

抑制 DNA-PKcs 对放射治疗后食管鳞癌细胞系 EC109 自噬蛋白表达和增殖的影响*

孙佳¹, 赵晓静¹, 袁翎², 李雨濛¹, 李南¹, 张中冕¹, 王豪勋¹, 韩娜¹, 马军³, 王健^{1△}

(1. 郑州大学第二附属医院肿瘤科, 河南郑州 450014; 2 郑州大学附属肿瘤医院/河南省肿瘤医院, 河南郑州 450008; 3 郑州大学第二附属医院检验科, 河南郑州 450014)

[摘要] **目的** 研究抑制 DNA-PKcs 对放射照射(X-Ray)后食管鳞癌细胞 EC109 自噬蛋白表达和增殖的影响。**方法** 用 NU7441 抑制 DNA-PKcs; 放射照射处理食管鳞癌细胞 EC109; 实验共分为 4 组(对照组、NU7441 组、X-Ray 组、X-Ray+NU7441 组)。蛋白免疫印迹(Western blot)法检测自噬蛋白 Beclin-1 及 LC3B 的表达; 流式细胞术检测凋亡; 四甲基偶氮唑盐(MTT)法检测细胞增殖情况。**结果** p-DNA-PKcs 在 NU7441 处理食管鳞癌细胞 EC109 后表达降低, X-Ray 照射后表达升高。与未处理细胞(对照组)相比, X-Ray+NU7441 组 Beclin-1 及 LC3B 均表达升高, 与 X-Ray 组相比, X-Ray+NU7441 组 Beclin-1 表达升高。与对照组相比, X-Ray 组及 X-Ray+NU7441 组凋亡率明显增加, 差异有统计学意义($P<0.05$)。与 X-Ray 组相比, X-Ray+NU7441 组细胞凋亡率明显增加。MTT 结果显示, 与对照组相比, X-Ray 组及 X-Ray+NU7441 组增殖明显被抑制, 差异有统计学意义($P<0.05$)。**结论** NU7441 抑制 EC109 细胞 DNA-PKcs 蛋白表达后, 可促进肿瘤细胞自噬蛋白 Beclin-1 和 LC3B 表达, 促进凋亡、抑制细胞增殖。

[关键词] DNA-PKcs; 自噬蛋白; 细胞增殖; 食管肿瘤; 癌, 鳞状细胞

[中图分类号] R735.1

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2018)09-1158-03

Effects of blocking DNA-PKcs on autophagy protein expression and proliferation in esophageal squamous cell carcinoma cell line EC109 after irradiation*

SUN Jia¹, ZHAO Xiaojing¹, YUAN Ling², LI Yumeng¹, LI Nan¹, ZHANG Zhongmian¹,
WANG Haoxun¹, HAN Na¹, MA Jun³, WANG Jian^{1△}

(1. Department of Oncology, Second Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou, Henan 450014, China;

2. Affiliated Tumor Hospital of Zhengzhou University/Henan Provincial Tumor Hospital, Zhengzhou, Henan 450008, China;

3. Department of Clinical Laboratory, Second Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou, Henan 450014, China)

[Abstract] **Objective** To study the effect of DNA-PKcs blocking on the expression of autophagic proteins, and proliferation of esophageal squamous cell carcinoma cells(EC109) after irradiation(X-Ray). **Methods** NU7441 was used to inhibit DNA-PKcs and X-Ray radiation treatment were used to treat EC109 cells. The experiment was divided into 4 groups, including control group, NU7441 group, X-Ray group, X-Ray+NU7441 group. The expressions of autophagy protein Beclin-1 and LC3B were detected by Western blot. Apoptosis was detected by flow cytometry. MTT assay was used to detect cell proliferation. **Results** The expression of p-DNA-PKcs in EC109 cells was decreased after NU7441 treatment and increased after X-ray irradiation. Compared with untreated cells(control group), the expressions of both Beclin-1 and LC3B in X-Ray+NU7441 group were increased. Compared with the X-Ray group, the expression of Beclin-1 in the X-Ray+NU7441 group was increased. Compared with the control group, the apoptotic rate of EC109 cells in the X-Ray group and X-Ray+NU7441 group was significantly increased, the difference was statistically significant($P<0.05$). Compared with the X-Ray group the apoptosis rate in the X-Ray+NU7441 group was significantly increased. The MTT results showed that compared with the control group, the proliferation in the X-Ray group and X-Ray+NU7441 group was significantly inhibited, the difference was statistically significant($P<0.05$). **Conclusion** NU7441 inhibits the expression of DNA-PKcs protein in EC109 cells, which could promote the expressions of autophagy protein Beclin-1 and LC3B, promotes apoptosis and inhibits cell proliferation.

[Key words] DNA-dependent protein kinase catalytic; autophagy protein; cell proliferation; esophageal neoplasms; carcinoma, squamous cell

我国是食管鳞癌高发区,约 90% 的食管癌为鳞状细胞癌^[1],是第四大癌症死亡原因。放疗是食管癌的主要治疗方法之一, DNA 双链断裂(DSBs)是放疗造成 DNA 损伤的主要类型。肿瘤细胞可通过同源重组(HR)和非同源末端连接(NHEJ)对 DSBs 进行修复^[2],降低放疗敏感性。真核细胞中 DSBs 主要由 NHEJ 修复, DNA-PKcs(DNA-dependent protein

kinase catalytic subunit)是 NHEJ 的中心因子,因此可通过抑制 DNA-PKcs 增加放疗敏感性。NU7441 是一种新型的 DNA-PKcs 抑制剂,可抑制 DNA-PKcs 磷酸化^[3],从而抑制 DSBs 修复^[4-5]。自噬是保守的细胞内过程。通过双层膜囊泡即自噬体与溶酶体融合,实现蛋白质和细胞器的降解。自噬在肿瘤发生发展过程中可能具有抗肿瘤和促进肿瘤发生的双重

作用^[6-7]。药物及放射照射可造成肿瘤细胞 DNA 损伤,并促进肿瘤细胞自噬现象,但自噬在 DNA 损伤、细胞死亡和增殖中的作用存在争议^[8-10]。本研究用 X 射线照射诱导 EC109 细胞 DNA 断裂,用 DNA-PKcs 抑制剂 NU7441 抑制肿瘤细胞 DSBs 的自我修复过程,检测自噬蛋白表达,探讨阻断食管鳞癌细胞 DNA 修复对其自噬过程的影响。

1 材料与方 法

1.1 材料与试剂 食管鳞癌细胞系 EC109 为郑州大学第二附属医院消化疾病研究所保存;RMPI-1640 细胞培养基、胎牛血清(FBS)、青链霉素混合液购于上海生工公司;磷酸化 DNA-PKcs(ab18192)购于英国 Abcam;总 DNA-PKcs(4602S)、Beclin-1(3495S)、LC3B(2775S)、HRP 标记的羊抗兔 IgG(7074S)购于美国 Cell Signaling Technology;凋亡检测试剂盒购于美天旎公司(130-092-052)。

1.2 方 法

1.2.1 细胞培养和处 理 EC109 细胞用 RPMI1640 培养基(含 10% 胎牛血清、1% 青链霉素),培养于 37℃,5% CO₂ 培养箱。细胞生长至对数期时,加入 NU7441(8 μmol/L)并进行 X 射线照射。前期预试验结果发现在相同浓度伊立替康作用下,随着 NU7441 浓度逐渐增大,对细胞的抑制率也逐渐增大,呈浓度依赖性,NU7441 在 8 μmol/L 时抑制效应最强,因此本研究中选 8 μmol/L 进行细胞处理。照射采用固定源皮距 SSD 照射,照射距离 d 为 100 cm,照射剂量率 600 MU/min,根据本课题组前期实验结果^[11],采用一次照射,剂量设为 8 Gy(瑞典 Elekta 公司 Synergy 直线加速器)。实验共分为 4 组(对照组、NU7441 组、X-Ray 组、X-Ray+NU7441 组),食管鳞癌 EC109 细胞经过 X 射线照射和(或)NU7441 处理 24 h 后,收集细胞进行下一步检测。

1.2.2 Western blot 检 验 冰上用蛋白裂解液处理细胞,超声破碎,离心后取上清液,煮沸 10 min 后上样。p-DNA-PKcs、t-DNA-PKcs 用 5%~16% 梯度分离胶电泳,转膜 12 h×250 mA。Beclin-1 及 LC3B 用 14% 分离胶电泳,转膜 2 h×250 mA。5% 牛血清清蛋白(BSA)室温封闭 1 h。一抗 4℃ 震荡孵育过夜(p-DNA-PKcs、t-DNA-PKcs 用 1:3 000,Beclin-1 及 LC3B 用 1:1 000,β-actin 为 1:5 000)。TBST 洗膜 3 次后二抗孵育 1 h。再次 TBST 洗膜 3 次,ECL 染色,用 FluorChem FC3 成像仪采集图像和灰度分析,β-actin 作为内参,计算相对表达量。

1.2.3 凋 亡 检 测 用 1×Binding Buffer 对细胞进行清洗并重悬;加入 Annexin V-FITC(10 μL/10⁶ 细胞),室温避光孵育 15 min;1×Binding Buffer 对细胞进行清洗并重悬;加入碘化丙啶(PI,5 μL/10⁶ 细胞),上机检测;记录每组 Annexin V-FITC 阳性细胞所占百分比,分析实验结果。

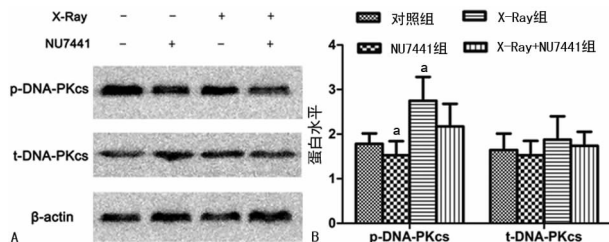
1.2.4 四甲基偶氮唑盐(MTT)法检测细胞增殖 以每孔 5×10³ 个细胞将 EC109 细胞接种至 96 孔板,过夜培养细胞贴壁后,分别对细胞进行照射和(或)NU7441 处理,每组设置 3 个复孔;作用 24 h 后,用 PBS 对细胞进行清洗,每孔加入 200 μL 培养液和 20 μL MTT,培养箱中孵育 4 h;孵育结束后去除 MTT,加入 150 μL 二甲亚砜(DMSO),摇床缓慢摇 10 min 后,在 Multiskan MK3 酶标仪测定并记录每孔波长 490 nm 处的吸光度(A)值。细胞存活率=(A_{490nm} 实验组-A_{490nm} 空白组)/(A_{490nm} 对照组-A_{490nm} 空白组)。

1.3 统计 学 处 理 用 SPSS22.0 统计软件进行数据分析处理,计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,进行正态性和方差齐性检验,采用

单因素方差分析进行组间比较,若方差齐,应用 LSD 法进行多组间的比较,以 P<0.05 为差异有统计学意义。

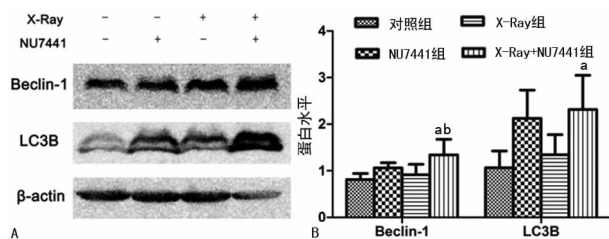
2 结 果

2.1 各组 p-DNA-PKcs 及 t-DNA-PKcs 的表达比较 对磷酸化和总 DNA-PKcs 的相对表达量进行单因素方差分析发现:与对照组相比,NU7441 组食管鳞癌细胞 EC109 中 p-DNA-PKcs 表达降低(P<0.01),X-Ray 组 p-DNA-PKcs 表达升高(P<0.01);与对照组相比,NU7441 组 t-DNA-PKcs 表达降低,X-Ray 组 t-DNA-PKcs 表达升高,但差异无统计学意义(P>0.05),见图 1。



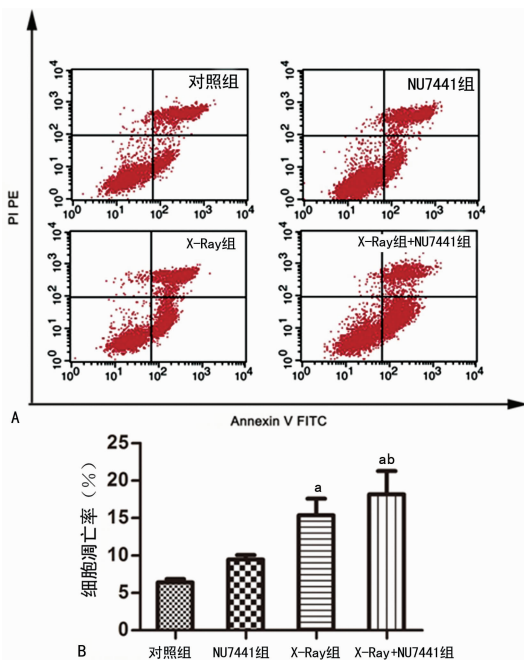
A: Western blot 蛋白条带;B:目的蛋白与 β-actin 灰度值比值柱状图;^a:P<0.05,与对照组比较

图 1 各组 p-DNA-PKcs 及 t-DNA-PKcs 比较



A: Western blot 蛋白条带;B:目的蛋白与 β-actin 灰度值比值柱状图;^a:P<0.05,与对照组比较;^b:P<0.05,与 X-Ray 组比较

图 2 各组 Beclin-1 及 LC3B 的表达比较



A: 流式散点图;B:细胞凋亡率柱状图;^a:P<0.05,与对照组比较;^b:P<0.05,与 X-Ray 组比较

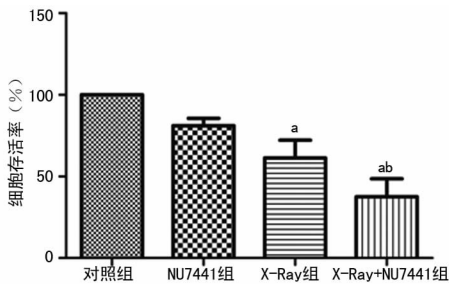
图 3 不同处理组对食管鳞癌细胞 EC109 的细胞凋亡影响

2.2 各组自噬蛋白 Beclin-1 及 LC3B 的表达比较 与对照组

相比, X-Ray+NU7441 组食管鳞癌细胞 EC109 中 Beclin-1 及 LC3B 表达升高 ($P < 0.05$); 与 X-Ray 组相比, X-Ray+NU7441 组 Beclin-1 表达升高 ($P < 0.05$), 见图 2。

2.3 细胞凋亡分析 与对照组相比, 单独 NU7441 组细胞凋亡率无明显变化, X-Ray 组及 X-Ray+NU7441 组凋亡率明显增加, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。与单独 NU7441 组和 X-Ray 组相比, X-Ray+NU7441 组细胞凋亡率明显增加 ($P < 0.05$), 见图 3。

2.4 MTT 检测细胞增殖情况比较 与对照组相比, 单独 NU7441 组细胞增殖无明显变化, X-Ray 组及 X-Ray+NU7441 组增殖明显被抑制, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。与单独 X-Ray 组相比, X-Ray+NU7441 组细胞抑制率明显增加 ($P < 0.05$), 见图 4。



^a: $P < 0.05$, 与对照组比较; ^b: $P < 0.05$, 与 X-Ray 组比较

图 4 不同处理组对食管鳞癌 EC109 细胞增殖的影响

3 讨论

电离辐射可造成肿瘤细胞 DSBs, 肿瘤细胞可通过 HR 和 NHEJ 两种机制进行修复^[2], 这也是肿瘤细胞放疗抵抗的重要机制之一。DNA-PKcs 是 NHEJ 的重要成分^[2], 其募集与磷酸化有助于肿瘤细胞通过 NHEJ 进行 DNA 断裂的修复。另外在 DSBs 修复中 DNA-PKcs 也参与 DSBs 诱导的细胞凋亡^[12]。通过抑制 DNA-PKcs 对 DSBs 的修复可导致细胞死亡。NU7441 可抑制 DNA-PKcs, 从而抑制 DSBs 的修复^[3-5]。前期本课题组分别用 0~8 Gy 作用于 EC109、TE7 和 EC9706 食管癌细胞系, 结果表明在 8 Gy 时 DNA-PKcs mRNA 升高最明显, 因此将照射剂量定为 8 Gy^[11]。本研究中 Western blot 结果显示, X-Ray 照射后食管鳞癌细胞 EC109 中 p-DNA-PKcs 表达升高; NU7441 处理后, p-DNA-PKcs 则表达降低, 且差异有统计学意义。证实放射照射可诱导 p-DNA-PKcs 增多, 且 NU7441 可有效抑制 p-DNA-PKcs。t-DNA-PKcs 也有类似的变化趋势, 但统计学分析无明显差异, 可能由于 DNA-PKcs 的功能主要依靠其磷酸化^[3], NU7441 主要通过抑制 DNA-PKcs 磷酸化发挥作用。

放射照射可以促进自噬, 同时也可诱导 DSBs 和继发的修复反应。以往研究均表明在 DNA 受损后, 细胞自噬增多^[8-9]。为进一步明确自噬与放射照射引起的 DNA 损伤间的关系, 本研究用 DNA-PKcs 抑制剂 NU7441 抑制放射照射后 EC109 细胞 DSBs 修复, 通过检测自噬蛋白 Beclin-1 及 LC3B 表达水平, 观察 EC109 细胞自噬情况。结果显示单独放射照射或单独应用 NU7441 EC109 细胞自噬均增多; 放射照射联合 NU7441 作用 EC109 细胞后自噬明显增多, 表明放射照射、NU7441 及放射照射联合 NU7441 均可诱导细胞自噬增多。

自噬在细胞中的作用存在争议, 自噬既可诱导受损细胞死亡, 也可对细胞起保护作用^[13]。如自噬持续激活, 细胞器和关键蛋白被耗尽, 则导致一种特殊形式的细胞程序性死亡。但当

处于外界压力下如营养缺乏时, 自噬则为促进细胞存活的保护性机制。同样, 自噬对放射照射所引起的 DNA 损伤的作用亦存在争议。研究表明放疗过程中自噬增加或减少均可增强放疗敏感性^[13], 如放疗联合雷帕霉素、NU7441 增加自噬; 联合 3-methyladenine (3-MA)、baflomycin A1 (Baf-A1)、Compound C 减少自噬, 均可增加放疗敏感性促进细胞死亡^[14-18]。但放疗过程中 NU7441 增加自噬提高放疗敏感性的结果是一致的, 研究表明 NU7441 可提高结肠癌^[4]、乳腺癌^[5]和前列腺癌^[19]的放疗敏感性, 这也与本研究的实验结果相符。细胞凋亡检测发现, 单独放射照射、放射照射联合 NU7441 均使细胞凋亡明显增多; 且放射照射联合 NU7441 较单独放射照射细胞凋亡增多更加明显。MTT 亦得到相似的结果。从而证实 NU7441 可增加 EC109 细胞放疗敏感性, 提高放疗效率。

综上所述, 本研究证实 NU7441 可阻断 EC109 细胞放射照射后 DNA-PKcs 修复通路, 抑制 DSBs 的有效修复, 并发现阻断 EC109 细胞放射照射后 DNA-PKcs 修复通路可促进细胞自噬并抑制细胞增殖。

参考文献

- [1] TORRE L A, BRAY F, SIEGEL R L, et al. Global cancer statistics, 2012[J]. CA Cancer J Clin, 2015, 65(2): 87-108.
- [2] ILIAKIS G, MURMANN T, SONI A. Alternative end-joining repair pathways are the ultimate backup for abrogated classical non-homologous end-joining and homologous recombination repair; Implications for the formation of chromosome translocations[J]. Mutat Res Genet Toxicol Environ Mutagen, 2015, 793: 166-175.
- [3] YANG C, WANG Q, LIU X, et al. NU7441 enhances the radiosensitivity of liver cancer cells[J]. Cell Physiol Biochem, 2016, 38(5): 1897-1905.
- [4] ZHAO Y, THOMAS H D, BATEY M A, et al. Preclinical evaluation of a potent novel DNA-dependent protein kinase inhibitor NU7441 [J]. Cancer Res, 2006, 66(10): 5354-5362.
- [5] CISZEWSKI W M, TAVECCHIO M, DASTYCH J, et al. DNA-PK inhibition by NU7441 sensitizes breast cancer cells to ionizing radiation and doxorubicin [J]. Breast Cancer Res Treat, 2014, 143(1): 47-55.
- [6] TANG D, KANG R, LIVESEY K M, et al. Endogenous HMGB1 regulates autophagy [J]. J Cell Biol, 2010, 190(5): 881-892.
- [7] VALENCIA T, KIM J Y, ABU-BAKER S, et al. Metabolic reprogramming of stromal fibroblasts through p62-mTORC1 signaling promotes inflammation and tumorigenesis[J]. Cancer Cell, 2014, 26(1): 121-135.
- [8] KANZAWA T, GERMANO I M, KOMATA T, et al. Role of autophagy in temozolomide-induced cytotoxicity for malignant glioma cells[J]. Cell Death Differ, 2004, 11(4): 448-457.
- [9] ZENG X, YAN T, SCHUPP J E, et al. DNA mismatch repair initiates 6-thioguanine-induced autophagy through p53 activation in human tumor cells[J]. Clin Cancer Res, 2007, 13(4): 1315-1321.
- [10] BAE H, GUAN J L. Suppression of (下转第 1164 页)

参考文献

- [1] PATEL T R, SUR S. IgE and eosinophils as therapeutic targets in asthma[J]. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*, 2017, 17(1):42-49.
- [2] WANG Y, GHOSHAL A G, BIN ABDUL MUTTALIF A R, et al. Quality of Life and economic burden of respiratory disease in Asia-Pacific-Asia-Pacific burden of respiratory diseases study[J]. *Value Health Reg*, 2016, 9:72-77.
- [3] CHANG W P, KUO C N, KUO L N, et al. Increase risk of allergic diseases in patients with ankylosing spondylitis: A 10-year follow-up population-based study in Taiwan [J]. *Medicine(Baltimore)*, 2016, 95(45):e5172.
- [4] CIPRANDI G, MARSEGLIA G L, CASTAGNOLI R A, et al. From IgE to clinical trials of allergic rhinitis[J]. *Expert Rev Clin Immunol*, 2015, 11(12):1321-1333.
- [5] GOULD H J, SUTTON B J. IgE in allergy and asthma Today[J]. *Nat Rev Immunol*, 2008, 8(3):205-217.
- [6] LIU F, XU L, CHEN N, et al. Neuronal Fc-epsilon receptor I contributes to antigen-evoked pruritus in a murine model of ocular allergy[J]. *Brain Behav Immun*, 2017, 61(16):165-175.
- [7] CRUSE G, YIN Y, FUKUYAMA T, et al. Exon skipping of FcεRIβ eliminates expression of the high-affinity IgE receptor in mast cells with therapeutic potential for allergy[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2016, 113(49):14115-14120.
- [8] HONG J Y, BAE J H, LEE K E, et al. Antibody to FcεRIα suppresses immunoglobulin E binding to High-Affinity receptor I in allergic inflammation[J]. *Yonsei Med J*, 2016, 57(6):1412-1419.
- [9] FIEBIGER E, TORTORELLA D, JOUVIN M H, et al. Cotranslational endoplasmic reticulum assembly of FcεpsilonRI controls the formation of functional IgE-binding receptors[J]. *J Exp Med*, 2005, 201(2):267-277.
- [10] KRAFT S, KINET J P. New developments in FcεpsilonRI regulation, function and inhibition[J]. *Nat Rev Immunol*, 2007, 7(5):365-378.
- [11] YUTA A. Immunotherapy for allergic rhinitis[J]. *Nihon Jibiinkoka Gakkai Kaiho*, 2015, 118(2):152-155.
- [12] DU TOIT G, PRESCOTT R, LAWRENCE P, et al. Autoantibodies to the high-affinity IgE receptor in children with chronic urticaria[J]. *Ann Allergy Asthma Immunol*, 2006, 96(2):341-344.
- [13] ECKMAN J A, HAMILTON R G, GOBER L M, et al. Basophil phenotypes in chronic idiopathic urticaria in relation to disease activity and autoantibodies[J]. *J Invest Dermatol*, 2008, 128(8):1956-1963.
- [14] KONSTANTINOOU G N, ASERO R, FERRER M, et al. EAACI taskforce position paper: evidence for autoimmune urticaria and proposal for defining diagnostic criteria[J]. *Allergy*, 2013, 68(1):27-36.
- [15] LEE M F, LIN T M, LIU S W, et al. A rapid method of detecting autoantibody against FcεRIα for chronic spontaneous urticaria[J]. *PLoS One*, 2014, 9(10):e109565.
- (收稿日期:2017-10-25 修回日期:2017-12-14)
- (上接第 1160 页)
- autophagy by FIP200 deletion impairs DNA damage repair and increases cell death upon treatments with anti-cancer agents [J]. *Mol Cancer Res*, 2011, 9(9):1232-1241.
- [11] 赵晓静, 马军, 袁翎, 等. 食管鳞癌细胞系 TE7 放射照射后 miRNAs 及 DNA 修复相关因子的表达[J]. *郑州大学学报(医学版)*, 2017, 52(3):247-250.
- [12] DERIANO L, GUIPAUD O, MERLE-B? RAL H, et al. Human chronic lymphocytic leukemia B cells can escape DNA damage-induced apoptosis through the nonhomologous end-joining DNA repair pathway[J]. *Blood*, 2005, 105(12):4776-4783.
- [13] XIN Y, JIANG F, YANG C, et al. Role of autophagy in regulating the radiosensitivity of tumor cells[J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2017, 143(11):2147-2157.
- [14] PALUMBO S, PIRTOLI L, TINI P, et al. Different involvement of autophagy in human malignant glioma cell lines undergoing irradiation and temozolomide combined treatments[J]. *J Cell Biochem*, 2012, 113(7):2308-2318.
- [15] YU L, SHANG Z F, HSU F M, et al. NSCLC cells demonstrate differential mode of cell death in response to the combined treatment of radiation and a DNA-PKcs inhibitor[J]. *Oncotarget*, 2015, 6(6):3848-3860.
- [16] LIANG B, KONG D, LIU Y, et al. Autophagy inhibition plays the synergetic killing roles with radiation in the multi-drug resistant SKVCR ovarian cancer cells [J]. *Radiat Oncol*, 2012, 7:213.
- [17] HAN M W, LEE J C, CHOI J Y, et al. Autophagy inhibition can overcome radioresistance in breast cancer cells through suppression of TAK1 activation[J]. *Anticancer Res*, 2014, 34(3):1449-1455.
- [18] 卢小迪, 朱小东, 赵伟, 等. 抑制磷酸腺苷激活的蛋白激酶活性增强鼻咽癌细胞放射敏感性[J]. *重庆医学*, 2014(22):2900-2902.
- [19] SHAHEEN F S, ZNOJEK P, FISHER A, et al. Targeting the DNA double Strand break repair machinery in prostate cancer[J]. *PLoS One*, 2011, 6(5):e20311.
- (收稿日期:2017-10-19 修回日期:2017-12-17)