DOI:10.16016/j.1000-5404.201412237

论著

X线诱导肺腺癌SPC-A-1细胞发生Parthanatos

孙恒文[1],曾子君[1],方良毅[1],谭佩欣[1],谢松喜[1],张红丹[1],潘 燚[1],高东升[2][510080 广州,广东省人民医院(广东省医学科学院)肿瘤中心放疗科[1];516400 广东 海丰,广东医学院附属彭湃纪念医院肿瘤科[2]]

[摘要] **目的** 初步探讨X线诱导肺癌SPC-A-1细胞是否发生新的细胞死亡形式Parthanatos。**方法** 以肺腺癌SPC-A-1细胞为研究对象,以1、2、4、6、8、10 Gy梯度剂量辐射细胞,平板克隆法测定X线辐射对人肺癌细胞SPC-A-1的半数致死剂量(LD_{50}),WST-1法进行验证。LD_{50}辐射细胞后4、8、12、24 h,RT-PCR法检测细胞AIF转录水平变化,Western blot检测细胞AIF蛋白表达变化,激光共聚焦观察细胞AIF向细胞核内转移情况,Western blot检测细胞辐射后不同时间AIF在线粒体蛋白组分和核蛋白组分中的分布变化。TUNEL法检测辐射后12 h细胞核DNA的断裂。**结果** X线对SPC-A-1细胞的LD_{50}大致为3 Gy。以3 Gy辐射细胞后不同时间AIF在转录、蛋白水平均无显著变化($P>0.05$)。辐射后12 h AIF由线粒体向细胞核转位,伴随细胞核的溶解、碎裂。亚细胞组分Western blot检测到12 h后AIF在线粒体蛋白组分中显著下降,由对照组的1.12 ± 0.15下降至12 h组的0.21 ± 0.07($P<0.05$),而在核蛋白组分中显著上升,由对照组的0.05 ± 0.02上升至12 h组的0.45 ± 0.07($P<0.05$),同时在固缩的细胞核中检测到DNA的断裂。**结论** AIF核转位参与了X线诱导的细胞凋亡过程。辐射后12 h AIF由线粒体向细胞核转位显著增多,导致细胞核固缩、碎裂、溶解,细胞发生了Parthanatos。

[关键词] AIF;X线辐射;核转位;肺癌细胞SPC-A-1;Parthanatos

[中图法分类号] R73-36;R730.55;R735.9 [文献标志码] A

X-ray irradiation induces parthanatos in human lung adenocarcinoma SPC-A-1 cells

Sun Hengwen[1], Zeng Zijun[1], Fang Liangyi[1], Tan Peixin[1], Xie Songxi[1], Zhang Hongdan[1], Pan Yi[1], Gao Dongsheng[2] ([1]Department of Radiotherapy, Cancer Center, Guangdong Provincial People's Hospital (Guangdong Academy of Medical Sciences), Guangzhou, Guangdong Province, 510080; [2]Department of Oncology, Pengpai Memorial Hospital, Guangdong Medical College, Haifeng, Guangdong Province, 516400, China)

[**Abstract**] **Objective** Parthanatos (*thanatos is god of death in Greek mythology*) is a new form of cell death, which often occurs under the many kinds of stimulus. We investigate whether it occurs in SPC-A-1 cells induced by X-ray irradiation. **Methods** Immunohistochemical assay and immunofluorescence staining were used to confirm the expression of apoptosis inducing factor (AIF) located in normal culture of SPC-A-1 cells. Then the median lethal dose (LD_{50}) of SPC-A-1 cells was determined after the cells were treated by1, 2, 4, 6, 8 and 10 Gy X-rays irradiation by colony-forming assay and then confirmed by WST-1 assay. The expression of AIF at mRNA and protein levels was measured by RT-PCR and Western blot assay respectively after the cells were treated by LD_{50} X-rays irradiation for 4, 8, 12 or 24 h. At the same time, AIF translocation from the mitochondria to the nucleus was observed by laser scanning confocal microscopy. Western blotting was used to detect the changes of AIF redistribution in the mitochondrial and nuclear protein components. The nuclear DNA strand breaks were observed by TUNEL assay after 12 hours' treatment. **Results** The LD_{50} of SPC-A-1 cells was 3 Gy to X-ray irradiation. No obvious changes were seen in the mRNA or protein levels of AIF at the different time points after irradiation treatment ($P>0.05$). AIF was translocated from the mitochondrium to nucleus, accompanied by nuclear DNA dissolution and fragmentation after 12 hours' treatment. The AIF level was decreased from 1.12 ± 0.15 to 0.21 ± 0.07 in the mitochondrial

[基金项目] 国家自然科学基金青年基金(81302033)

[通信作者] 孙恒文,E-mail:sunrise761114@foxmail.com

[优先出版] http://www.cnki.net/kcms/detail/51.1095.R.20150617.0912.014.html(2015-06-17)

components after 12 hours' treatment ($P<0.05$), and that in the nuclear components was increased from 0.05±0.02 to 0.45±0.07 ($P<0.05$). The DNA strand breaks were detected in the nuclear at the same time point. **Conclusion** Nuclear translocation of AIF is involved in the death of SPC-A-1 cells induced by X-ray irradiation. X-ray irradiation of 3 Gy for 12 h results in the translocation of AIF from mitochondrium to nucleus, and then nuclear chromatin condensation, fragmentation and dissolution, and then Parthanatos.

[**Key words**] Parthanatos; apoptosis inducing factor; X-ray irradiation; nuclear translocation; human lung adenocarcinoma SPC-A-1 cells

Supported by the National Nature Science Foundation for Young Scholars of China (81302033). Corresponding author: Sun Hengwen, E-mail: sunrise761114@foxmail.com

Parthanatos 被 Harrza[1]定义为多聚 ADP 核糖聚合酶-1(PARP-1)/AIF/核酸内切酶 G(EndoG)线粒体凋亡途径,一种新的细胞死亡形式。其机制为凋亡因素刺激下 PARP-1 由细胞核转位至线粒体,继而线粒体膜孔开放,导致 AIF 和 EndoG 由线粒体转位至细胞核,引起细胞核 DNA 大片段(50 kb)断裂[2]。而且,这种凋亡途径是 Caspase 非依赖性的,更加直接、迅速[3]。Wang 等[4]认为 AIF 是 Parthanatos 中的关键分子,AIF 的核转位是这种死亡途径的重要特征。AIF 定位于线粒体内膜,参与氧化呼吸链的构成,在刺激因素作用下,转位至细胞核,结合与 DNA 螺旋深沟处,募集 EndoG 等,使 DNA 断裂,导致细胞死亡[5]。目前研究发现,多种刺激因素可导致 AIF 核转位,导致细胞凋亡。医用 X 线是否也能诱导肺癌细胞 AIF 核转位,引起核 DNA 断裂,从而导致细胞凋亡,尚不清楚。本研究首先用 IHC 法和免疫荧光 IF 法证实 AIF 在 SPC-A-1 细胞中的定位,然后用平板克隆形成法和 WST-1 法测定 X 线对细胞的半数致死剂量(LD_{50})。LD_{50}辐射 SPC-A-1 细胞,激光共聚焦观察两种细胞 AIF 由胞浆向胞核转移的形态学变化及核凋亡形态变化。RT-PCR、Western blot 技术分析辐射后不同时间 AIF 基因在 mRNA 水平和蛋白水平的表达情况。最后运用亚细胞组分 Western blot 技术定量分析 AIF 由线粒体向细胞核的转位。TUNEL 证实辐射后细胞 DNA 断裂的早期凋亡现象。证实 Parthanatos 是否在 X 线辐射后的肺腺癌 SPC-A-1 中发生,以期为肺癌辐射敏感性调控研究奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料

人肺腺癌细胞系 SPC-A-1 购自中国医学科学院上海生物细胞研究所。倒置荧光显微镜及照相系统(Leica 公司),激光共聚焦显微镜(ReverTra Ace 逆转录试剂盒、KOD Plus PCR 试剂盒(日本 TOYOBO 公司),WST-1 细胞毒性及细胞增殖检测试剂盒(杭州 Beyotime 公司),MP-3 型小型转膜仪(美国 Bio-Rad 公司),PCR 仪(Techgene 公司)。Hoechst33342(美国 Sigma 公司),标准胎牛血清(天津 TBD 公司),RPMI1640 培养基,辣根酶标记兔抗山羊 IgG、辣根酶标记山羊抗小鼠 IgG、FITC 标记兔抗山羊 IgG(北京中杉金桥公司),山羊抗人 AIF 抗体、小鼠抗人 Actinβ 抗体(Santa Cruz 公司),DNA maker(200~2 000 bp,杭州博日),Mitotracker red 线粒体荧光染色剂(美国 Invitrogen 公司),亚细胞蛋白组分提取试剂盒、TUNEL 法凋亡检测试剂盒(杭州碧云天公司)。

1.2 细胞培养

SPC-A-1 细胞用 RPMI1640 培养基(含 10% 胎牛血清)培养,置入 37 ℃、5% CO_2 孵箱,2~3 d 换液 1 次,细胞长满 80% 后用 0.25% 胰酶消化、传代。取对数生长期细胞计数接种,用于后续实验。

1.3 免疫组化及免疫荧光

对数生长期的 SPC-A-1 细胞接种于 6 孔板内盖玻片上,继续培养 12~18 h 使细胞贴壁。免疫组化利用 Santa Cruz 公司山羊抗人 AIF 多克隆抗体、北京中杉金桥辣根酶标记兔抗山羊 IgG 标记二抗和 DAB 显色试剂盒说明进行。4 ℃ 4% 多聚甲醛固定 20 min,3% H_2O_2 封闭 10 min,37 ℃ 5% BSA 封闭 30 min,在载玻片上滴加 20 μL 山羊抗人 AIF 抗体(1∶200),4 ℃孵育过夜,辣根酶标记兔抗山羊 IgG 稀释度(1∶200)37 ℃孵育 30 min,DAB 显色液显微镜下显色,苏木精复染,用乙醇梯度脱水,中性树胶封皮,Leica 显微镜下观察 AIF 在正常培养细胞中定位情况。

IF 使用 FITC 标记兔抗山羊 IgG 作为二抗,1% Triton X-100 渗透 25 min,AIF 一抗孵育同免疫组化,FITC 标记兔抗山羊 IgG 稀释度(1∶150),37 ℃孵育,Hoechst33342 对核复染,Leica 显微镜下观察和扫描。FITC 为明亮的黄绿色荧光。Hoechst33342 为蓝色荧光。

1.4 细胞辐射

本实验使用数字化直线加速器 23EX(美国 VARIAN 公司),射线能量 6 MV,剂量率 400 cGy/min。细胞放疗时表面以 2 cm 厚补偿膜辅助剂量建成。

1.5 平板克隆实验

对数生长期细胞,配成单细胞悬液,接种于 6 孔板中,不同剂量组对应接种细胞的数目:对照(200)、

1 Gy(200)、2 Gy(200)、4 Gy(200)、6 Gy(400)、8 Gy(600)、10 Gy(600),每组设3个重复孔。接种后培养24 h使细胞贴壁,辐射细胞后继续培养10~14 d,直至出现可见克隆,甲醇固定15 min,1%结晶紫染色30 min。在显微镜下计数大于50个细胞的克隆数,按公式计算接种效率(PE)。PE=(对照组克隆数/对照组接种细胞数)×100%。统计存活率(SF):SF=(实验组克隆数/细胞接种数×PE)×100%;绘制细胞存活曲线,大致推算半数致死剂量LD_{50}。

1.6 WST-1法测定辐射杀伤作用

WST-1是MTT的一种升级产品,被线粒体脱氢酶还原生成的formazan是水溶性的,省去了后面的溶解步骤,较MTT更简便且更加稳定,灵敏性更高。对数生长期细胞,制备成单细胞悬液,以每孔2 000个细胞接种于96孔培养板,各组设3个重复孔。继续培养24 h,以1、2、4、6、8、10 Gy辐射细胞,未经辐射细胞作为对照组。放入孵箱继续培养72 h,每孔加入WST-1 20 μL,37 ℃继续培养4 h;放入酶标仪,以450 nm为测定波长,以620 nm为参考波长进行双波长测定光密度值,按公式计算细胞存活率:细胞SF=各剂量组光密度值/对照组光密度值。绘制存活曲线,推算LD_{50}。

1.7 RT-PCR法检测AIF转录

对数生长期细胞以LD_{50}辐射,辐射后4、8、12、24 h提取总RNA。收集辐射后细胞,离心后加入1 mL TRIzol充分裂解,200 μL氯仿/异戊醇(24∶1),剧烈振荡30 s,台式离心机上12 000 r/min,室温离心5 min;取上清加入等体积的异丙醇,室温下放置5 min;离心后弃上清液,即为总RNA,70%乙醇洗涤后自然干燥,50 μL DEPC-H_2O溶解,分光光度器测量,计算产率,并测定纯度。

按试剂盒说明书进行RNA变性及逆转录。AIF引物采用文献[6]已报道序列,上游引物5′-ATGTTAGGGCTGACACCAGAACAG-3′,下游引物5′-GTGGGGCCTCAGTCTTCATG-3′,目的基因长度1 536 bp;GAPDH上游引物5′-GGCTCTCCAGAACATCAT-3′,下游引物5′-CACCTGGTGCTCAGTGTA-3′,目的基因长度400 bp。灭菌蒸馏水33 μL,10×PCR Buffer 5 μL,10 mmol/L dNTP Mixture 5 μL,25 mmol/L $MgSO_4$3 μL,上游引物1 μL,下游引物1 μL,KOD-plus 1 μL,样品CDNA 1 μL,总体系50 μL。AIF 94 ℃ 2 min,98 ℃ 10 s,62 ℃ 30 s,68 ℃ 90 s,30个循环,68 ℃ 2 min,4 ℃保存;GAPDH 94 ℃ 2 min,98 ℃ 10 s,62 ℃ 30 s,68 ℃ 30 s,30个循环,68 ℃ 2 min,4 ℃保存。取5 μL PCR产物,1%琼脂糖凝胶60 V电泳30 min,在凝胶成像仪中摄像并保存。Bio-Rad公司Quantity one凝胶成像仪附带图像分析模块进行图像分析,测定各条带光密度值,结果以积分光密度值(IOD)表示,实验重复3次。

$$\text{mRNA相对含量}=\frac{\text{目的基因条带积分光密度值}}{\text{内参GAPDH条带积分光密度值}}\times 100\%$$

1.8 Western blot检测蛋白表达

对数生长期SPC-A-1细胞,LD_{50}辐射后4、8、12、24 h抽提蛋白。收集细胞加入500 μL RIPA及3~5 μL PMSF,冰上裂解30 min,离心取上清,加入1/4体积5×SDS还原型蛋白上样缓冲液,沸水煮5 min后冻存。用丙烯酰胺和过硫酸铵按不同比例配置分离胶和积层胶。对照组及4、8、12、24 h组每组上样20 μg,垂直电泳直至溴酚蓝到达分离胶底部。将滤纸、NC膜、凝胶在电转液中浸泡。恒流电转1 h。室温下用5%脱脂奶粉常温封闭2 h,4 ℃一抗孵育大于18 h,AIF及β-actin一抗稀度为1∶1 000;用TBST漂洗3次×10 min;二抗工作液浸泡滤膜(二抗稀释度为1∶10 000),37 ℃摇床孵育1 h;TBST漂洗3次×10 min;ECL Advance化学发光试剂将膜完全浸透于混合液中1 min;凝胶成像仪中成像并拍照保存结果。同样方法测定IOD并计算AIF蛋白相对含量。

1.9 激光共聚焦观察

AIF荧光标记部分同免疫荧光,观察辐射后AIF在细胞中的位置变化。细胞核标记使用Hoechst33342蓝色荧光,观察辐射后细胞核形态变化。线粒体标记用Mtotracker red为红色荧光。激光共聚焦显微镜下分别获取单色荧光照片,并进行融合。

1.10 亚细胞组分Western blot检测蛋白表达

按照杭州碧云天公司亚细胞组分提取试剂盒步骤进行。对数生长期细胞以LD_{50}辐射细胞,辐射后4、8、12、24 h提取线粒体蛋白和核蛋白。以未辐射细胞作为对照组。每20毫升细胞压积中加入200 μL预冷Buffer A,剧烈振荡细胞15 s,冰上放置15 min;加入11 μL冷Buffer B,充分剧烈振荡5 s,4 ℃ 16 000×g离心5 min;上清即为线粒体蛋白;在离心沉淀物中加入100 μL预冷的Buffer C,最大速度振荡15 s,冰上40 min,每隔10 min漩涡振荡15 s,4 ℃ 16 000×g离心10 min,上清即为核蛋白。蛋白电泳、转膜、杂交、发光部分同1.6。核蛋白组分用Histone做内参照,线粒体蛋白组分用COX4做内参照,计算AIF在不同蛋白组分内的相对含量。

1.11 TUNEL法检测细胞凋亡

对数生长期细胞铺片,以LD_{50}辐射细胞,继续培养12 h。按照一步法TUNEL凋亡检测试剂盒步骤,用0.1% Triton X-100冰浴孵育,取试剂盒中TdT酶2 μL,荧光标记液48 μL,配置成50 μL TUNEL检测液。37 ℃孵育60 min,荧光淬灭封片液封片后荧光显微镜下观察。DNA断端呈现绿色荧光。

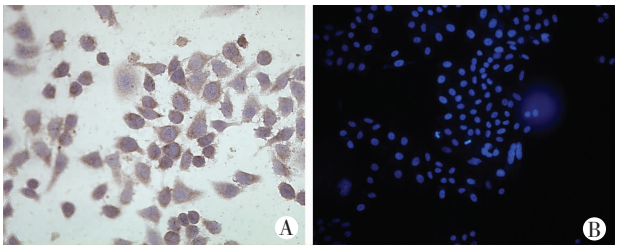
1.12 统计学分析

采用 SPSS 13.0 统计软件，数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示，采用单因素方差分析。

2 结果

2.1 AIF 在常规培养细胞中定位

SPC-A-1 细胞在 RPMI1640 培养基中生长状态稳定，增殖能力旺盛。IHC 结果显示细胞质中呈棕色染色，细胞核为苏木精复染呈淡蓝色，提示 AIF 定位于胞浆中(图 1A)。IF 结果显示 AIF 为 FITC 二抗标记，呈绿色荧光分布于胞浆中，细胞核以 Hoechst33342 标记，呈蓝色荧光(图 1B)。



A：免疫组化染色(×200)；B：免疫荧光染色(×100)

图 1 免疫组化及免疫荧光观察 AIF 在 SPC-A-1 细胞中定位

2.2 平板克隆法及 WST-1 法测定 LD_{50}

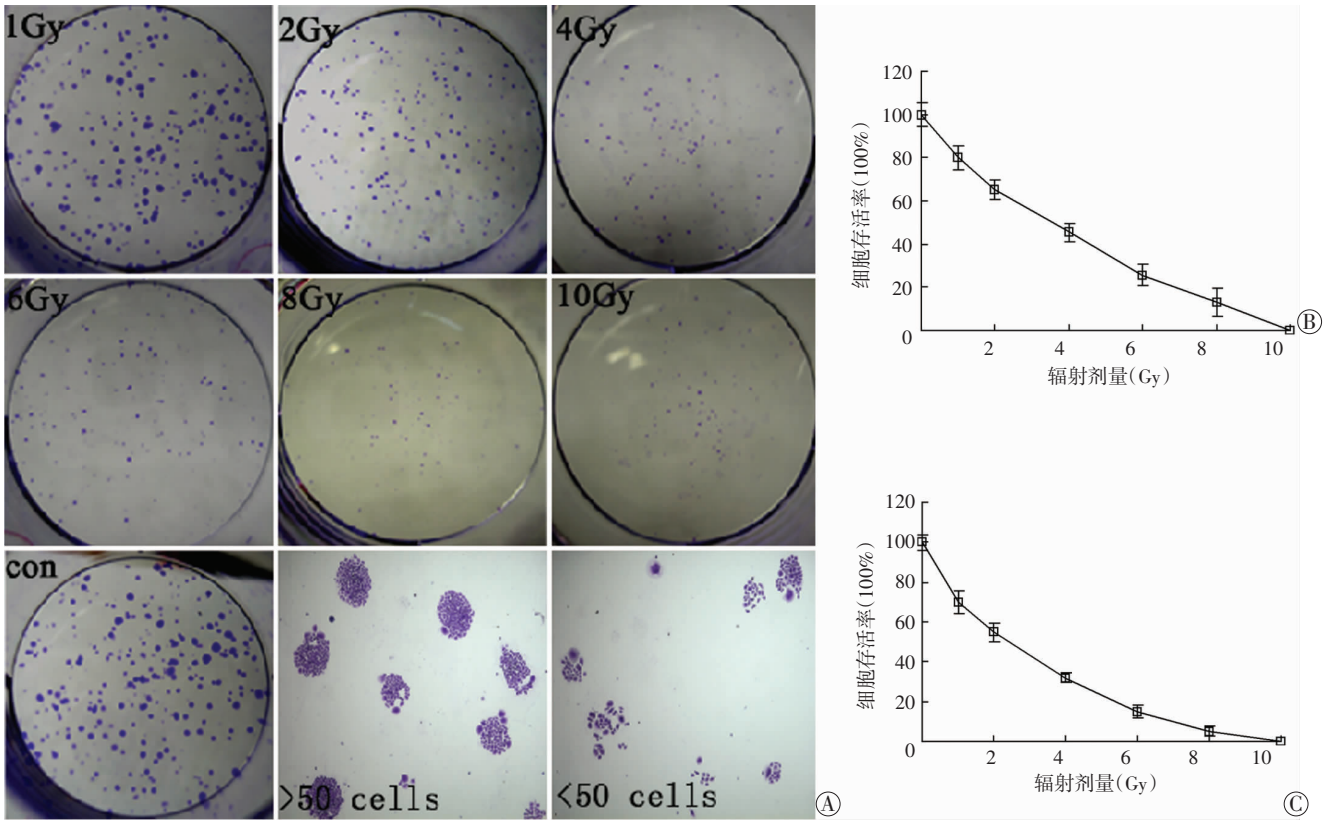
未辐射细胞作为对照组，将各剂量组细胞接种于 6 孔板中，培养 14 d 后肉眼可见克隆形成，随辐射剂量增高，克隆数逐渐减少(图 2A)。有些克隆的细胞数不足 50(图 2A)，计数大于 50 个细胞的克隆(图 2A)，并计算细胞存活率。以辐射剂量为横坐标，细胞存活率为纵坐标绘制细胞存活曲线(图 2B)。WST-1 法测定各剂量组细胞存活率，以辐射剂量为横坐标，细胞存活率为纵坐标绘制细胞存活曲线(图 2C)。经两种方法测定推算，X 线对 SPC-A-1 的 LD_{50} 大致为 3 Gy。

2.3 RT-PCR 及 Western blot 检测辐射后 AIF 表达变化

3 Gy 辐射细胞后 4、8、12、24 h RT-PCR 产物电泳图(图 3A)，对照组为以双蒸水为模板 PCR，证实无假阳性，经统计分析 AIF 转录水平无变化($P>0.05$，图 3B)。辐射后不同时间组 AIF Western blot 电泳图(图 3C)，蛋白表达差异无统计学意义($P>0.05$，图 3D)。

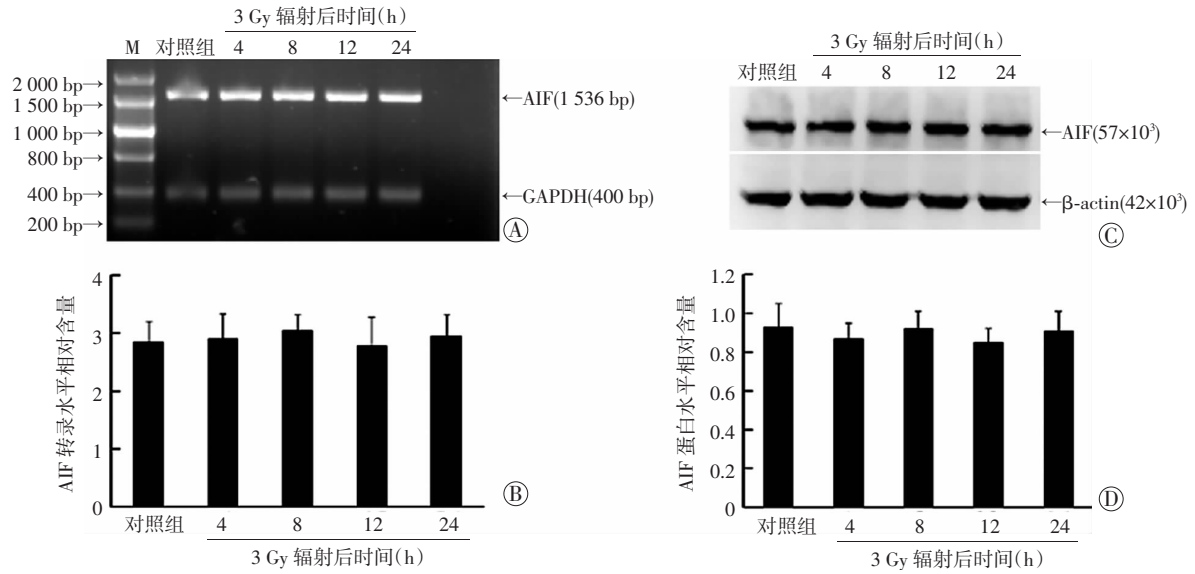
2.4 激光共聚焦观察 AIF 转位

3 Gy 辐射后 AIF 逐渐由线粒体向细胞核转位，12 h 后观察到线粒体释放 AIF 至胞浆，而后定位于细胞核，伴随着细胞核的溶解、碎裂。AIF 为免疫荧光染色，以 FITC 为二抗标记，呈绿色荧光。细胞核以 Hoechst 33342 染色，呈蓝色荧光。线粒体以 Mtotracker 标记，呈红色荧光。将这三种染色图像融合，即成为融合图(图 4)。



A：平板克隆实验结晶紫染色图，大于 50 个细胞克隆和小于 50 个细胞克隆(×50)；B：平板克隆法绘制细胞生存曲线；C：WST-1 法绘制细胞生存曲线

图 2 平板克隆法图像及 WST-1 法测定 LD_{50}



A:RT-PCR 检测;B:各时间组 AIF mRNA 相对表达量;C:Western blot 检测;D:各时间组 AIF 蛋白相对表达量

图 3 RT-PCR 及 Western blot 检测辐射后不同时间组 AIF 表达变化

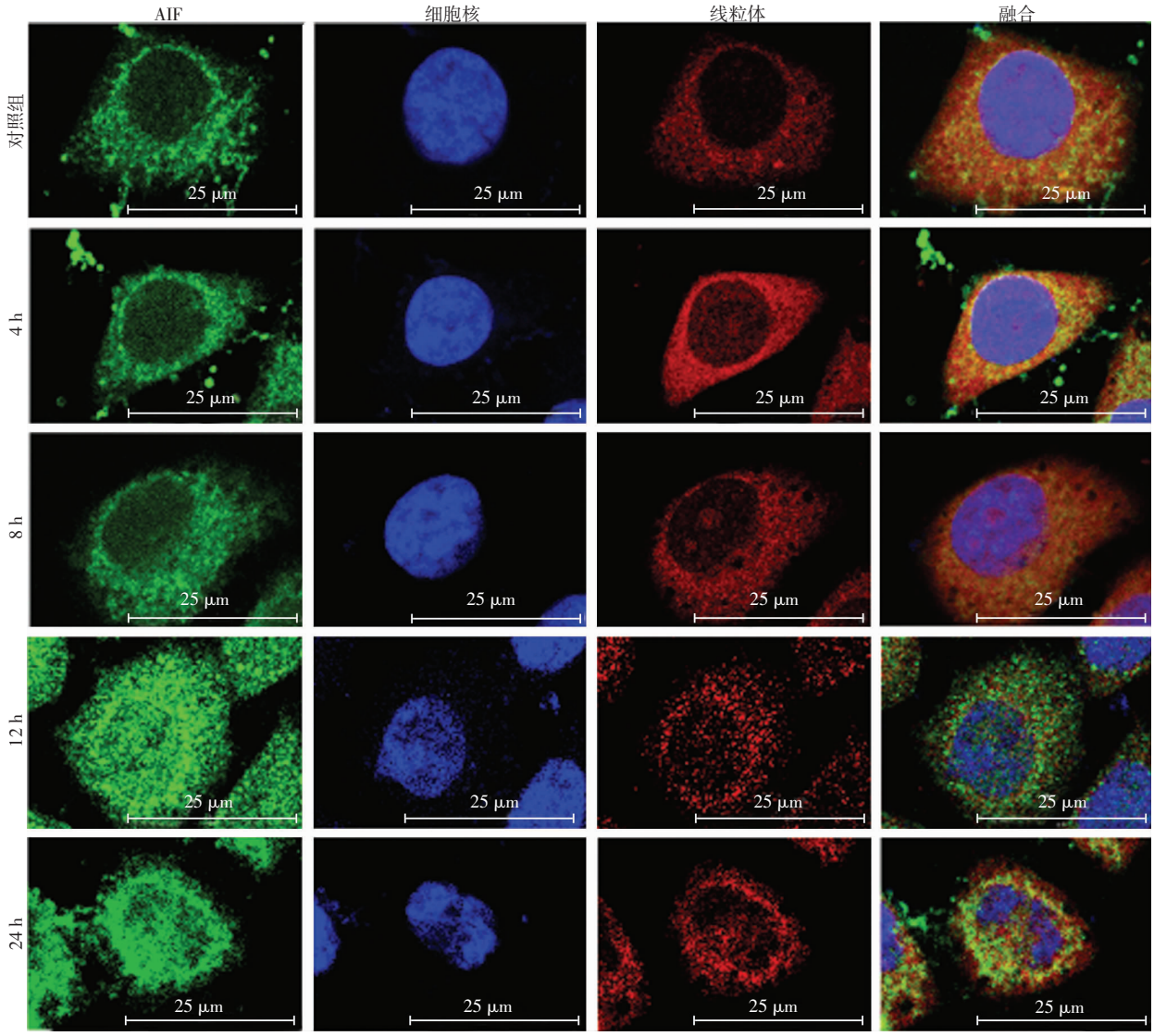
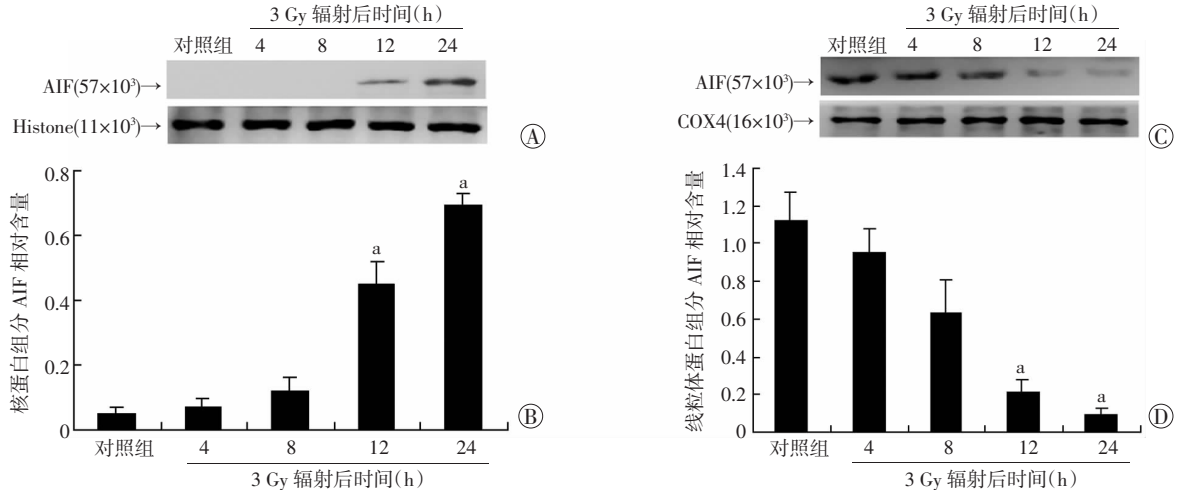


图 4 3 Gy 辐射后各时间组 AIF、细胞核、线粒体荧光图及融合图



A:细胞核蛋白组分 AIF Western blot 检测结果;B:细胞核蛋白组分 AIF 相对表达量 a:$P<0.05$,与其他组比较;C:线粒体蛋白组分 AIF Western blot 检测结果;D:线粒体蛋白组分 AIF 相对表达量 a:$P<0.05$,与其他组比较

图 5 亚细胞组分 Western blot 检测 AIF 蛋白的表达

2.5 亚细胞组分 Westen blot 检测

辐射 12 h 在细胞核蛋白组分中检测到 AIF,24 h 逐渐增多(图 5A),统计分析提示 12 h AIF 在核蛋白组分中含量显著上升($P<0.05$,图 5B)。辐射后 12 h 后,AIF 在线粒体组分含量逐渐减少(图 5C),经统计分析 12 h 后显著下降($P<0.05$,图 5D)。

2.6 TUNEL 检测细胞凋亡

细胞核染色发现,3 Gy 剂量辐射细胞 12 h 后,部分细胞核出现固缩、浓集。TUNEL 染色发现辐射 12 h 后,部分细胞核出现绿色荧光染色,证实了随着细胞核的浓集,细胞核 DNA 断裂这种凋亡早期事件的发生(图 6)。

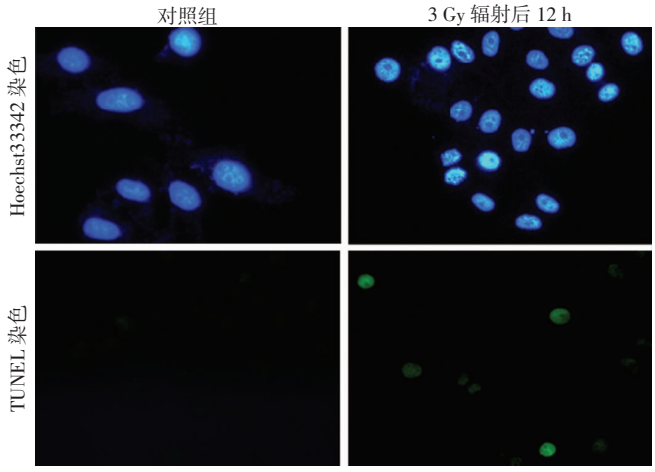


图 6 3 Gy 辐射 12 h 后细胞核 Hoechst33342 染色及 TUNEL 染色观察 (×100)

3 讨论

Parthanatos 一种新的细胞死亡形式,这种死亡形式不同于坏死、凋亡、程序性坏死和自噬,特征是核 DNA 断裂成 50 kb 的片段,而非凋亡产生 180~200 bp 或其整数倍的 DNA 片段形成的 DNA Ladder。且这种程序性死亡方式更为直接迅速。AIF 由线粒体向细胞核的转位是这种死亡机制中的特征,不需要 Caspase 的参与。1999 年,AIF 被 Susin 等[7]首次鉴定和克隆。在正常情况下,AIF 定位于线粒体膜间腔,参与能量代谢,在某些刺激因素作用下,AIF 从线粒体中释放至胞浆,进入细胞核,通过 EndG 对 DNA 切割,导致细胞核溶解、浓缩、碎裂。并且这个过程不能被 Caspase 抑制剂阻断,因此是 Caspase 途径外新的凋亡途径,Hazza 首次将其命名为 Parthanatos。深入研究发现 AIF 普遍参与多种刺激因素下细胞的凋亡过程。噪声[8]、低剂量 X 射线[9]、中子和 γ 射线[10]、顺铂[11]、伊马替尼[12]、黄连素[13]、塞来昔布[14]等均可导致不同的细胞凋亡,且 AIF 由线粒体向细胞核转位[15]。因此,Parthanatos 是普遍存在的细胞死亡形式,AIF 是 Parthanatos 中的关键分子,而 AIF 的核转位是 Parthanatos 的重要特征。医用高能 X 线能否诱导肺腺癌 SPC-A-1 细胞中的 AIF 发生核转位,是否激活了 Parthanatos,尚少见报道。本研究重点关注 Parthanatos 中的关键蛋白 AIF 的核转位现象。在正常培养的 SPC-A-1 细胞中,AIF 定位于细胞质中。测得 3 Gy 为 LD_{50},以此剂量辐射细胞,发现辐射后不同时间 AIF 无论在 mRNA 水平还是蛋白水平均无显著变化。形态

学上,发现细胞受到辐射 12 h 后,AIF 由线粒体转位至细胞核,伴随着细胞核的溶解、碎裂。亚细胞组分定量分析同样发现 AIF 在辐射 12 h 后 AIF 在核 DNA 蛋白组分中显著增多,而在线粒体组分中显著减少。AIF 转位至细胞核后,TUNEL 法检测到 DNA 的断裂,证实了 Parthanatos 的发生。

通过对 AIF 及其介导的 Parthanatos 的研究,其重要性逐渐受到重视。Delavallée 将 Parthanatos 总结为 Necroptosis(坏死性凋亡),并总结了可以将 AIF 和 AIF 介导的坏死性凋亡通路作为治疗靶点的策略[16]。一方面抑制 AIF 介导的细胞程序性死亡来治疗缺血损伤和退行性变[17],另一方面加强 AIF 介导的程序性死亡来进行抗肿瘤治疗,已研发新药 BZL101 对转移性乳腺癌完成了 IB 期临床研究[18]。因此,AIF 及其介导的 Parthanatos 在肺癌辐射敏感性调控或正常肺组织放射性防护方面也颇具研究意义。

参考文献:

[1] Harraz M M, Dawson T M, Dawson V L. Advances in neuronal cell death 2007[J]. Stroke, 2008, 39(2): 286 – 288.

[2] Fatokun A A, Dawson V L, Dawson T M. Parthanatos: mitochondrial-linked mechanisms and therapeutic opportunities [J]. Br J Pharmacol, 2014, 171(8): 2000 – 2016.

[3] Vega-Naredo I, Cunha-Oliveira T, Serafim T L, *et al*. Analysis of pro-apoptotic protein trafficking to and from mitochondria[J]. Methods Mol Biol, 2015, 1241: 163 – 180.

[4] Wang Y, Dawson V L, Dawson T M. Poly (ADP-ribose) signals to mitochondrial AIF: a key event in parthanatos[J]. Exp Neurol, 2009, 218(2): 193 – 202.

[5] Sevrioukova I F. Apoptosis-inducing factor: structure, function, and redox regulation[J]. Antioxid Redox Signal, 2011, 14(12): 2545 – 2579.

[6] Xu S, Wu H, Nie H, *et al*. AIF downregulation and its interaction with STK3 in renal cell carcinoma[J]. PLoS One, 2014, 9(7): e100824.

[7] Susin S A, Lorenzo H K, Zamzami N, *et al*. Molecular characterization of mitochondrial apoptosis-inducing factor[J]. Nature, 1999, 397(6718): 441 – 446.

[8] Han W, Shi X, Nuttall A L. AIF and endoG translocation in noise exposure induced hair cell death[J]. Hear Res, 2006, 211(1/2): 85 – 95.

[9] 方芳, 王志成, 刘扬, 等. 低剂量电离辐射诱导小鼠睾丸 NO 含量、NOS 活性及 AIF 基因的变化[J]. 中国辐射卫生, 2010, 19(1): 3 – 5.

[10] 王瑞娟, 彭瑞云, 高亚兵, 等. AIF、Bax 和 Bcl-2 在中子及 γ 射线照射致肠道损伤中的表达[J]. 解放军医学杂志, 2009, 34(11): 1356 – 1358, 1361.

[11] 刘晔, 郭晔, 吴慧娟, 等. 凋亡诱导因子介导顺铂诱导的肾小管上皮细胞凋亡[J]. 中华肿瘤杂志, 2010, 32(3): 173 – 178.

[12] 秦雪梅, 崔艳, 孙梦梅, 等. 伊马替尼和十字孢碱对非小细胞肺癌 A549 凋亡的影响[J]. 军事医学, 2014, 35(4): 282 – 285, 292.

[13] Xie J, Xu Y, Huang X, *et al*. Berberine-induced apoptosis in human breast cancer cells is mediated by reactive oxygen species generation and mitochondrial-related apoptotic pathway[J]. Tumour Biol, 2014, 36(2): 1279 – 1288.

[14] Shao D, Kan M, Qiao P, *et al*. Celecoxib induces apoptosis *via* a mitochondria? dependent pathway in the H22 mouse hepatoma cell line[J]. Mol Med Rep, 2014, 10(4): 2093 – 2098.

[15] Fang F, Gong P S, Zhao H G, *et al*. Mitochondrial modulation of apoptosis induced by low-dose radiation in mouse testicular cells[J]. Biomed Environ Sci, 2013, 26(10): 820 – 830.

[16] Delavallée L, Cabon L, Galan-Malo P, *et al*. AIF-mediated caspase-independent necroptosis: a new chance for targeted therapeutics [J]. IUBMB Life, 2011, 63(4): 221 – 232.

[17] Zhu S, Zhang Y, Bai G, *et al*. Necrostatin-1 ameliorates symptoms in R6/2 transgenic mouse model of Huntington's disease [J]. Cell Death Dis, 2011, 2: e115.

[18] Perez A T, Arun B, Tripathy D, *et al*. A phase 1B dose escalation trial of Scutellaria barbata (BZL101) for patients with metastatic breast cancer [J]. Breast Cancer Res Treat, 2010, 120(1): 111 – 118.

(收稿:2014-12-25;修回:2015-01-26)

(编辑 汪勤俭)