배경: TRAIL 은 death 수용체(DR4, DR5)와 decoy 수용체(DcR1, DcR2)라는 독특한 수용체 시스템 덕분에 정상세포는 보호하고 중앙선택적 살상능을 가진 유망한 항암제로 주목받고 있다. DR5 TRAIL 수용체는 wild-type p53 세포에서 DNA 손상항암제인 doxorubicine에 의해 발현 유도되는 p53-조절 death 수용체 유전자로 처음에 발견되었다. 폐암 조직에서 이러한 DR5와 p53 발현에 관련 연구 보고는 많지 않다. 본 연구에서 비소세포폐암 조직에서 면역조직화학적 방법을 이용하여 DR5 발현과 p53과의 상관관계를 중심으로 분석하였다.

방 법: Avidin-biotinylated horseradish peroxidase complex를 이용하여 89예의 수술적 절제된 비소세포폐암 포르말린 고정조직에서 면역조직화학적 염색을 시행하였다. 1차 항체로는 anti-DR5 polyclonal antibody (Pro Sci Inc., Poway, CA)와 anti-p53 monoclonal antibody (DO-7, Novocastra, Inc, Manhasset, NY)를 이용하였다. DR5

발현에 대한 면역조직화학적 판정은 면역염색의 범위와 강도를 합산하여 다음과 같이 판정하였다; 0, non-staining; 1+, weak and diffuse (>50%) or focal (<50%) or moderate and focal; 2+, strong and focal or moderate and diffuse; 3+, strong and diffuse. 2+ 이상을 고발현 (high expression)으로 분류하였다. p53 발현 정도에 따른 p53 wild type과 mutant type의 구분은 3+의 강양성인 경우를 mutant type으로 판정하였고, 나머지 0, 1+, 2+ 발현은 wild type p53으로 판정하였다.

결 과: 주변 정상폐조직에서의 DR5발현은 기관지점막에서 89%의 고발현율을 보였으나, type I, II 폐상피세포, 림프구, 평활근세포 등의 정상 세포에서는 거의 발현되지 않았다. 폐암 조직에서 DR5 고발현율은 편평상피암에서 28% (15/53), 선암에서 47% (15/32), 대세포암에서 50% (2/4)의 빈도를 보여 전반적으로 36%의 고발현율을 보였다. DR5 고발현율은 임상병기, 생존기간 등 임상 지표와 유의한 상관관계를 보여주지 못하였지만 p53 발현과는 유의한 역상관관계를 보여주었다.

결 론: 비소세포폐암 조직에서 면역조직화학적 분석을 통하여 DR5 발현이 기관지점막을 제외하고는 중앙 선택적임을 확인하였고 p53 발현과 유의한 역상관관계가 있음을 확인하였다. 이는 DR5가 p53 조절 유전자임을 *in vivo*에서 확인한 유력한 증거일 수 있다고 생각된다.

참 고 문 헌

1. Ashkenazi A, Dixit VM. Death receptors: signaling and modulation. *Science* 1998;281:1305-8.
2. Ashkenazi A, Pai RC, Fong S, Leung S, Lawrence DA, Marsters SA, et al. Safety and antitumor activity of recombinant soluble Apo2 ligand. *J Clin Invest* 1999;104:155-62.
3. Lawrence D, Shahrokh Z, Marsters S, Achilles K, Shih D, Mounho B, et al. Differential hepatocyte toxicity of recombinant Apo2L/TRAIL versions. *Nat Med* 2001;7:383-5.
4. Walczak H, Miller RE, Ariail K, Gliniak B, Griffith TS, Kubin M, et al. Tumoricidal activity of tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand in vivo. *Nat Med* 1999;5:157-63.
5. Wu GS, Burns TF, McDonald ER 3rd, Jiang W, Meng R, Krantz ID, et al. KILLER/DR5 is a DNA damage-inducible p53-regulated death receptor gene. *Nat Genet* 1997;17:141-3.
6. Kim K, Takimoto R, Dicker DT, Chen Y, Gazitt Y,

- El-Deiry WS. Enhanced TRAIL sensitivity by p53 over-expression in human cancer but not normal cell lines. *Int J Oncol* 2001;18:241-7.
7. Jang SH, Seol JY, Kim CH, Yoo CG, Kim YW, Han SK, et al. Additive effect of TRAIL and p53 gene transfer on apoptosis of human lung cancer cell lines. *Int J Mol Med* 2004;13:181-6.
 8. Bremer E, van Dam G, Kroesen BJ, Leij L, Helfrich W. Targeted induction of apoptosis cancer therapy: current progress and prospects. *Trends Mol Med* 2006;12:382-93.
 9. Gajewski TF. On the TRAIL toward death receptor-based cancer therapeutics. *J Clin Oncol* 2007;25:1305-7.
 10. Tolcher AW, Mita M, Meropol NJ, von Mehren M, Patnaik A, Padavic K, et al. Phase I pharmacokinetic and biologic correlative study of mapatumumab, a fully human monoclonal antibody with agonist activity to tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand receptor-1. *J Clin Oncol* 2007;25:1390-5.
 11. Cretney E, Uldrich AP, Berzins SP, Strasser A, Godfrey DI, Smyth MJ. Normal thymocyte negative selection in TRAIL-deficient mice. *J Exp Med* 2003;198:491-6.
 12. Lee SH, Shin MS, Kim HS, Lee HK, Park WS, Kim SY, et al. Alterations of the DR5/TRAIL receptor 2 gene in non-small cell lung cancers. *Cancer Res* 1999;59:5683-6.
 13. Wu WG, Soria JC, Wang L, Kemp BL, Mao L. TRAIL-R2 is not correlated with p53 status and is rarely mutated in non-small cell lung cancer. *Anticancer Res* 2000;20:4525-9.
 14. Spierings DC, de Vries EG, Timens W, Groen HJ, Boezen HM, de Jong S. Expression of TRAIL and TRAIL death receptors in stage III non-small cell lung cancer tumors. *Clin Cancer Res* 2003;9:3397-405.
 15. Mitsiades N, Poulaki V, Mitsiades C, Tsokos M. Ewing's sarcoma family tumors are sensitive to tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand and express death receptor 4 and death receptor 5. *Cancer Res* 2001;61:2704-12.
 16. Zhang XD, Franco A, Myers K, Gray C, Nguyen T, Hersey P. Relation of TNF-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) receptor and FLICE-inhibitory protein expression to TRAIL-induced apoptosis of melanoma. *Cancer Res* 1999;59:2747-53.
 17. Zhang XD, Franco AV, Nguyen T, Gray CP, Hersey P. Differential localization and regulation of death and decoy receptors for TNF-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) in human melanoma cells. *J Immunol* 2000;164:3961-70.
 18. El-Deiry WS. Insights into cancer therapeutic design based on p53 and TRAIL receptor signaling. *Cell Death Differ* 2001;8:1066-75.
 19. Oren M. Decision making by p53: life, death, and cancer. *Cell Death Differ* 2003;10:431-42.
 20. Sheikh MS, Fornace AJ Jr. Death and decoy receptors and p53-mediated apoptosis. *Leukemia* 2000;14:1509-13.
 21. Liu X, Yue P, Khuri FR, Sun SY. Decoy receptor 2 (DcR2) is a p53 target gene and regulates chemosensitivity. *Cancer Res* 2005;65:9169-75.