

沉默 STAT1 基因增强放射抗拒鼻咽癌 CNE-2R 细胞放射敏感性

郭亚 朱小东 曲颂 李龄 葛莲英 黄诗婷 赵伟 苏芳 李烨

【摘要】 目的 研究基因 STAT1 沉默对人放射抗拒鼻咽癌细胞放射敏感性的影响。方法 慢病毒介导的 STAT1 基因转染放射抗拒鼻咽癌细胞 CNE-2R, 荧光定量 RT-PCR 技术检测沉默效果。MTT 法检测转染前后细胞增殖活性, 流式细胞技术检测细胞周期及凋亡, 克隆形成实验检测转染前后细胞放射敏感性变化。结果 慢病毒转染后放射抗拒鼻咽癌细胞 STAT1 表达降低 ($F = 429.87, P < 0.05$)、细胞生长抑制 ($F = 3.88 \sim 4.63, P < 0.05$)、凋亡率增加 ($F = 38.13, P < 0.05$)、放射敏感性增加 ($F = 252.80, P < 0.05$)、细胞周期中 G_0/G_1 、S 和 G_2/M 期未见明显差异 ($P > 0.05$)。结论 沉默 STAT1 基因能增加放射抗拒鼻咽癌细胞 CNE-2R 的放射敏感性。

【关键词】 STAT1; RNA 干扰; 慢病毒载体; 放射敏感性; 鼻咽癌

Silencing STAT1 gene enhances radiosensitivity of radioresistant human nasopharyngeal carcinoma CNE-2R cells Guo Ya, Zhu Xiaodong, Qu Song, Li Ling, Ge Liying, Huang Shiting, Zhao Wei, Su Fang, Li Ye. Department of Radiation Oncology, Cancer Hospital of Guangxi Medical University, Cancer Institute of Guangxi Zhuang Autonomous Region, Key Laboratory of High-Incidence-Tumor Prevention & Treatment (Guangxi Medical University), Ministry of Education, Nanning 530021, China Corresponding author: Zhu Xiaodong, Email: zhuxdonggxm@126.com

【Abstract】 Objective To study the effect of silencing STAT1 on radiation sensitivity of nasopharyngeal carcinoma cells. **Methods** Lentivirus-mediate STAT1 gene-transfer was performed to radioresistant human nasopharyngeal carcinoma CNE-2R cells and the transfection efficiency was detected by RT-PCR. The cell proliferation was measured by MTT, and the apoptosis was analyzed by flow cytometry. The radiosensitization ratio was measured according to the clone formation efficiency. **Results** After transfection with STAT1 siRNA, the expression of STAT1 was effectively inhibited in CNE-2R cells ($F = 429.87, P < 0.05$), the cell proliferation was decreased ($F = 3.88 - 4.63, P < 0.05$), the apoptosis was increased ($F = 38.13, P < 0.05$), the cell radiosensitivity was enhanced ($F = 252.80, P < 0.05$), but the cell cycle distribution at G_0/G_1 , S and G_2/M were not influenced ($P > 0.05$). **Conclusions** Silencing STAT1 could increase radiosensitization of nasopharyngeal carcinoma cells.

【Key words】 STAT1; RNA interference; Lentiviral vector; Radiosensitivity; Nasopharyngeal carcinoma

STAT1 是信号转导与转录激活因子, 其在诱导或抑制肿瘤细胞生成、调节细胞生存和凋亡、增殖等方面发挥着重要的作用^[1]。前期研究发现, STAT1 在鼻咽癌放射抗拒细胞系 CNE-2R 中高表达, 参与多条信号通路, 位于差异基因间相互作用

的网络节点上, 提示 STAT1 可能是引起鼻咽癌放射抗拒的关键基因, 靶向抑制该基因表达有可能提高鼻咽癌放射敏感性^[2]。因此, 本研究采用 RNAi 技术沉默 CNE-2R 中 STAT1 表达, 检测干扰前后细胞生长、凋亡、周期及放射敏感性变化, 初步探讨 STAT1 与鼻咽癌放射抗拒的关系, 预测该基因能否作为逆转鼻咽癌放射抗拒的分子靶点。

材料与amp;方法

1. 实验材料: 鼻咽癌放射抗拒细胞系 CNE-2R 由本实验室诱导建立并保存, 293T 细胞和 DH5 α 大肠杆菌由上海吉凯基因有限公司提供。慢病毒载体系统购自上海吉凯基因有限公司, 该系统由

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-5098.2015.05.004

基金项目: 国家自然科学基金(30860329); 广西壮族自治区自然科学基金(桂科自 0832229); 广西重点实验室专项经费资助项目(GK2014-ZZ09); 广西高等学校重大科研资助项目(201101ZD004)

作者单位: 530021 南宁, 广西医科大学附属肿瘤医院 广西壮族自治区肿瘤防治研究所放疗科 区域性高发肿瘤早期防治研究教育部重点实验室(广西医科大学)[郭亚(现在西安交通大学第二附属医院肿瘤科)、朱小东、曲颂、李龄、黄诗婷、赵伟、苏芳、李烨], 物理诊断科(葛莲英)

通信作者: 朱小东, Email: zhuxdonggxm@126.com

PGCSIL-GFP、pHelper 1.0 和 pHelper 2.0 组成。

2. 主要试剂及设备: RPMI 1640 完全培养基、DMEM 购自美国 GIBCO 公司; 胎牛血清购于杭州四季青公司; TRIzol 试剂购自美国 Invitrogen 公司; PCR 相关试剂由上海吉凯基因技术有限公司合成; Taq 酶购于日本 TaKaRa 公司; 质粒提取试剂盒购于上海天根科技有限公司; 基因重组所需的酶由美国 NEB 公司生产; 阳性克隆测序由上海美季生物有限公司完成; 荧光定量 PCR 试剂盒购于上海天根科技有限公司; MTT 粉购于美国 Amresco 公司; 凋亡试剂盒源于美国罗氏公司。蛋白浓度试剂盒购于上海碧云天生物技术研究, 脱脂奶粉购自上海 Mbchem 公司, PVDF 膜购于北京 Solarbio 公司(孔径 0.22 μm), 鼠抗人 STAT1 一抗购自美国 Cell Signaling 公司, 兔抗人的 GAPDH 一抗、荧光标记的羊抗鼠及羊抗兔的二抗购自美国 KPL 公司。

3. 细胞培养: 将 CNE-2R 细胞置于含 10% 胎牛血清及 250 μl 青霉素、400 μl 链霉素的 RPMI 1640 的培养液中贴壁生长, 在 37 $^{\circ}\text{C}$ 、100% 的湿度、5% CO_2 的条件下培养。

4. 最佳沉默效应 siRNA 片段筛选及验证: 依照 siRNA 的设计原则, 设计并合成 4 对 siRNA、1 对阴性对照和 1 对针对 GAPDH 基因的阳性对照。细胞以 5×10^5 /孔的密度接种于 2 个 6 孔板中, 加入不包含抗生素的 RPMI 1640 培养基, 24 h 后待细胞的铺至平底 80% ~ 85% 时进行转染。每孔加入 5 μl 的 siRNA(浓度为 100 pmol/L) 和 6 μl 脂质体 2000 为最佳转染条件。依据上述最佳比例配制脂质体 2000, 孵育 5 min, 将其与配制的 siRNA 轻轻混合, 室温下静置 20 min。将上述混合液加入含有细胞及培养液的 6 孔板内, 轻轻摇晃 6 孔板, 充分混匀。37 $^{\circ}\text{C}$ 、 CO_2 培养箱孵育 6 h 后, 更换含血清的 RPMI 1640 培养基, 继续培养 24 h, 荧光显微镜观察细胞转染情况。采用 RT-PCR 检测沉默效果。

5. 慢病毒干扰载体的构建: 针对基因 STAT1 最佳 siRNA 序列: 5'CTGGAAGATTTACAAGATGAA3', 依据慢病毒载体的酶切位点, 合成含干扰序列的双链 DNA-Oligo, 其两端含酶切位点黏端, 直接连入酶切后的含 U6 启动子载体 pGCL-GFP 上。重组 DNA 分子转化感受态细胞, 再进行阳性克隆 PCR 鉴定及测序比对, 鉴定出的阳性克隆即为构建成功的目的基因 RNA 干扰慢病毒载体。再进行慢病毒载体的包装、检测滴度和复感染指数。

6. 重组病毒感染目的细胞 CNE-2R 并进行流式分选: 选取最佳状态的 CNE-2R 细胞, 以每孔 1×10^5 /孔密度接种于 6 孔板内; 孵育过夜, 吸弃培养液, PBS 洗 2 次; 每孔分别加入 10 μl 相应的病毒、200 μl 的 Polybrene、790 μl 无血清的 RPMI 1640; 轻轻摇晃 6 孔板, 使之充分混匀、培养; 8 h 后弃倒掉液体, 加入 2 ml 完全培养基; 48 h 荧光显微镜观察荧光。将转染后的细胞, 用流式细胞仪分选出 GFP (+) 细胞, 扩大培养。实验分为 3 组: 未转染的对照组、转染阴性对照组及转染目的基因序列的实验组。

7. RT-PCR 检测慢病毒介导基因 STAT1 干扰效果: 设计并合成 STAT1 引物: 上游 5'CCAAAGGAA GCACCAGAGCC3', 下游 5'AGAGCCCCTATCCGAG ACACC3', 扩增片段长度 171 bp。每组分别设 3 个复孔、相应的内参孔, 每次实验设 1 个空白对照。反应体系如下: 模板 2 μl 、上游引物 0.8 μl 、下游引物 0.8 μl 、PCR 混合液 9 μl 、双蒸水补足体积至 20 μl 。反应条件: 94 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 3 min, 94 $^{\circ}\text{C}$ 30 s, 55 $^{\circ}\text{C}$ 30 s, 72 $^{\circ}\text{C}$ 45 s, 共 32 个循环, 然后, 75 $^{\circ}\text{C}$ 5 min。用荧光定量 PCR 仪进行检测。数据分析采用美国 ABI 公司的荧光定量 PCR 仪自带软件进行分析。采用 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 法计算相对表达量, 进行统计学分析。

8. MTT 法检测基因 STAT1 干扰前后细胞生长变化: 将 3 组细胞以 3.0×10^3 /孔细胞密度接种于 96 孔板内, 培养箱内培养。24 h 后弃培养基, 每孔加入 180 μl 新鲜培养基和 20 μl (5 mg/ml) MTT。继续培养 24 h 后吸弃培养液。每孔加入 150 μl 的 DMSO。把酶标板放在振荡器上振荡 10 min 后, 测每组 490 nm 处的吸光度(A)值。每组设 3 个复孔, 取均值, 绘制生长曲线。

9. 流式细胞仪检测基因 STAT1 干扰前后细胞凋亡的变化: 3 组细胞以 1.0×10^5 密度接种于 6 孔板。50 μl 的缓冲液加入 5 μl 的 7-AAD (7-amino-actinomycin D) 混匀。收集细胞中加入上述混合的 7-AAD 染液混匀, 室温避光反应 10 min。反应后加入 450 μl 的结合缓冲液混匀。加入 1 μl 的 Annexin V-PE 混匀, 室温避光反应 10 min。1 h 内用流式细胞仪进行检测。

10. 流式细胞仪检测基因 STAT1 沉默前后细胞周期的变化: 3 组细胞经胰酶消化后, PBS 洗 2 次, 加入 1 ml 预冷的 70% 乙醇, 4 $^{\circ}\text{C}$ 固定过夜; 再用 PBS 洗涤 2 次, 配成 1.0×10^5 /ml 的细胞悬液, 混匀后,

以细胞悬液:PI = 1:1 加入适量 PI 液,4℃ 下避光孵育 30 min;用 300 目筛网过滤细胞悬液去除粘连的细胞;流式细胞仪分析 DNA 含量,软件分析 G₀/G₁、S、G₂/M 各期的细胞数及所占比例。

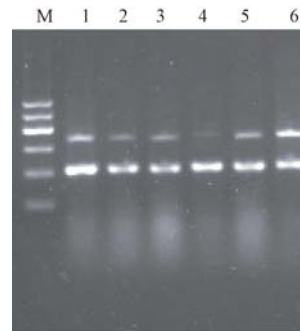
11. 克隆形成实验测基因 STAT1 沉默前后放射敏感性变化:消化 3 组细胞,离心半径 10 cm,转速 1 000 r/min,离心 5 min,重悬、计数。根据照射剂量按梯度稀释后接种于 6 孔板。用 6 MV X 射线给予剂量分别为 0、0.5、1、2、4、6、8、10 Gy 照射,每组设置 3 个复孔。照射后置于 37℃、饱和湿度的 CO₂ 培养箱中,继续培养 10 d。培养过程中,每 2~3 天换 1 次培养液;10~14 d 后,弃培养液,甲醇固定 30 min,姬姆萨溶液染色 30 min,计数所形成的集落数(≥50 个细胞数为有效的集落);计算不同剂量照射下的细胞存活分数:集落形成率(PE) = 集落数/种植细胞数 × 100%,存活分数(SF) = 实验组 PE/对照组 PE。应用 Graphpad 软件进行剂量存活曲线拟合,计算相应的生物学参数 α、β 及 SF₂。

12. 统计学处理:数据用 $\bar{x} \pm s$ 形式表示,采用 SPSS 17.0 软件进行分析。放射生物学参数和细胞生存曲线使用 GraphPad Prism 5 拟合,计量资料组间差异比较采用单因素方差分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. 最佳 siRNA 干扰片段筛选:采用 RT-PCR 检测不同 siRNA 干扰片段沉默效果发现,靶点位于 875 的 siRNA 沉默效果最佳。与其对应的靶向干扰序列为 5'CTGGAAGATTTACAAGATGAA3'。阴性对照及阳性对照间差异不明显。因此,选择其对应的序列进行后续研究(图 1)。

2. 重组慢病毒感染 CNE-2R 细胞及阳性细胞的流式分选:LV-shRNA-STAT1 慢病毒感染 48 h 后,阳性的细胞 CNE-2R 因为能够表达绿色荧光蛋白而在荧光显微镜下呈现出绿色荧光。经流式细胞仪



注:M. 分子标志物;1~4 分别为靶点 486、647、1601、875;5. 阴性对照;6. 阳性对照
图 1 RT-PCR 方法筛选最佳 siRNA

对 GFP(+) 细胞进行分选,获得了稳定抑制 STAT1 表达的亚克隆细胞系(图 2)。

3. 荧光定量 PCR 检测 STAT1 沉默效果:对照组、阴性对照组和实验组的 mRNA 水平相对表达量分别为 1.226 ± 0.046 、 1.060 ± 0.038 和 0.235 ± 0.023 ,实验组低于对照组和阴性对照组($F = 429.87, P < 0.05$),对基因 STAT1 表达抑制率约为 81%。提示慢病毒介导的 STAT1 能够有效抑制基因 STAT1 表达。

4. 基因 STAT1 沉默前后细胞生长变化:结果示于图 3。由图 3 可见,对照组和阴性对照组的细胞生长差异无统计学意义,而实验组明显降低($F = 3.88 \sim 4.63, P < 0.05$),表明慢病毒介导的 STAT1 基因沉默使 CNE-2R 细胞生长受到抑制。

5. 基因 STAT1 沉默前后细胞凋亡变化:与对照组的凋亡细胞(10.95 ± 3.75)% 和阴性对照组的(8.11 ± 2.38)% 相比,实验组细胞凋亡率明显增加,达(28.97 ± 1.48)% ($F = 38.13, P < 0.05$),而对照组与阴性对照组相比,差异无统计学意义。结果表明,抑制 STAT1 表达可以促进 CNE-2R 细胞凋亡。

6. 基因 STAT1 沉默前后细胞周期变化:结果列于表 1。由表 1 可知,各组之间细胞周期的变化不明显,差异无统计学意义($P > 0.05$)。

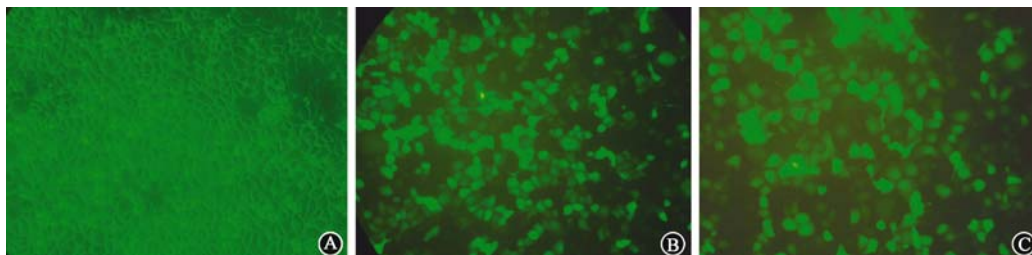
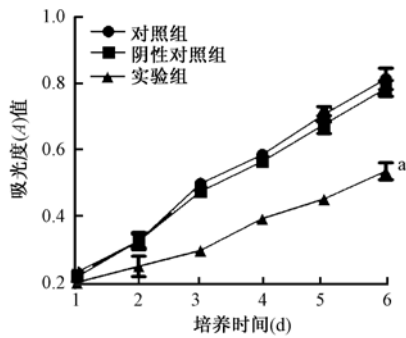


图 2 流式细胞分选出的阳性细胞 A. 对照组; B. 阴性对照组; C. 实验组



注:^a 与对照组、阴性对照组相比, $F=3.88 \sim 4.63, P < 0.05$

图3 基因 STAT1 干扰前后细胞生长变化

表1 基因 STAT1 干扰前后细胞周期变化(%, $\bar{x} \pm s$)

组别	样本数	G ₀ /G ₁	S	G ₂ /M
对照组	3	56.22 ± 1.04	22.73 ± 2.02	21.05 ± 1.00
阴性对照组	3	52.36 ± 1.01	25.67 ± 0.96	21.97 ± 1.95
实验组	3	57.27 ± 1.28	25.23 ± 2.65	17.50 ± 2.78

7. 基因 STAT1 沉默前后放射敏感性变化: 对照组和阴性对照组间的 SF_2 值及 α/β 比值差异无统计学意义, 表明这两组细胞放射敏感性差异无统计学意义; 与这两组相比, 实验组 SF_2 值降低、 α/β 比值增高, 提示抑制基因 STAT1 表达可以提高 CNE-2R 细胞放射敏感性 ($F = 252.80, P < 0.05$), 见表 2 和图 4。

表2 基因 STAT1 干扰前后放射敏感性变化($\bar{x} \pm s$)

组别	样本数	SF_2	α	β
对照组	3	0.460 ± 0.011	0.312 ± 0.043	0.037 ± 0.017
阴性对照组	3	0.407 ± 0.009	0.377 ± 0.068	0.034 ± 0.029
实验组	3	0.224 ± 0.008	0.693 ± 0.036	0.024 ± 0.022

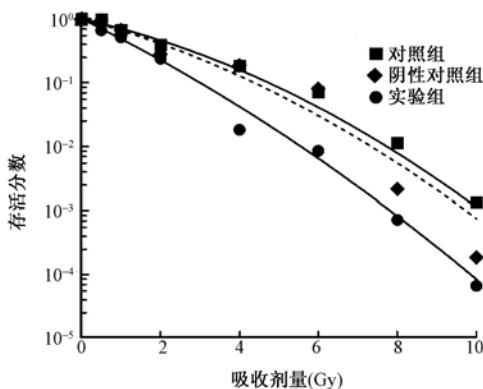


图4 克隆形成实验检测基因 STAT1 沉默前后放射敏感性

讨 论

STAT1 位于 IFN 通路下游, 与头颈部肿瘤的放射抗拒密切相关^[3]。肾癌细胞中高表达的 STAT1 基因具有抗辐射效应^[4]。STAT1 与乳腺癌细胞放

射敏感性密切相关, 抑制基因 STAT1 表达可以显著提高乳腺癌细胞放射敏感性^[5]。前期研究发现, STAT1 在鼻咽癌放射抗拒细胞 CNE-2R 中高表达, 参与多个生物学过程和多条通路, 同时与多个基因存在密切关系, 因此, STAT1 表达可能与鼻咽癌放射抗拒发生存在一定相关性^[2]。基于以上原因, 本研究采用慢病毒介导 RNAi 特异性地沉默 CNE-2R 中 STAT1 表达, 检测放射敏感性、细胞生长、凋亡及周期变化, 初步探索 STAT1 与鼻咽癌放射抗拒的关系。

邓昊^[6]发现, 高活性的 STAT1 是肿瘤细胞存活的必要因素。Amorino 等^[7]报道, 射线诱导 STAT1 表达与表皮生长因子受体 (EGFR) 有关, STAT1 可能通过调节生长相关的通路在特定条件下促进经射线照射后的肿瘤细胞生长。还有研究发现, 基因 STAT1 与头颈部肿瘤放射抗拒相关, 可在核内与 DNA 结合使相关基因活化, 对细胞生长、分化进行调控^[8]。下调基因 STAT1 表达使肾癌细胞生长缓慢、增强放射敏感性^[9]。本研究结果显示, 抑制 STAT1 基因表达使放射抗拒细胞 CNE-2R 生长受到抑制, 同时放射敏感性增加。因此, 推测基因 STAT1 可能通过调节细胞生长而影响肿瘤细胞放射敏感性, 在鼻咽癌细胞中, STAT1 上调表达有可能通过促进放射抗拒细胞生长, 从而发挥抗辐射作用。

STAT1 被磷酸化后可与 PI-3K、Capase-1 结合, 可以调节细胞分化和凋亡^[10]。Zhan 等^[11]在研究 STAT1 与乳腺癌放射抗拒关系中发现, 在照射后的细胞内加 STAT1 抑制剂时, 凋亡增加。STAT1 上调表达可以通过调控相应基因引起受照射后细胞具有抗凋亡作用^[12]。以上研究表明, STAT1 可以通过调节细胞凋亡而影响细胞放射敏感性。本研究采用流式细胞技术检测 STAT1 沉默前后细胞凋亡改变, 发现实验组细胞凋亡较对照组和阴性对照组明显增加, 凋亡率达 (28.97 ± 1.48)%, 提示干扰 STAT1 表达可以促进细胞凋亡, 增加放射敏感性, 支持以往的研究结果。

研究表明, STAT1 可以调控 DNA 损伤后细胞周期^[13]。基因沉默后, STAT1 可以消除 G₂/M 阻滞, 减少细胞修复时间, 从而引起放射敏感。STAT1 对 DNA 损伤后细胞周期检测点有调控作用, 沉默 STAT1 基因的细胞在电离辐射诱导的 DNA 损伤后 S 期和 G₂/M 期检测点的调节作用失活^[14]。研究发现, 通过 RNA 干扰技术降低食管癌细胞中基因

STAT1 的蛋白表达后,在一定程度上消除了细胞照射后出现的 G₂/M 期阻滞,减少了肿瘤细胞 DNA 损伤的修复机会,使细胞凋亡比例增大,从而提高细胞的放射敏感性^[13]。本研究采用流式细胞技术检测基因 STAT1 干扰前后细胞周期变化,发现沉默 STAT1 表达,CNE-2R 细胞 S 期和 G₂/M 期所占的比例差异无统计学意义,与上述研究结果不一致。因此,具体的内在机制有待于进一步研究。

抑制 STAT1 基因表达而能够使照射后肾癌细胞生长缓慢,凋亡增加^[15]。本研究发现,慢病毒介导的 RNAi 抑制 STAT1 在放射抗拒细胞系 CNE-2R 中表达后,可以促进细胞凋亡、抑制生长、提高放射敏感性。STAT1 可能通过抑制凋亡和促进细胞生长而使抗拒细胞 CNE-2R 对射线产生耐受,这与以往研究相符。但其具体机制仍需进一步深入研究。

综上所述,本研究成功构建了慢病毒载体,该载体介导的 RNAi 能够有效沉默 STAT1 表达。抑制 STAT1 在放射抗拒细胞系中表达可以促进细胞凋亡、抑制生长、提高放射敏感性。研究结果显示,STAT1 可能通过抑制凋亡和促进细胞生长而使放射抗拒细胞 CNE-2R 对射线产生耐受,STAT1 可能成为鼻咽癌放射增敏分子标志。

参 考 文 献

[1] Efimova EV, Liang H, Pitroda SP, et al. Radioresistance of Stat1 over-expressing tumour cells is associated with suppressed apoptotic response to cytotoxic agents and increased IL6-IL8 signalling[J]. *Int J Radiat Biol*, 2009, 85 (5): 421-431.

[2] Guo Y, Zhu XD, Qu S, et al. Identification of genes involved in radio-resistance of nasopharyngeal carcinoma by integrating gene ontology and protein-protein interaction networks [J]. *Int J Oncol*, 2012, 4(1):85-92.

[3] Khodarev NN, Roach P, Pitroda SP, et al. STAT1 pathway

mediates amplification of metastatic potential and resistance to therapy[J]. *PLoS One*, 2009,4(6):e5821.

[4] Hui Z, Betten M, Huang D, et al. Radiosensitization by inhibiting STAT1 in renal cell carcinoma [J]. *Int J Radiat Biol*, 2009, 73 (1): 288-295.

[5] Zhang JF, Chen LH, Wei YY, et al. STAT1 promotes radioresistance of CD44 +/CD24- cells in breast[J]. *Exp Biol Med*, 2011,236 (4) : 418-422.

[6] 邓昊. Stat1 和 survivin 及相关蛋白在胃癌中相关性及其临床病理学意义的研究[D]. 武汉:华中科技大学, 2006.

[7] Amorino GP, Hamilton VM, Valerie K, et al. Epidermal growth factor receptor dependence of radiation-induced transcription factor activation in human breast carcinoma cells[J]. *Mol Biol Cell*, 2002, 13 (7) : 2233-2244.

[8] Khodarev NN, Beckett M, Labay E, et al. Stat1 is overexpressed in tumor selected for radioresistance and confers protection from radiation in transduced sensitive cells[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, 101 (6) : 1714-1719.

[9] Zhu H, Wang Z, Xu X, et al. Inhibition of STAT1 sensitizes renal cell carcinoma cells to radiotherapy and chemotherapy[J]. *Cancer Biol Ther*, 2012, 13 (6) : 401-407.

[10] Yu H, Jove R. The Status of cancer-new molecular targets come of age[J]. *Nat Rev Cancer*, 2004, 4 (2) : 97-105.

[11] Zhan JF, Chen LH, Yuan YW, et al. Stat1 promotes radioresistance of Cd44 +/Cd24-/low cells in breast cancer[J]. *Exp Biol Med*, 2011, 236 (4) : 418-422.

[12] Kaganoi J, Watanabe J, Okabe M, et al. STAT1 activation induced apoptosis of esophageal squamous cell carcinoma cells *in vivo*[J]. *Ann Surg Oncol*, 2007, 14 (4) : 1405-1415.

[13] 李曙光. H2ax、Stat1 RNAi 对体外食管癌细胞放射敏感性和细胞周期的影响[D]. 石家庄:河北医科大学, 2011.

[14] Townsend PA, Craqq MS, Davidson SM, et al. STAT1 facilitates the ATM activated checkpoint pathway following DNA damage [J]. *J Cell Sci*, 2005, 118 (8) : 1629-1639.

[15] 王巍. 电离辐射对食管癌细胞中 H2ax、Stat1 表达的影响 [D]. 石家庄:河北医科大学, 2011.

(收稿日期:2014-11-08)

欢迎订阅 欢迎投稿 邮发代号:18-93

《中华放射医学与防护杂志》

www. cjrm. net

地址:北京市西城区德胜门外新康街2号 邮编:100088 电话:010-62389620