论著

文章编号:1000-5404(2011)16-1682-05

沉默 Peroxiredoxin Ⅰ基因增强乳腺癌细胞放射敏感性及其作用机制的实验研究

郭启帅[1],黄 曦[2],李少林[1] (400016 重庆,重庆医科大学放射医学教研室[1];401520 重庆,重庆市合川区人民医院肿瘤血液科[2])

[摘要] **目的** 采用 RNA 干扰技术沉默过氧化物酶Ⅰ(peroxiredoxin Ⅰ,Prx Ⅰ)基因,观察乳腺癌 MCF-7 细胞对 X 线敏感性变化,探讨其作用机制。**方法** 将 Prx Ⅰ shRNA 真核表达载体 pGPU6-Prx Ⅰ和阴性对照质粒 pGPU6-HK 转染入乳腺癌 MCF-7 细胞中,经 G418 稳定筛选后 RT-PCR 和 Western blot 检测 Prx Ⅰ表达变化。6 MV X 线照射 6 Gy 后 48 h,流式细胞术检测细胞的活性氧水平、细胞周期和细胞凋亡;MTT 法测定细胞增殖能力;克隆形成实验观察克隆形成率,计算 D_o、N、D_q、SF_2及放射增敏比(sensitive enhancement ratio,SER)等放射生物学参数,Western blot 法检测 Rad51 及 γ-H_2AX 蛋白变化。**结果** 获得 2 个稳定转染细胞株:pGPU6-HK 和 pGPU6-Prx Ⅰ。RT-PCR 和 Western bolt 检测显示 pGPU6-Prx Ⅰ组中 Prx Ⅰ mRNA 和蛋白表达均明显抑制。6 Gy 的 X 线照射 48 h 后,pGPU6-Prx Ⅰ及联合照射(ionizing radiation,IR)组细胞中的活性氧水平、G_1期细胞和细胞凋亡明显增加,而细胞增殖能力和 S 期细胞明显降低,Western blot 分析表明 Rad51 蛋白表达降低,而 γ-H_2AX 蛋白表达升高($P<0.05$),以 pGPU6-Prx Ⅰ+IR 组变化最显著,其 Rad51 蛋白表达下降了 79.3%,而 γ-H_2AX 蛋白表达升高了 3.7 倍。pGPU6-Prx Ⅰ组细胞的 D_o、N、D_q和 SF_2值分别为 1.354、3.106、1.547 和 0.504,均低于 pGPU6-HK 组,SF_2时的 SER 为 1.353。**结论** 下调 Prx Ⅰ基因表达可提高乳腺癌 MCF-7 细胞的放射敏感性,其作用机制与细胞内活性氧清除能力减弱、DNA 双链断裂增加及 DNA 损伤后修复能力降低有关。Prx Ⅰ可能是 1 个理想的肿瘤放射增敏分子靶点。

[关键词] Peroxiredoxin Ⅰ;放射敏感性;活性氧;基因沉默

[中图法分类号] R737.9;R730.55;R730.23 [文献标志码] A

Enhancement effect of RNAi-mediated peroxiredoxin I gene silencing on radiosensitivity of breast carcinoma cell line MCF-7

Guo Qishuai[1], Huang Xi[2], Li Shaolin[1] ([1]Department of Radiation Medicine, Chongqing Medical University, Chongqing, 400016; [2]Department of Oncology and Hematology, Hechuan District People's Hospital, Chongqing, 400016, China)

[**Abstract**] **Objective** To investigate the effect of silencing peroxiredoxin Ⅰ (Prx Ⅰ) gene by RNA interference (RNAi) on the radiosensitivity of breast carcinoma cell line MCF-7 and its mechanism. **Methods** Recombinant plasmid pGPU6-Prx Ⅰ expressing short hairpin RNA (shRNA) against Prx Ⅰ and plasmid pGPU6-HK as a negative control were transferred into MCF-7 cells separately. The transfected MCF-7 cells were screened by G418. The mRNA and protein expression levels of Prx Ⅰ in the transfected MCF-7 cells were detected by RT-PCR and Western blotting. The transfected MCF-7 cells were exposed to 6-MV X ray at a dose of 6 Gy. Forty-eight hours after the radiation (ionizing radiation), reactive oxygen species (ROS), cell cycle and cell apoptosis were estimated by flow cytometry. Cell proliferation was detected by MTT assay, and the protein expression levels of Rad51 and γ-H2AX were evaluated by Western blotting. Colony forming efficiency was measured by colony formation assay, and the radiobiological parameters D_o, N, D_q, surviving fraction after 2 Gy (SF_2) and sensitivity enhancement ratio (SER) were calculated from the cell survival curve. **Results** Two stable MCF cell lines, which carried pGPU6-HK and pGPU6-Prx Ⅰ separately, were obtained by G418 pressure screening. The cells carrying pGPU6-Prx Ⅰ had significantly suppressed mRNA and protein expression of Prx Ⅰ

[基金项目] 国家自然科学基金(30970843)

[通信作者] 李少林,电话:(023)68485060,E-mail: shaolinli202@sina.com

compared with the cells carrying pGPU6-HK ($P<0.05$). Forty-eight hours after 6-Gy X ray radiation, the cells carrying pGPU6-Prx Ⅰ showed that the ROS level, G_1 phase cell number and cell apoptosis rate were significantly increased, while the cell proliferation capacity and S phase cell number were significantly decreased ($P<0.05$). The Western blot results indicated that after the radiation, the cells carrying pGPU6-Prx Ⅰ had Rad51 protein expression level decreased by 79.3% but γ-H2AX protein expression level increased by 3.7 times ($P<0.05$). The D_0, N, Dq and SF_2 of the cells carrying pGPU6-Prx Ⅰ were 1.354, 3.106, 1.547 and 0.504, respectively, lower than those of the cells carrying pGPU6-HK. The SER, calculated from SF_2, was 1.353. **Conclusion** RNAi-mediated Prx Ⅰ gene silencing can significantly enhance the radiosensitivity of breast carcinoma cell line MCF-7. The mechanism may involve the decrease of ROS-scavenging ability, increase of double-stranded DNA damage, and reduction of DNA repair ability in MCF-7 cells. Prx I may be a promising target for tumor radiosensitization.

[**Key words**] Peroxiredoxin Ⅰ gene; Radiosensitivity; Reactive oxygen species; Gene silencing

Supported by the National Natural Science Foundation of China(30970843). Corresponding author: Li Shaolin, Tel: 86-23-68485060, E-mail: shaolinli202@sina.com

放射治疗是恶性肿瘤治疗的主要手段,而肿瘤细胞的放射敏感性是决定放射治疗疗效的关键因素。近年来,随着对肿瘤放射生物学研究的深入,发现许多基因的表达在分子水平上影响着肿瘤细胞的放射敏感性。Peroxiredoxins(Prxs)是新近发现的一类过氧化物酶,在清除体内活性氧中发挥着重要作用,可保护细胞免受过氧化反应造成的膜损伤[1]。Peroxiredoxin Ⅰ(Prx Ⅰ)是Prxs蛋白家族成员之一,在乳腺癌等恶性肿瘤细胞中过表达[2-4],其表达与肿瘤细胞的放射敏感性密切相关[5-8],因此Prx Ⅰ可能是基因放射增敏的理想靶点。本实验将前期构建成功的Prx Ⅰ短发夹RNA(short hairpin RNA,shRNA)转染入乳腺癌MCF-7细胞,观察沉默Prx Ⅰ基因后对乳腺癌细胞放射敏感性的影响,并初步探讨其作用机制,为肿瘤放射增敏寻求新的靶标。

1 材料与方法

1.1 材料

人乳腺癌细胞株MCF-7购于中科院上海细胞库,大肠杆菌JM109由本实验室保存,Lipofectamine™2000购自Invitrogen,蛋白提取试剂盒购于赛百盛公司。羊抗人Prx Ⅰ、γ-H_2AX、Rad51抗体,鼠抗人β-actin抗体购自Santa Cruz公司,HRP标记的羊抗鼠及兔抗羊IgG二抗为博士德公司产品,活性氧检测试剂盒为上海碧云天公司产品。Annexin V-APC/7-AAD凋亡检测试剂盒购于南京凯基,吉姆萨染液购于南京建成,Prx Ⅰ shRNA(pGPU6-HK、pGPU6-Prx Ⅰ)在前期实验中已构建成功[9]。

1.2 实验方法

1.2.1 细胞转染及稳定筛选 将pGPU6-HK、pGPU6-Prx Ⅰ重组质粒转染入乳腺癌MCF-7细胞中,具体操作步骤见文献[9]。转染24 h后加入600 μg/ml G418进行筛选,直至转染细胞克隆形成。采用有限稀释法分离克隆细胞并扩增培养,所获得的单克隆细胞即为稳定细胞。

1.2.2 RT-PCR及Western blot检测稳定细胞株中Prx Ⅰ mRNA和蛋白表达 提取pGPU6-HK和pGPU6-Prx Ⅰ稳定细胞株中的总RNA和总蛋白,采用RT-PCR及Western blot检测Prx Ⅰ mRNA和蛋白表达。具体操作步骤见文献[9]。

1.2.3 细胞照射 取对数生长期pGPU6-HK和pGPU6-Prx Ⅰ稳定细胞,制成细胞悬液,计数,以2.5×10^5/孔接种于6孔培养板中,常规培养4~6 h,待细胞贴壁后给予6 MV X射线照射6 Gy(剂量率为300 cGy/min,SSD 100 cm)。实验分为4组:pGPU6-HK组、pGPU6-Prx Ⅰ组、pGPU6-HK + 照射(IR)组、pGPU6-Prx Ⅰ + IR组。

1.2.4 流式细胞检测细胞活性氧水平 收集经照射48 h后的细胞沉淀。按照活性氧检测试剂盒说明以1∶1 000用无血清培养液稀释DCFH-DA,使终浓度为10 μmol/L;向细胞沉淀中加入适当体积的DCFH-DA(以能充分覆盖细胞为宜),37 ℃,5% CO_2培养箱中孵育20 min,用无血清培养液洗涤细胞3次,以充分去除未进入细胞的DCFH-DA,采用流式细胞术检测各组细胞中的活性氧水平。

1.2.5 MTT法检测细胞增殖能力 取对数期生长细胞,以3×10^3/孔细胞接种于96孔板,常规培养4~6 h,待细胞贴壁后,联合IR组接受单次剂量为6 Gy X射线照射,每组设3个平行样本。于照射后0、24、48、72、96 h分别加入5 mg/ml MTT 20 μl,继续培养4 h,吸去孔内培养基,加入DMSO 100 μl于摇床缓摇振荡10 min使蓝色结晶完全溶解后,在酶标仪上测定570 nm处各组细胞的光密度值[D(570)],以各时间点的D(570)绘制细胞生长曲线。实验重复3次。

1.2.6 流式细胞检测细胞周期 取对数生长期细胞,制成

细胞悬液,以 2.5×10^5/孔接种于6孔培养板中,常规培养6~8 h,待细胞贴壁后接受6 Gy单次吸收剂量的X射线照射,每组设3个平行样本。培养48 h后常规消化,1 000×*g*离心5 min,弃上清,收集细胞,PBS洗2次,用预冷的70%的乙醇固定过夜。检测前PBS洗涤1次,加入浓度为50 μg/ml RNA酶的碘化丙啶染色液,室温避光温育30 min后,用流式细胞仪(美国FACScort-BD公司产品,使用CellQuest软件)检测细胞周期。实验重复3次。

1.2.7 流式细胞检测细胞凋亡 细胞处理同1.2.5。培养48 h后常规消化,1 000×*g*离心5 min,弃上清,收集细胞,PBS洗2次,按Annexin V-APC/7-AAD细胞凋亡检测试剂盒说明书操作,用流式细胞仪(美国FACScort-BD公司产品,使用CellQuest软件)检测各组细胞凋亡率。实验重复3次。

1.2.8 克隆形成实验检测细胞放射敏感性 取对数生长期细胞,制成细胞悬液,计数,以300/皿接种于6 cm的培养皿中,常规培养6~8 h,待细胞贴壁后分别接受0、2、4、6、8、10 Gy单次吸收剂量照射,每个剂量点设3个平行样本。照射后常规条件下培养2周后倒掉培养液,PBS漂洗2次,用甲醇固定,吉姆萨染色20 min,在低倍显微镜下计算>50个的克隆数。以0 Gy计算种植率(planting efficiency,PE)和细胞存活分数(survival fraction,SF),PE=未照射细胞的克隆形成数/接种细胞数;SF=照射后细胞的克隆形成数/(接种细胞数×PE)。根据单击多靶模型 $SF=1-[1-\exp(-D_o/D)^N]$ 拟合细胞存活曲线,获得 D_o、N、D_q、SF_2(surviving fraction after 2Gy)和放射增敏比(sensitive enhancement ratio,SER)等放射生物学参数值。

1.2.9 Western blot检测γ-H_2AX、Rad51蛋白表达 收集各组细胞,提取总蛋白,并进行定量。取60 μg总蛋白选择12%分离胶和5%浓缩胶进行SDS-PAGE电泳,将蛋白质电转印至PVDF膜,用含5%脱脂奶粉的TBST封闭2 h后,依次加入用封闭液稀释至1∶500的γ-H_2AX、Rad51一抗,4 ℃过夜,次日加封闭液稀释至1∶1 000的HRP标记的兔抗羊二抗温育2 h,用TBST洗涤3次,每次10 min,用ECL Plus化学发光法显影,胶片定影。Bio-Rad凝胶成像系统采集图片,结果用Quantity One软件进行光密度值分析,并设β-actin为内参对照。

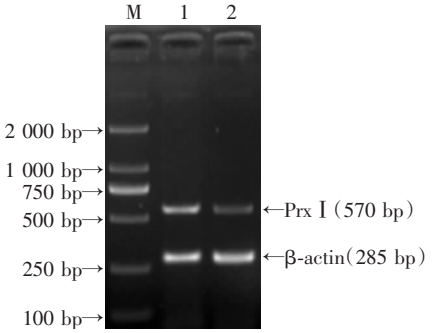
1.3 统计学处理

数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示,采用SPSS 13.0统计软件行单因素方差分析或*t*检验。

2 结果

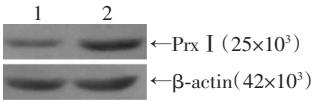
2.1 RT-PCR及Western blot检测稳定细胞株中PrxⅠmRNA和蛋白表达

通过G418加压筛选4周后获得2株稳定细胞:pGPU6-HK和pGPU6-PrxⅠ。通过RT-PCR及Western blot检测发现:pGPU6-PrxⅠ组中的PrxⅠmRNA及蛋白表达明显降低,分别降低了84.8%和83.5%。证实稳定细胞株pGPU6-PrxⅠ中的PrxⅠ的表达明显下调。见图1、2。



M:标准;1:pGPU6-HK;2:pGPU6-PrxⅠ

图1 RT-PCR检测PrxⅠmRNA表达



1:pGPU6-HK;2:pGPU6-PrxⅠ

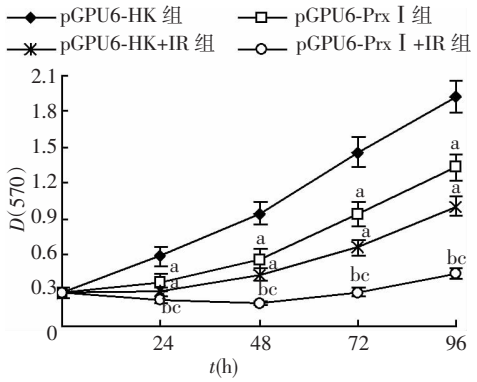
图2 Western blot检测PrxⅠ蛋白表达

2.2 流式细胞检测细胞中活性氧水平

pGPU6-HK组中活性氧为27.91,而pGPU6-PrxⅠ组中的活性氧为40.51,联合IR后活性氧水平明显提高,尤为pGPU6-PrxⅠ+IR组提高最为显著,达到了163.30。说明下调乳腺癌MCF-7细胞中PrxⅠ后,细胞清除活性氧能力明显减低。

2.3 MTT检测细胞增殖能力

依据各时间点测定的*D*(570)值,绘制细胞生长曲线发现:pGPU6-PrxⅠ及联合IR组的细胞增殖能力明显低于pGPU6-HK组($P<0.05$),以pGPU6-PrxⅠ+IR组更为明显(图3),在0~48 h内pGPU6-PrxⅠ+IR组细胞生长几乎停止,48 h后细胞的增殖能力有所恢复。



a:$P<0.05$,b:$P<0.01$,与pGPU6-HK组比较;c:$P<0.05$,与pGPU6-PrxⅠ组、pGPU6-HK+IR组比较

图3 MTT法检测细胞增殖能力

2.4 克隆形成率及放射生物学参数值

不同剂量X线照射后得到各组细胞的克隆形成率,经单击多靶模型拟合细胞存活曲线显示:与pGPU6-HK组比较,pGPU6-PrxⅠ组的放射生物学参数 D_o、N、D_q 和 SF_2 值均均降低,以 SF_2 计算得到的SER为1.353。见表1,图4。

表 1　各组细胞的放射生物学参数值

组别	D_0(Gy)	N	D_q(Gy)	SF_2	SER
pGPU6-HK 组	1.872	3.812	2.625	0.682	-
pGPU6-Prx Ⅰ组	1.354	3.106	1.547	0.504	1.353

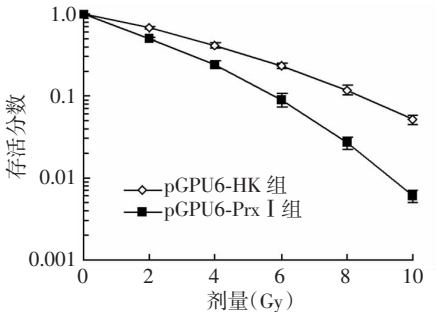


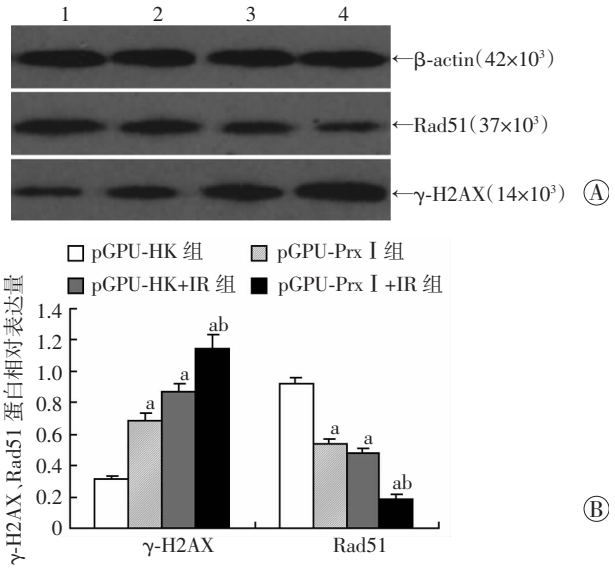
图 4　克隆形成实验检测细胞细胞存活率

2.5　细胞凋亡与细胞周期检测

pGPU6-Prx Ⅰ、pGPU6-HK + IR 及 pGPU6-Prx Ⅰ + IR 组中 G_0/G_1 期细胞比例增多，而 S 期细胞减少，细胞凋亡率明显增加，以 pGPU6-Prx Ⅰ + IR 组变化最为显著，与 pGPU6-HK 组相比，其差异均具有显著性（$P<0.01$）；且 pGPU6-Prx Ⅰ + IR 组与 pGPU6-Prx Ⅰ组、pGPU6-HK + IR 组比较差异也具有显著性（$P<0.05$）。见表 2。

2.6　Western blot 检测 γ-H_2AX、Rad51 蛋白表达变化

经过 pGPU6-Prx Ⅰ重组质粒及 IR 作用后，Rad51 蛋白表达明显降低，而 γ-H_2AX 蛋白表达明显升高，与 pGPU6-HK 组相比，差异具有显著性（$P<0.01$）；且 pGPU6-Prx Ⅰ + IR 组中的蛋白表达变化更为显著，与 pGPU6-Prx Ⅰ组、pGPU6-HK + IR 组相比，差异也具有显著性（$P<0.05$）；进一步灰度值分析发现：pGPU6-Prx Ⅰ + IR 组中 Rad51 蛋白表达下降了约 79.3%，而 γ-H_2AX蛋白表达升高了 3.7 倍（图 5）。



1：pGPU6-HK；2：PGPU6-Prx Ⅰ；3：pGPU6-HK + IR；4：pGPU6-Prx Ⅰ + IR

A：Western blot 检测结果；B：半定量分析结果　a：$P<0.01$，与 pGPU6-HK 比较；b：$P<0.01$，与 pGPU6-Prx Ⅰ组和 pGPU6-HK + IR 组比较

图 5　Western blot 检测 γ-H_2AX、Rad51 蛋白表达

表 2　流式细胞仪检测细胞周期和凋亡结果（$n=3$，%，$\bar{x}\pm s$）

组别	细胞周期			细胞凋亡率
	G_0/G_1	S	G_2/M	
pGPU6-HK 组	53.06 ± 2.45	37.46 ± 1.48	9.48 ± 0.58	1.12 ± 0.14
pGPU6-Prx Ⅰ组	64.49 ± 2.62[a]	25.34 ± 1.24[a]	9.97 ± 1.06	35.02 ± 1.57[a]
pGPU6-HK + IR 组	66.37 ± 3.16[a]	25.82 ± 1.32[a]	7.65 ± 0.46	54.81 ± 1.73[a]
pGPU6-Prx Ⅰ + IR 组	79.65 ± 3.54[ab]	13.08 ± 0.63[ab]	7.27 ± 0.37	74.68 ± 2.46[ab]

a：$P<0.01$，与 pGPU6-HK 组比较；b：$P<0.05$，与 pGPU6-Prx Ⅰ组和 pGPU6-HK + IR 组比较

3　讨论

放射生物学研究表明：电离辐射使肿瘤细胞中的水分子发生电离后产生大量活性氧族（reactive oxygen species，ROS），如过氧化氢、羟自由基和超氧阴离子等，这些活性氧族作用于肿瘤细胞核，使 DNA 单链或双链断裂，从而引起肿瘤细胞增殖性死亡达到治疗肿瘤的目的。肿瘤细胞中也存在一系列清除活性氧族的酶，如过氧化氢酶、过氧化物酶以及 Prxs。Prxs 是新近发现的抗氧化蛋白超家族，广泛存在于原核和真核生物中，具有强大的抗氧化和清除自由基的作用。Prx Ⅰ作为 Prxs 蛋白家族中的成员，在乳腺癌、肺癌和结直肠癌等肿瘤组织呈高表达[2-4]，Prx Ⅰ高表达可增强肿瘤细胞的抗氧化能力，减少活性氧自由基产生[10]。近年研究显示：Prx Ⅰ与肿瘤细胞放射敏感性密切相关。Chen 等[5-6]发现在结肠癌和胶质瘤细胞中 Prx Ⅰ的表达具有放射保护作用，而下调 Prx Ⅰ的表达可抑制肺癌细胞的生长，提高肿瘤细胞的放射敏感性。Zhang 等[7]采用 RNA 干扰下调结肠癌 SW480 细胞中 Prx Ⅰ表达，可抑制细胞生长，并增加对放射线的敏感性。因此，Prx Ⅰ可能是肿瘤细胞放射增敏的理想靶点。

本实验我们将前期实验构建成功的 pGPU6-HK、pGPU6-Prx Ⅰ重组质粒转染入乳腺癌 MCF-7 细胞，经过筛选得到 2 个稳定细胞株，检测显示 pGPU6-Prx Ⅰ组细胞中的 Prx Ⅰ mRNA 和蛋白表达均明显抑制。当给予 IR 处理后 pGPU6-Prx Ⅰ + IR 组细胞内活性氧水平显著升高，由 27.91 升高至 163.30，而细胞增殖能力明显受抑。

Pawlik 等[11]认为细胞周期调控是细胞放射敏感性的重要决定因素，处于不同阶段的细胞对放射敏感性也不相同，其中 G_2/M 期细胞对放射最敏感，G_1 期细胞相对敏感，而 S 期对放射抗拒。细胞周期和凋亡检测结果显示：放疗相对敏感的 G_1 期细胞在 pGPU6-Prx Ⅰ + IR 组增多，而放射抗拒的 S 期细胞明显减少，且细胞

凋亡率显著增加。放射生物学参数 D_o、N、D_q和 SF_2值也是评价细胞放射敏感性的重要指标。N、D_q代表存活曲线的肩宽,表示细胞对放射的亚致死损伤修复能力的大小,D_o表示平均致死剂量,上述3参数中任意2个在一定程度上可反映细胞的放射敏感性。本实验结果显示:pGPU6-PrxⅠ组中的 D_o、N、D_q和 SF_2值均明显降低,而2 Gy照射剂量时的SER为pGPU-HK组的1.353倍。说明沉默PrxⅠ基因后,乳腺癌MCF-7细胞对X线的平均致死剂量变小、亚致死损伤修复能力减弱,放射生物学效应得以提高,进而促进其对放射线的敏感性。

DNA双链断裂(double strand break,DSB)是电离辐射对DNA的重要损伤类型。DNA发生双链断裂后最早反应是位于断裂点附近的组蛋白H2AX的C末端丝氨酸残基发生磷酸化,形成 γ-H_2AX[12]。磷酸化的 γ-H_2AX 快速转导DNA损伤信号,激活下游分子,从而促发一系列的生物级联反应。γ-H_2AX 是迄今所研究的最重要的DNA损伤感应分子。研究表明DSB处的 γ-H_2AX 产生数量与双链断裂的数量间成正相关[13],目前 γ-H_2AX 已成为DSB的分子标志[14]。真核细胞修复DSB主要通过非同源末端连接和同源重组,后者是高度保守、无误的修复DBS途径,其中Rad51蛋白在此过程中发挥重要作用[15-16]。Rad51基因缺陷的细胞因DSB修复减少引起染色体断裂增加,而高表达Rad51蛋白的细胞对电离辐射抵抗力增强[17]。采用Western blot法检测 γ-H_2AX、Rad51蛋白表达发现,pGPU6-PrxⅠ+IR组中的Rad51蛋白表达明显降低,而 γ-H_2AX 蛋白表达显著升高。表明下调PrxⅠ基因表达后,DNA双链断裂增多,而DNA损伤后修复能力明显降低。

本实验证实靶向沉默PrxⅠ基因后,通过提高细胞活性氧水平、抑制细胞增殖、调控细胞周期再分布、促进细胞凋亡、降低细胞亚致死损伤修复能力增加了乳腺癌MCF-7细胞的放射敏感性,其作用机制可能与细胞内活性氧清除能力减弱、DNA双链断裂增加及DNA损伤后修复能力降低有关。在后续研究中,我们将通过动物实验进一步验证上述结果。

参考文献:

[1] Manevich Y, Sweitzer T, Pak J H, *et al*. 1-Cys peroxiredoxin overexpression protects cells against phospholipid peroxidation-mediated membrane damage [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2002, 99(18): 11599-11604.

[2] Cha M K, Suh K H, Kim I H. Overexpression of peroxiredoxin I and thioredoxin1 in human breast carcinoma [J]. J Exp Clin Cancer Res, 2009, 28(1): 93.

[3] Kim J H, Bogner P N, Baek S H, *et al*. Up-regulation of peroxiredoxin 1 in lung cancer and its implication as a prognostic and therapeutic target[J]. Clin Cancer Res, 2008, 14(8): 2326-2333.

[4] Wu X Y, Fu Z X, Wang X H. Peroxiredoxins in colorectal neoplasms [J]. Histol Histopathol, 2010, 25(10): 1297-1303.

[5] Chen W C, McBride W H, Iwamoto K S, *et al*. Induction of radioprotective peroxiredoxin-I by ionizing irradiation[J]. J Neurosci Res, 2002, 70(6): 794-798.

[6] Chen M F, Keng P C, Shau H, *et al*. Inhibition of lung tumor growth and augmentation of radiosensitivity by decreasing peroxiredoxin I expression[J]. Int J Radiat Oncol Biol Phys, 2006, 64(2): 581-591.

[7] Zhang B, Wang Y, Liu K, *et al*. Adenovirus-mediated transfer of siRNA against peroxiredoxin I enhances the radiosensitivity of human intestinal cancer[J]. Biochem Pharmacol, 2008, 75(3): 660-667.

[8] Zhang B, Wang Y, Su Y. Peroxiredoxins, a novel target in cancer radiotherapy[J]. Cancer Lett, 2009, 286(2): 154-160.

[9] 郭启帅, 黄曦, 张俊, 等. 靶向Peroxiredoxin Ⅰ基因的shRNA真核表达载体的构建及生物学功能鉴定[J]. 第三军医大学学报, 2011, 33(2): 132-136.

[10] Chang J W, Jeon H B, Lee J H, *et al*. Augmented expression of peroxiredoxin I in lung cancer[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2001, 289(2): 507-512.

[11] Pawlik T M, Keyomarsi K. Role of cell cycle in mediating sensitivity to radiotherapy[J]. Int J Radiat Oncol Biol Phys, 2004, 59(4): 928-942.

[12] Skalka A M, Katz R A. Retroviral DNA integration and the DNA damage response[J]. Cell Death Differ, 2005, 12 Suppl 1: 971-978.

[13] Yu T, MacPhail S H, Banath J P, *et al*. Endogenous expression of phosphorylated histone H2AX in tumors in relation to DNA double-strand breaks and genomic instability[J]. DNA Repair (Amst), 2006, 5(8): 935-946.

[14] Vasireddy R S, Tang M M, Mah L J, *et al*. Evaluation of the spatial distribution of gammaH2AX following ionizing radiation[J]. J Vis Exp, 2010, 7(42): 2203.

[15] Daboussi F, Dumay A, Delacote F, *et al*. DNA double-strand break repair signalling: the case of RAD51 post-translational regulation[J]. Cell Signal, 2002, 14(12): 969-975.

[16] Ward J D, Muzzini D M, Petalcorin M I, *et al*. Overlapping mechanisms promote postsynaptic RAD-51 filament disassembly during meiotic double-strand break repair[J]. Mol Cell, 2010, 37(2): 259-272.

[17] Vispe S, Cazaux C, Lesca C, *et al*. Overexpression of Rad51 protein stimulates homologous recombination and increases resistance of mammalian cells to ionizing radiation[J]. Nucleic Acids Res, 1998, 26(12): 2859-2864.

(收稿:2011-03-16;修回:2011-04-13)

(编辑 龙 亮)