

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2017.16.003

Egr-1 基因沉默对 A549 细胞放射敏感性的影响 *

董广璐¹ 马艳伟¹ 徐 军¹ 金 茜² 李洪佳^{3Δ}

(1 哈尔滨医科大学附属第二医院肿瘤放疗科 黑龙江 哈尔滨 150086; 2 哈尔滨医科大学附属第二医院临床实验中心 黑龙江 哈尔滨 150086; 3 哈尔滨医科大学第四临床医学院医疗保险管理办公室 黑龙江 哈尔滨 150001)

摘要 目的:探讨 Egr-1 基因沉默对人肺腺癌 A549 细胞放射敏感性的影响。**方法:**选用 A549 细胞株作为研究对象,将其分成 A、B、C 三组,即空白对照组(只加入 RPMI-1640 培养)、阴性对照组(加入 LV3-NC-shRNA)、实验组(加入 EGR1-homo-2294-shRNA),采用慢病毒介导的 shRNA 干扰技术使实验组细胞 Egr-1 基因沉默表达。利用荧光显微镜、自动化荧光定量细胞成像分析系统分析 shRNA 转染,利用 FQ-PCR 分析 Egr-1 表达,再利用细胞克隆形成实验检测细胞放射敏感性参数的差异。**结果:**慢病毒介导的 shRNA 成功转染阴性对照组、实验组细胞;空白对照组与阴性对照组 Egr-1 表达无差异($P>0.05$),实验组与空白对照组、阴性对照组比较 Egr-1 均受到明显抑制($P<0.05$);克隆形成实验中细胞放射敏感性参数 D0、SF2 实验组细胞与空白对照组、阴性对照组比较均存在明显差异($P<0.05$)。**结论:**Egr-1 基因沉默使 A549 细胞放射敏感性降低,Egr-1 表达可能与肿瘤细胞对放射的敏感性有关。

关键词:Egr-1;放射敏感性;细胞凋亡;A549 细胞

中图分类号:R730.55;R-33 文献标识码:A 文章编号:1673-6273(2017)16-3008-04

Effects of Early Growth Response -1(EGR-1) Gene Silence on the Radiosensitivity of A549 Cell*

DONG Guang-lu¹, MA Yan-wei¹, XU Jun¹, JIN Xi², LI Hong-jia^{3Δ}

(1 Department of Radiotherapy, Second Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin, Heilongjiang, 150086, China;

2 Department of Experimental Research Center, the Second Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin, Heilongjiang,

150086, China; 3 Department of HMO Administrator, the Fourth Clinical Medical College Hospital of Harbin Medical University, Harbin, Heilongjiang, 150001, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the effects of early growth response-1 (Egr-1) gene silence on the radiosensitivity of human lung adenocarcinoma A549 cells. **Methods:** The A549 cell line was selected and divided into the blank control group (only to join the RPMI-1640 Culture), the negative control group (to join LV3-NC-shRNA), the experimental group (to join EGR1-homo-2294-shRNA), Egr-1 gene expression was silenced in the experimental group with the ShRNA interference technique mediated by lentiviral vector. ShRNA transfection was analyzed by fluorescence microscopy and automated fluorescence quantitative cell imaging analysis system. The expression of Egr-1 was analyzed by FQ-PCR. And the difference of parameters of cell radiation sensitivity was detected by cell cloning experiment. **Results:** The negative control group and the experimental group cells were successfully transfected with the shRNA by lentiviral vector. There was no difference in the Egr-1 expression between the blank control group and the negative control group ($P>0.05$). Compared with the blank control group and negative control group, the Egr-1 expression was significantly inhibited ($P<0.05$), the cell radiosensitivity parameters of D0 and SF2 in the clone formation experiment also showed significant differences in the experimental group ($P<0.05$). **Conclusion:** Egr-1 gene silence reduced the radiosensitivity of A549 cells and the expression of Egr-1 was correlated with the radiosensitivity of tumor cells.

Key words: Egr-1 gene; Radiosensitivity; Apoptosis; A549 cell

Chinese Library Classification(CLC): R730.55; R-33 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2017)16-3008-04

前言

肿瘤组织具有其内在固有的放射反应性,即所谓的放射敏感性或放射抗拒性。有研究表明不同组织来源的细胞系或不同

个体同种组织来源的细胞放射敏感性不同^[1]。Malaise 等研究结果也证实相同组织学类型的肿瘤细胞对放射反应存在很大的差异^[2],这种差异与放射诱导的肿瘤细胞基因表达不同有关,可涉及的基因包括即刻早期基因、细胞凋亡相关基因、细胞信号

* 基金项目:黑龙江省教育厅科学技术研究项目(12521311)

作者简介:董广璐(1964-),硕士,主任医师,教授,主要从事恶性肿瘤放疗及综合治疗的研究工作, E-mail: Dgl64@163.com

Δ 通讯作者:李洪佳,电话:0451-82576518,15004678591, E-mail: lihongjia0501@163.com

(收稿日期:2016-10-18 接受日期:2016-11-15)

传导基因、DNA 修复基因和细胞周期检查站基因等^[3-6]。在众多的基因中,由于早期生长反应-1 (Early growth response-1, Egr-1) 基因能被射线照射诱导表达并引起相关下游基因表达改变,对细胞生长起着广泛的调节作用,认为该基因在肿瘤细胞放射反应中可能起关键作用^[6],可能是影响肿瘤细胞放射敏感性的重要原因之一。因此,在肿瘤细胞中,Egr-1 对细胞放射敏感性的作用被广泛研究^[7,8]。我们前期^[9]通过对肝癌细胞系和正常肝细胞系 Egr-1 基因表达和放射后细胞凋亡水平变化的研究,发现射线诱导的 Egr-1 基因表达水平可能与细胞凋亡成正相关,所以我们考虑 Egr-1 与肿瘤细胞放射敏感性可能相关。本实验通过 sh-RNA 对人肺腺癌 A-549 细胞系 Egr-1 基因抑制前后放射敏感性的对比研究,初步探讨肿瘤细胞放射敏感性与

Egr-1 基因表达水平的关系。

1 材料与方法

1.1 实验材料

人肺腺癌 A549 细胞株由哈尔滨医科大学附属第二医院临床实验中心提供。RPMI1640 培养基购自北京索莱宝公司,高纯度总 RNA 快速提取试剂盒、SupermoIII RT Kits 反转录试剂盒购自北京百泰克公司,FQ-PCR 试剂盒购自美国 Bioneer 公司。EGR1-homo-2294-shRNA 设计、合成以及慢病毒包装均由上海吉玛公司完成, β -actin 引物、探针由上海吉玛公司设计、合成,Egr-1 引物、探针参照文献^[10],由上海吉玛公司合成(见表1)。

表 1 PCR 引物和探针
Table 1 PCR primer and probe

Genes	Product length	Sequence (5'→3')
β -actin	71bp	Forward primer CCCTGGCACCCAGCAC
		Reverse primer GCCGATCCACACGGAGTAC
		Probe ATCAAGATCATTGCTCCTCTCTGAGCGC
Egr-1	200 bp	Forward primer AAAGTTTGCCAGGAGCGAT
		Reverse primer CAGGGGATGGGTATGAGGTG
		Probe CCCTACGAGCACCTGACCGCAGA

1.2 实验方法

1.2.1 实验分组 根据对 A549 细胞 Egr-1 基因干扰条件不同分成 A、B、C 三组,A 组:空白对照组(只加入 RPMI-1640 培养),B 组:阴性对照组(加入 LV3-NC-shRNA),C 组:实验组(加入 EGR1-homo-2294-shRNA)。

1.2.2 细胞培养及 shRNA 转染 人肺腺癌 A-549 细胞常规培养于含 10%小牛血清,含 10 万 U/L 青霉素和 100 g/L 链霉素的 RPMI-1640 培养液中,培养条件为 37℃,体积分数为 5% CO₂。三组细胞融合至 70-80%时,病毒液分别以最佳感染指 (MOI=20) 进行转染。转染 72 h 后荧光显微镜下激发波长 480 nm、发射波长 520 nm 观测细胞,呈 GFP 绿色荧光的细胞为转染阳性细胞。继续每 2-3 天用胰蛋白酶消化细胞传代培养,至各组细胞数足够后续试验使用。参照 NucleoCounter NC3000 自动荧光细胞分析仪(丹麦 Chemoemetec 公司)绿色荧光转染率测定说明书进行细胞转染率测定。

1.2.3 FQ-PCR 检测 Egr-1 基因表达 分别收集三组细胞,按照百泰克公司高纯度总 RNA 快速提取试剂盒(离心柱型)说明书进行总 RNA 的提取,按照百泰克 SupermoIII RT Kitc 说明书合成 cDNA。采用 SYBR 荧光染料法进行实时荧光定量 PCR (FQ-PCR),在微量离心管内建立 20 μ L PCR 反应体系,以合成的 cDNA 作为模板,每个样品设计 3 个重复,分别检测三组 Egr-1 和 β -actin 的 mRNA 表达。实时定量 PCR 仪循环设置:95℃5 min 预变性,95℃5 s,60℃30 s,进行 40 个循环,于每个循环结束后检测 F1 通道荧光信号强度,用相对定量法 $2^{-\Delta\Delta C_T}$ 值来表示目的基因的 mRNA 水平^[11]。

1.2.4 细胞克隆形成实验 (1)单细胞悬液制备:取指数生长

期各组细胞用胰酶消化,加入适量 RPMI-1640 培养基反复吹打,使细胞充分分散以制成单细胞悬液,台盼蓝染色后计数活细胞百分数。

(2)细胞接种及放射:根据放射剂量不同将细胞悬液作梯度倍数稀释,以 200~4000 个/孔的细胞密度接种于六孔板内,同一放射剂量的同种细胞设 4 个重复孔。待各组细胞接种 12 h 贴壁后,按照接种数目的不同分别给予 0 Gy、1 Gy、2 Gy、4 Gy、6 Gy、8 Gy 剂量射线放射,放射源为 6-MV XHA600D 医用电子直线加速器,剂量率 4.0 Gy/min,源-板距离 100 cm,放射野大小为 18 cm×25 cm,相同放射剂量的 2 块 6 孔板同时置于放射野中心,放射结束后进行常规细胞培养。

(3)细胞放射后送回细胞培养内箱继续孵育 12-14 d,尽可能不挪动孔板。待孔内出现肉眼可见克隆终止培养,加入纯甲醇 1.5 mL/孔固定 15 min。弃掉甲醇,加入 0.4% Giemsa 染液 1.5 mL/孔染色 30 min,流水缓慢洗去染色液后空气干燥。

(4)计数克隆数和计算存活分数:在凝胶分析仪上应用菌落计数程序进行拍照计数,倒置显微镜低倍镜下验证计数(每个克隆大于 50 个细胞)。计算克隆形成率 (PE) 和细胞存活分数 (SF):PE= 克隆形成数 / 接种细胞数×100%,SF= 受放射细胞的克隆形成率 / 对照细胞的克隆形成率×100%。采用单击多靶模型拟合细胞放射剂量存活曲线分别求出放射生物学参数 D0 值(细胞的平均致死剂量)和 SF2 值(2 Gy 时细胞存活分数)。

1.3 统计学方法

全部实验所得数据均重复 3 次,用均数±标准差 ($\bar{x} \pm s$)表示,利用 SPSS17.0 软件单因素方差分析法对三组检测结果进行比较分析,进一步两组间比较采用 SNK-q 检验,以 P<0.05

为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 慢病毒介导的 shRNA 转染

慢病毒介导的 shRNA 转染后,B、C 两组细胞在荧光显微镜下绝大多数均出现明显绿色荧光(如图 1 所示),自动化荧光定量细胞成像分析系统分析两组转染率分别为 $84.58 \pm 1.78\%$, $78.86 \pm 1.60\%$ 。

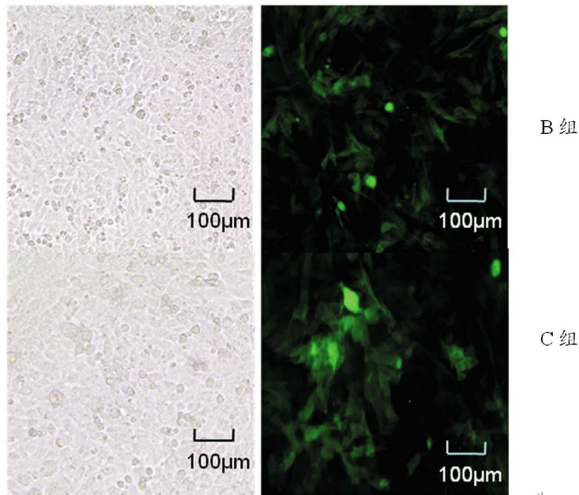


图 1 shRNA 转染

Fig. 1 shRNA transfection

2.2 三组 Egr-1 mRNA 表达的比较

RT-PCR 所测 Egr-1 mRNA 表达结果显示:三组细胞 Egr-1 mRNA/ β -actin mRNA 值存在明显差异,A 组与 B 组比较无差异($P=0.877$),C 组 Egr-1 mRNA 表达显著低于 A、B 组($P<0.05$)。如图 2。

2.3 三组细胞克隆形成情况比较

细胞克隆形成计数后,计算得出各细胞株的存活分数,利用 Spss17.0 软件非线性回归分析,以单击多靶模型 $S=1-(1-e-D/Do)^N$ 拟合剂量-存活曲线(如图 3),并计算放射生物学参数 D0 和 SF2(见表 2)。从拟合的剂量-存活曲线可以看出,A、B 两组曲线基本保持一致,而 C 组曲线与 A 组和 B 组明显分离。对所得放射生物学参数进行统计分析得出,三组细胞 D0 值比较有统计学意义 ($P=0.000$),A、B 两组比较无明显差异($P=0.840$),A、C 两组比较存在明显差异($P=0.011$),B、C 两组比较存在明显差异($P=0.006$);三组细胞 SF2 比较结果显示:三组数值比较具有统计学意义 ($P=0.001$),A、B 两组间比较无差异($P=0.639$),A、C 两组间比较存在明显差异($P=0.029$),B、C 两组

间比较也存在明显差异($P=0.01$)。

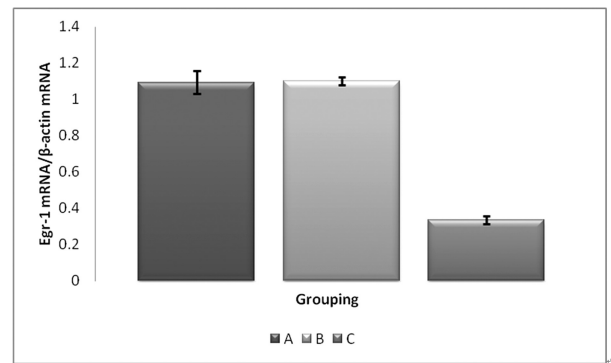


图 2 三组 Egr-1 mRNA/ β -actin mRNA 的比较

Fig.2 Comparison of the Egr-1 mRNA/ β -actin mRNA between two groups

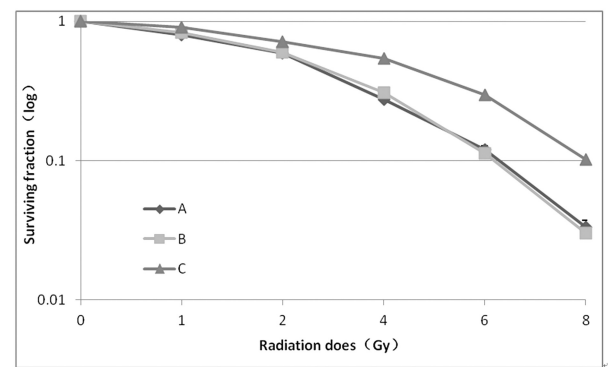


图 3 剂量-存活曲线

Fig.3 Radiation dose survival curve

3 讨论

细胞凋亡即细胞的程序性死亡,其发生受多种基因调控,其中 Egr-1 作为早期反应基因,参与了多种射线诱导的肿瘤细胞的凋亡过程,在射线诱导的细胞凋亡中起着重要作用^[12-14]。Egr-1 基因在绝大多数肿瘤细胞中均有表达,全程参与了肿瘤的形成、增殖分化、转移及细胞的凋亡。研究显示 Egr-1 能激活许多肿瘤细胞凋亡相关基因表达,如抑癌基因 p53、p21、PTEN 和促凋亡基因 Bax 等,是放射诱导 Egr-1 抑制肿瘤细胞生长的主要机制^[15,16]。Egr-1 启动子中的 CArG 盒能够感受到氧自由基和电离辐射的刺激,在细胞受到放射后的短时间内即可迅速表达^[17],并引起下游一系列基因的变化^[18,19],进而引起肿瘤细胞的凋亡。射线照射诱导 EGR-1 表达并直接激活靶基因 p53、Rb 和 TNF- α 介导的细胞凋亡途径,引起肿瘤细胞的凋亡^[13],EGR-1

表 2 单击多靶模型放射生物学参数

Table2 Parameter of radiobiology fitted single-hit multi-target model

	GLC-82	HT29	Hela	F	P
D0	2.326 $\pm$ 0.116	2.347 $\pm$ 0.126	3.725 $\pm$ 0.093	74.727	0.000
SF2	0.589 $\pm$ 0.014	0.600 $\pm$ 0.017	0.715 $\pm$ 0.013	33.602	0.001

* 注:D0,平均致死剂量; SF2,2 Gy 放射时的存活分数。

*Note: D0, mean lethal dose; SF2, surviving fraction at 2Gy.

还可直接引起 PTEN 的表达,促进肿瘤细胞凋亡^[12]。放射还可诱导 Egr-1 表达并与 YAP-1 结合形成 Egr-1-YAP-1 复合体,复合体再诱导促凋亡蛋白基因 Bax 的转录,被认为是射线引起前列腺癌细胞凋亡的主要机制^[20]。在其他的研究中,肿瘤坏死因子凋亡诱导配体(TRAIL)和存活素(survivin)也被报道与放射诱导 Egr-1 表达引起的细胞凋亡有关^[21,22]。此外,Egr-1 还可抑制 NF- κ B 和 bcl-2 等基因的促存活功能,而增加细胞的凋亡^[9]。

Egr-1 在不同的肿瘤细胞中表达水平不同,且在同一肿瘤的不同基因型中表达水平有所不同。Ahmed 等研究发现前列腺癌细胞的放射敏感性随着 Egr-1 的表达升高而增加,当 Egr-1 被抑制后其放射敏感性下降^[20]。我们实验组早期曾选择肝癌细胞系 HepG2、SMMC-7721 和正常肝细胞系 HL-7702,经 X 射线照射后,检测 Egr-1 基因的表达、细胞周期和细胞凋亡的变化,结果显示照射诱导 Egr-1 基因表达水平明显增高,并有一定程度的细胞凋亡和细胞周期的变化,说明射线诱导的 Egr-1 基因表达水平可能与射线诱导的细胞凋亡相关^[9]。我们另一关于细胞放射敏感性的研究显示,与 HeLa 细胞相比较,A549 细胞 Egr-1 表达水平高,放射敏感性亦明显高于 HeLa 细胞,提示不同肿瘤细胞 Egr-1 表达水平可能与其放射敏感性相关^[23]。

本实验利用慢病毒介导 sh-RNA 转染人肺腺癌 A-549 细胞,B、C 两组细胞转染率分别达到 $84.58 \pm 1.78\%$ 和 $78.86 \pm 1.60\%$,说明慢病毒介导的 shRNA 高效转染,Egr-1 的表达被有效抑制。克隆形成实验以单击多靶模型拟合存活曲线显示 Egr-1 基因沉默的细胞对射线敏感显著降低。根据单击多靶模型拟合存活曲线所得放射生物学参数除 D0、SF2 外,还可同时得出 N(外推数)和 Dq(准阈剂量)两个参数,但其中 D0 和 SF2 是代表细胞放射敏感性的重要指标,是肿瘤内在放射敏感性的“金标准”^[24,25]。本实验中 A、B 两组 D0、SF2 值无明显差异,C 组比 A、B 两组数值明显增大,也表明 C 组细胞放射敏感性低于 A、B 两组。研究结果表明人肺腺癌 A-549 细胞 Egr-1 基因被慢病毒介导的 Egr-1-sh-RNA 有效抑制后,细胞的放射敏感性明显降低,说明 Egr-1 基因表达水平直接影响肿瘤细胞放射敏感性。

同时,本实验从另一角度补充和证实了我们前期关于 Egr-1 基因表达对肿瘤细胞放射敏感性具有重要影响的研究,我们后续将通过增加 Egr-1 基因表达来验证其对肿瘤细胞放射敏感性的影响。但是,Egr-1 基因表达水平对放射敏感性影响的研究在国内外还较少,Egr-1 基因在肿瘤中的表达差异和发挥作用的机制现在的研究结果还不是非常明确,放射诱导后下游相关基因表达变化以及基因间的相互作用还不确切,还需从分子生物学进行深入研究。随着这些问题的深入研究和解决,Egr-1 基因在肿瘤中的作用将进一步阐明,对肿瘤的治疗和预后将有可能产生重大影响,特别是 Egr-1 基因将有可能成为指导肿瘤放射治疗重要的分子标志物,为实现肿瘤的个体化放疗提供理论依据。

参考文献(References)

- [1] Ogishima T, Shiina H, Breault JE, et al. Increased heparanase expression is caused by promoter hypomethylation and up-regulation of transcriptional factor early growth response-1 in human prostate cancer[J]. Clin Cancer Res, 2005, 11(3): 1028-1036
- [2] Malaise EP, Fertil B, Chavaudra N, et al. Distribution of radiation sensitivities for human tumor cells of specific histological types: comparison of in vitro to in vivo data [J]. Int J Radiat Oncol Biol Phys, 1986, 12(4): 617-624
- [3] Li YB, Guo CX, Wang ZC, et al. Radiosensitization of breast cancer cells by TRAIL-endostatin-targeting gene therapy [J]. Neoplasma, 2013, 60(6): 613-619
- [4] Meirovitz A, Hermano E, Lerner I, et al. Role of heparanase in radiation-enhanced invasiveness of pancreatic carcinoma [J]. Cancer Res, 2011, 71(7): 2772-2780
- [5] Zhang F, Yu T, Yi CL, et al. Radiation-inducible HtrA2 gene enhances radiosensitivity of uveal melanoma OCM-1 cells in vitro and in vivo. Clin Exp Ophthalmol, 2014, 42(8): 761-768.
- [6] Ahmed MM. Regulation of radiation-induced apoptosis by early growth response-1 gene in solid tumors. Curr Cancer Drug Targets, 2004, 4(1): 43-52
- [7] Li ZL, Liang S, Wang ZC, et al. Expression of Smac induced by the Egr1 promoter enhances the radiosensitivity of breast cancer cells [J]. Cancer Gene Ther, 2014, 21(4): 142-149
- [8] Antal O, Hackler L, Shen J, et al. Combination of unsaturated fatty acids and ionizing radiation on human glioma cells: cellular, biochemical and gene expression analysis [J]. Lipids in Health and Disease, 2014, 14(13): 1476-1511
- [9] 董广璐, 邢丽娜, 刘晓滨, 等. EGR-1 基因表达及其在射线诱导的肝癌细胞凋亡中的作用[J]. 世界华人消化杂志, 2006, 30(14): 2923-2927
Dong Guang lu, Xing Li na, Liu Xiao bin, et al. Properties of radiation-induced apoptosis and cell cycle changes in liver cancer cell lines[J]. World Chinese Journal of Digestology, 2006, 30(14): 2923-2927
- [10] Shozu M, Murakami K, Segawa T, et al. Decreased expression of early growth response-1 and its role in uterine leiomyoma growth [J]. Cancer Res, 2004, 64(13): 4677-4684
- [11] Schmittgen TD, Livak KJ. Analyzing real time PCR data by the comparative C(T) method[J]. Nat Protoc, 2008, 3(6): 1101-1108
- [12] Li D, Ilnytsky Y, Kovalchuk A, et al. Crucial Role for Early Growth Response-1 in the Transcriptional Regulation of miR-20b in Breast Cancer[J]. Oncotarget, 2013, 4(9): 1373-1387
- [13] Boone DN, Qi Y, Li Z, et al. Egr1 mediates p53-independent c-Myc-induced apoptosis via a noncanonical ARF-dependent transcriptional mechanism [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2011, 108(2): 632-637
- [14] Zhao DY, Jacobs KM, Hallahan DE, et al. Silencing Egr1 Attenuates Radiation-induced Apoptosis in Normal Tissues while Killing Cancer Cells and Delaying Tumor Growth[J]. Molecular cancer therapeutics, 2015, 14(10): 2343-2352
- [15] Wang C, Husain K, Zhang A, et al. EGR-1/Bax Pathway Plays a Role in Vitamin E δ -Tocotrienol-induced Apoptosis in Pancreatic Cancer Cells[J]. The Journal of nutritional biochemistry, 2015, 26(8): 797-807
- [16] Liu DX, Qian D, Wang B, et al. p300-Dependent ATF5 Acetylation Is Essential for Egr-1 Gene Activation and Cell Proliferation and Survival[J]. Molecular and Cellular Biology, 2011, 31(18): 3906-3916

- (28): 7584-7598
- [8] Martynov VI, Pakhomov AA, Popova NV, et al. Synthetic Fluorophores for Visualizing Biomolecules in Living Systems [J]. *Acta Naturae*, 2016, 8(4): 33-46
- [9] Cho S. Promises and Challenges of Benchtop X-Ray Fluorescence CT (XFCT) for Quantitative in Vivo Imaging [J]. *Med Phys*, 2016, 43(6): 3847-3848
- [10] Hu K, Wang H, Tang G, et al. In Vivo Cancer Dual-Targeting and Dual-Modality Imaging with Functionalized Quantum Dots[J]. *J Nucl Med*, 2015, 56(8): 1278-1284
- [11] Hintersteiner M, Enz A, Frey P, et al. In vivo detection of amyloid-beta deposits by near-infrared imaging using an oxazine-derivative probe[J]. *Nat Biotechnol*, 2005, 23(5): 577-583
- [12] Schmidt A, Pahnke J. Efficient near-infrared in vivo imaging of amyloid- β deposits in Alzheimer's disease mouse models[J]. *Journal of Alzheimer's disease*, 2012, 30(3): 651-664
- [13] Yang X, Shi C, Tong R, et al. Near IR heptamethine cyanine dye-mediated cancer imaging [J]. *Clinical cancer research: an official journal of the American Association for Cancer Research*, 2010, 16(10): 2833-2844
- [14] Fomina N, McFearn CL, Sermsakdi M, et al. Low power, biologically benign NIR light triggers polymer disassembly [J]. *Macromolecules*, 2011, 44(21): 8590-8597
- [15] Shi C, Wu JB, Chu GC, et al. Heptamethine carbocyanine dye-mediated near-infrared imaging of canine and human cancers through the HIF-1 α /OATPs signaling axis[J]. *Oncotarget*, 2014, 5(20): 10114-10126
- [16] Yi Xiao-min, Wang Fu-li, Qin Wei-jun, et al. Near-infrared fluorescent probes in cancer imaging and therapy: an emerging field [J]. *International Journal of Nanomedicine*, 2014, 9: 1347-1369
- [17] 张彩勤, 张海, 赵勇, 等. 近红外荧光染料 IR-783 介导的肿瘤成像 [J]. *中国实验动物学报* 2014, 22(2): 17-19, 56
Zhang Cai-qin, Zhang Hai, Zhao Yong, et al. Near infrared heptamethine cyanine dye IR-783-mediated tumor imaging [J]. *Acta Laboratorium Animalis Scientia Sinica*, 2014, 22(2): 17-19, 56
- [18] Yuan J, Yi X, Yan F, et al. Near infrared fluorescence imaging of prostate cancer using heptamethine carbocyanine dyes [J]. *Molecular Medicine Reports*, 2015, 11(2): 821-828
- [19] Furuhata T, Sun Y, Chiba K. Cancer-type Organic Anion Transporting Polypeptide 1B3: Current Knowledge of the Gene Structure, Expression Profile, Functional Implications and Future Perspectives [J]. *Curr Drug Metab*, 2015, 16(6): 474-485
- [20] Tian Y, Sun J, Yan H, et al. A rapid and convenient method for detecting a broad spectrum of malignant cells from malignant pleuroperitoneal effusion of patients using a multifunctional NIR heptamethine dye[J]. *The Analyst*, 2015, 140(3): 750-755

(上接第 3011 页)

- [17] Datta R, Taneja N, Sukhatme V P, et al. Reactive oxygen intermediates target CC(A/T)6GG sequences to mediate activation of the early growth response 1 transcription factor gene by ionizing radiation[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1993, 90(6): 2419-2422
- [18] Shen N, Shao Y, Lai SS, et al. GGPPS, a New EGR-1 Target Gene, Reactivates ERK 1/2 Signaling through Increasing Ras Prenylation [J]. *The American Journal of Pathology*, 2011, 179(6): 2740-2750
- [19] Yoon TM, Kim SA, Lee DH, et al. EGR1 regulates radiation-induced apoptosis in head and neck squamous cell carcinoma [J]. *Oncol Rep*, 2015, 33(4): 1717-1722
- [20] Zagurovskaya M, Shareef MM, Das A, et al. EGR-1 forms a complex with YAP-1 up-regulates Bax expression in irradiated prostate carcinoma cells[J]. *Oncogene*, 2009, 28(8): 1121-1131
- [21] Baijer J, Dé champs N, Perdry H, et al. TNFSF10/TRAIL regulates human T4 effector memory lymphocyte radiosensitivity and predicts radiation-induced acute and subacute dermatitis[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(16): 21416-21427
- [22] Miller RC, Murley JS, Rademaker AW, et al. Very low doses of ionizing radiation and redox associated modifiers affect survivin-associated changes in radiation sensitivity [J]. *Free Radic Biol Med*, 2016, 7(9): 110-119
- [23] 李洪佳, 于洪洋, 原浩, 等. Egr-1 基因与肿瘤腺放射敏感性关系的研究[J]. *现代生物医学进展*, 2012, 28(12): 5411-5414
Li Hong-jia, Yu Hong-yang, Yuan Hao, et al. Research of the relationship between Egr-1 and radiosensitivity of Adenocarcinoma [J]. *Progress in Modern Biomedicine*, 2012, 28(12): 5411-5414
- [24] Yao JX, Yao ZF, Li ZF, Liu YB. Radio-sensitization by Piper longum of human breast adenoma MDA-MB-231 cells in vitro [J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2014, 15(7): 3211-3217
- [25] Li G, Liu Y, Su ZW, et al. Irradiation induced epithelial-mesenchymal transition in nasopharyngeal carcinoma in vitro [J]. *Zhonghua Er Bi Yan Hou Tou Jing Wai Ke Za Zhi*, 2013, 48(8): 662-667