

## IgE 高亲和力受体蛋白的制备及其生物功能的鉴定

徐婷,张强,喻荷莲,王世春,徐小敏,易中梅,蒋天伦<sup>△</sup>

(陆军军医大学西南医院输血科,重庆 400038)

**[摘要]** **目的** 通过基因工程技术制备人 IgE 抗体结合其高亲和力受体  $\alpha$  段(Fc $\epsilon$ RI $\alpha$ )蛋白并对其生物学功能进行鉴定,为探讨 Fc $\epsilon$ RI $\alpha$  在过敏性疾病中的作用奠定研究基础。**方法** 应用基于 PCR 的精确合成法(PAS)方法获得人 Fc $\epsilon$ RI $\alpha$  基因,构建原核表达载体 pET-Fc $\epsilon$ RI $\alpha$ ,低温诱导表达 Fc $\epsilon$ RI $\alpha$  并采用 His 标签纯化重组蛋白;通过 ELISA 法鉴定重组人 Fc $\epsilon$ RI $\alpha$  蛋白的生物学功能。**结果** 扩增出大小约为 560 bp 的人 Fc $\epsilon$ RI $\alpha$  基因;pET-Fc $\epsilon$ RI $\alpha$  质粒经双酶切及测序鉴定正确;诱导表达并纯化出相对分子质量大小约为 22 000 的人 Fc $\epsilon$ RI $\alpha$ ;重组人 Fc $\epsilon$ RI $\alpha$  能有效检测人血清中的抗 Fc $\epsilon$ RI $\alpha$  自身抗体水平,并且能够与人血清中 IgE 抗体高效结合。**结论** 成功制备人 Fc $\epsilon$ RI $\alpha$  蛋白,并初步具备检测人血清中抗 Fc $\epsilon$ RI $\alpha$  自身抗体及 IgE 抗体的能力,为后续研究提供了有利的实践基础。

**[关键词]** IgE 高亲和力受体;IgE 抗体;抗 Fc $\epsilon$ RI $\alpha$  自身抗体;酶联免疫吸附测定

**[中图分类号]** R392.8 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2018)09-1161-04

## Preparation of IgE high affinity receptor protein and its biological function identification

XU Ting, ZHANG Qiang, YU Helian, WANG Shichun, XU Xiaomin, YI Zhongmei, JIANG Tianlun<sup>△</sup>

(Department of Blood Transfusion, Southwest Hospital, Army Military Medical University, Chongqing 400038, China)

**[Abstract]** **Objective** To prepare human alpha segment of high affinity IgE receptor(Fc $\epsilon$ RI $\alpha$ ) protein by genetic engineering technology and to identify its biological function for laying the foundation for further researching the role of Fc $\epsilon$ RI $\alpha$  in allergic diseases. **Methods** The human Fc $\epsilon$ RI $\alpha$  gene was obtained by the PCR based accurate synthesis(PAS) method and the prokaryotic expression vector pET-28a(+) was constructed. The Fc $\epsilon$ RI $\alpha$  was expressed at low temperature induction and the recombinant protein was purified by His tag. The biological function of recombinant human Fc $\epsilon$ RI $\alpha$  protein was identified by ELISA. **Results** The human Fc $\epsilon$ RI $\alpha$  gene was amplified by PAS with a size of approximately 560 bp. The pET-Fc $\epsilon$ RI $\alpha$  plasmid was correct through the double enzyme digestion and sequencing identification. The human Fc $\epsilon$ RI $\alpha$  with a molecular weight of approximately 22 000 was induced and purified. The recombinant human Fc $\epsilon$ RI $\alpha$  could effectively detect human serum anti-Fc $\epsilon$ RI $\alpha$  autoantibody and could combined with serum IgE antibodies with high efficiency. **Conclusion** Human Fc $\epsilon$ RI $\alpha$  protein is successfully prepared, which preliminarily has the ability for detecting the human serum anti-Fc $\epsilon$ RI $\alpha$  autoantibodies and IgE antibodies, and provides a favorable practical base for further study.

**[Key words]** IgE high affinity receptor; IgE antibody; anti-Fc $\epsilon$ RI $\alpha$  autoantibody; enzyme-linked immunosorbent assay

过敏性疾病常表现为支气管哮喘、过敏性鼻炎和过敏性皮肤病等,对患者的日常生活质量有极大影响,严重时可危及生命,且这类疾病多由特异性 IgE 抗体介导的 I 型超敏反应所引起<sup>[1-3]</sup>。当 I 型超敏反应启动时,IgE 抗体结合于其高亲和力受体  $\alpha$  段(alpha segment of high affinity IgE receptor, Fc $\epsilon$ RI $\alpha$ )上,IgE-Fc $\epsilon$ RI $\alpha$  的交联分子可促使肥大细胞脱颗粒并释放血管活性物质,从而引起过敏反应<sup>[4-5]</sup>。研究表明,Fc $\epsilon$ RI $\alpha$  蛋白在 IgE 介导的过敏性疾病的发生中占有重要地位<sup>[6-8]</sup>。因此,本研究通过基因工程技术制备 Fc $\epsilon$ RI $\alpha$  蛋白并对其生物学功能进行鉴定,为后续进一步探讨 Fc $\epsilon$ RI $\alpha$  在过敏性疾病中的作用奠定研究基础。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 本研究经医院伦理学委员会批准,患者知情同意,从本院收集健康人和慢性荨麻疹(chronic urticaria, CU)患者标本各 30 例,健康人为对照组, CU 患者为观察组。原核载体 pET-28a(+), TOP10 菌株、Arcticexpress 表达菌株均购自南京钟鼎生物技术有限公司;DNA 纯化试剂盒、质粒提取试

剂盒购自美国 Axygen 公司;限制性内切酶、DNA 聚合酶均购自日本 Takara 公司;Ni<sup>2+</sup> IDA 亲和层析胶购自美国 Novagen 公司;小鼠抗人 IgE 单克隆抗体、HRP 标记的山羊抗人 IgG、HRP 标记的山羊抗鼠 IgG 单克隆抗体均购自英国 Abcam 公司;3,3',5,5'-四甲基联苯胺(TMB)显色试剂盒购自上海碧云天生物技术有限公司。

台式高速离心机购自德国 Sorval 公司;Biologic LP 层析系统、Mini Protean II 垂直平板电泳系统、Gel Doc2000 成像系统、水平电泳系统均购自美国 BIO-RAD 公司;PTC-200 基因扩增仪购自美国 MJ Research 公司;Hofer MV-25 紫外透射仪购自美国 Amersham Pharmacia 公司;JY92-2D 超声波细胞粉碎仪购自中国新芝科技研究所;Multiskan MK3 酶标仪购自美国 Thermo 公司。

## 1.2 方法

**1.2.1 人 Fc $\epsilon$ RI $\alpha$  基因的扩增** 根据 Gene Bank 中人的 Fc $\epsilon$ RI $\alpha$  mRNA 序列(NM\_002001.2),采用基于 PCR 的精确合成法(PCR-based accurate synthesis, PAS)的方法设计全长拼

接引物合成基因  $Fc\epsilon RI\alpha$ ,并在引物的上下游分别引入  $Nco\ I$  和  $Xho\ I$  酶切位点。引物序列如下:P1 上游引物为 5'-TGT TTA ACT TTA AGA AGG AGA TAT ACC ATG GGC ATG GTC CCT CAG AAA CCT AAG G-3';P2 下游引物为 5'-AGC CGG ATC TCA GTG GTG GTG GTG GTT GCT CGA GTT GTA GCC AGT ACT TCT CA-3'。反应条件为 95 °C 预变性 5 min;95 °C 变性 30 s,58 °C 退火 30 s,72 °C 延伸 30 s,共 30 个循环;最后 72 °C 延伸 10 min。

### 1.2.2 人 $Fc\epsilon RI\alpha$ 重组表达质粒 pET- $Fc\epsilon RI\alpha$ 的构建和鉴定

将人  $Fc\epsilon RI\alpha$  基因经  $Nco\ I$ / $Xho\ I$  双酶切处理后连接至原核载体 pET-28a(+),将重组质粒转入 TOP10 克隆菌株,挑取阳性克隆子经  $Xba\ I$ / $Xho\ I$  双酶切鉴定正确后,送往上海生工公司测序。

### 1.2.3 人 $Fc\epsilon RI\alpha$ 的诱导表达

将质粒 pET-28a(+),pET- $Fc\epsilon RI\alpha$  均转化至 Arctic Express 感受态细胞中。吸取 1 mL 菌液为诱导前对照,在剩余菌液中加入诱导剂异丙基- $\beta$ -D-硫代半乳吡喃糖苷(isopropyl  $\beta$ -D-1-thiogalactopyranoside, IPTG),使其终浓度为 0.5 mmol/L,11 °C 220 r/min 振荡过夜,诱导蛋白表达。诱导后的菌液离心 10 min,弃上清液,用 PBS 重悬菌体沉淀,后用超声波破碎细菌,分别收集上清液与沉淀液中的蛋白样品于 12% SDS-PAGE 检测分析。

### 1.2.4 人 $Fc\epsilon RI\alpha$ 包涵体蛋白的复性及纯化

收集菌体超声破碎后的沉淀,用包涵体洗涤液(20 mmol/L Tris,1 mmol/L EDTA,2 mol/L 尿素,1 mol/L NaCl,1% Triton X-100,pH 8.0)洗涤包涵体 3 次;用溶解缓冲液(20 mmol/L Tris,5 mmol/L DTT,8 mmol/L 尿素,pH 8.0)溶解包涵体,4 °C 放置过夜,于 15 000 r/min 室温离心 15 min;将上述溶液滴加至透析缓冲液(20 mmol/L Tris-HCl,100 mmol/L NaCl,pH 8.0)中,逐步成倍梯度稀释缓慢搅拌,将蛋白溶液装入透析袋于透析溶液中透析过夜。将包涵体溶液以 0.5 mL/min 流速上样至 Ni-IDA-Sepharose CL-6B 亲和层析柱中,利用低压力层析系统对重组蛋白进行纯化,并采用 12% SDS-PAGE 检测分析。

### 1.2.5 ELISA 检测人血清中抗 $Fc\epsilon RI\alpha$ 自身抗体的水平

将重组  $Fc\epsilon RI\alpha$  40 ng/mL 100  $\mu$ L 包被于 ELISA 板上,4 °C 过夜并封闭,于板孔中加入 1:100 稀释的对照组和观察组血清标本,37 °C 孵育 30 min;加入 HRP 标记的山羊抗人 IgG(1:5 000),37 °C 孵育 30 min;洗板后,每孔加入 TMB 显色液 100  $\mu$ L,于 37 °C 避光显色 20 min,加入 50  $\mu$ L  $H_2SO_4$ (2 mol/L),于 20 min 内测定吸光度(A)值。

### 1.2.6 ELISA 检测鉴定人 $Fc\epsilon RI\alpha$ 重组蛋白与人血清中 IgE 的结合力

将重组  $Fc\epsilon RI\alpha$  100  $\mu$ L 包被于 ELISA 板上,包被浓度分别设置为 0、10、20、30、40、50、60 ng/mL,4 °C 过夜并封闭,于板孔中分别加入 PBS(PBS 组)、1:100 稀释的对照组和观察组血清标本,37 °C 孵育 30 min;加入 100  $\mu$ L 小鼠抗人 IgE(1:1 000),具体操作步骤同上。

### 1.3 统计学处理

应用 SPSS16.0 统计软件进行数据分析,组间差异采用单因素方差分析的 SNK-q 检验,以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

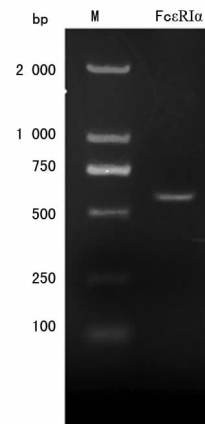
## 2 结 果

### 2.1 人 $Fc\epsilon RI\alpha$ 基因的扩增

#### 2.1.1 人 $Fc\epsilon RI\alpha$ 基因的 PCR 扩增

设计全长拼接引物,通过基于 PAS 的方法获得  $Fc\epsilon RI\alpha$  胞外区段基因,经核酸电泳显

示目的基因大小约为 560 bp,见图 1。

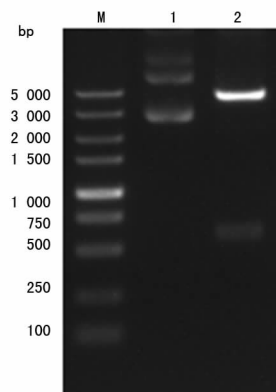


M:DNA 分子量标记物

图 1 人  $Fc\epsilon RI\alpha$  基因合成产物电泳图

#### 2.1.2 重组质粒 pET- $Fc\epsilon RI\alpha$ 的酶切鉴定

采用限制性内切酶  $Xba\ I$ / $Xho\ I$  对重组质粒 pET- $Fc\epsilon RI\alpha$  进行双酶切,电泳条带大小约为 5 300 bp 和 600 bp,见图 2。



M:DNA 分子量标记物;1:酶切前的重组质粒;2:酶切后的重组质粒

图 2 重组质粒 pET- $Fc\epsilon RI\alpha$  的双酶切鉴定

#### 2.1.3 阳性克隆子的测序结果

测序结果与 GenBank 中  $Fc\epsilon RI\alpha$  的序列通过 BLAST 软件进行比对,结果显示阳性克隆子的序列与原序列一致。

### 2.2 人 $Fc\epsilon RI\alpha$ 的诱导表达、复性及纯化

#### 2.2.1 人 $Fc\epsilon RI\alpha$ 的诱导表达

SDS-PAGE 结果显示,重组质粒 pET- $Fc\epsilon RI\alpha$  在原核表达宿主 Arctic Express 菌株中,诱导条件温度为 11 °C、IPTG 浓度为 0.5 mmol/L、振荡转速为 220 r/min 过夜后,有相对分子质量约 22 000 大小的较浓条带出现,大小与预期蛋白相对分子质量一致,而在无诱导条件中则无条带出现。但是,从图 3 中可以发现,目标蛋白主要集中在诱导表达的菌体裂解后的沉淀中。

#### 2.2.2 人 $Fc\epsilon RI\alpha$ 的复性及纯化

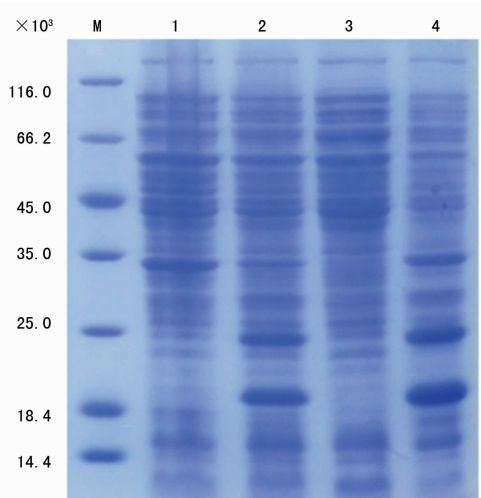
SDS-PAGE 分析蛋白相对分子质量大小约为 22 000(图 4),纯化后的蛋白浓度明显高于未纯化前。

#### 2.3 人 $Fc\epsilon RI\alpha$ 的生物功能的鉴定

##### 2.3.1 人血清中抗 $Fc\epsilon RI\alpha$ 自身抗体水平的测定

对照组中抗  $Fc\epsilon RI\alpha$  自身抗体浓度为  $(2.19 \pm 0.48)$  ng/mL,观察组中抗

FcεRIα 自身抗体浓度为(13.65±1.64)ng/mL,观察组血清中的抗 FcεRIα 自身抗体浓度明显高于对照组( $P<0.05$ )。

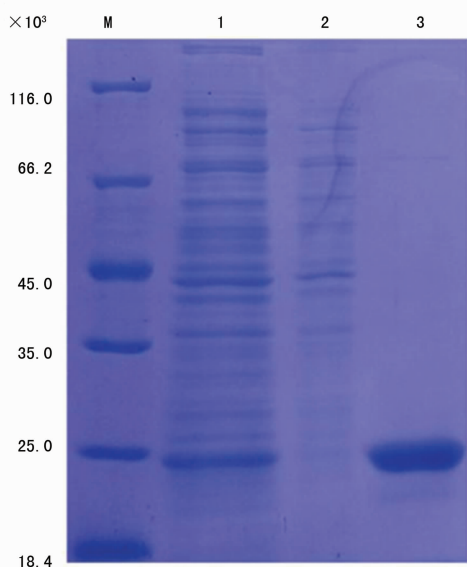


M: 蛋白分子量标记物; 1: 重组质粒未诱导的表达产物; 2: 重组质粒诱导表达的可溶性产物; 3: 诱导表达的菌体裂解后上清液; 4: 诱导表达的菌体裂解后沉淀液

图 3 人 FcεRIα 诱导表达的 SDS-PAGE 分析

2.3.2 人 FcεRIα 重组蛋白与人血清中 IgE 的结合力测定  
将不同浓度的重组人 FcεRIα 分别包被于 ELISA 板,随包被蛋

白量的增加,A 值逐渐增大。当包被量继续增加时,A 值不再继续增大。在包被蛋白量相同的条件下,观察组血清的 A 值均大于对照组( $P<0.05$ ,表 1)。PBS 组 A 值小于 0.1,由此能判断重组的人 FcεRIα 可与人血清中的 IgE 结合,见表 1。



M: 蛋白分子量标记物; 1: 未纯化的表达产物; 2: 穿透液; 3: 洗脱液  
图 4 人 FcεRIα 复性及纯化的 SDS-PAGE 分析

表 1 各组不同浓度人 FcεRIα 重组蛋白与血清中 IgE 结合的 A 值比较 (ng/mL,  $\bar{x} \pm s, n=5$ )

组别	0	10	20	30	40	50	60
PBS 组	0.058±0.008	0.057±0.005	0.063±0.007	0.068±0.006	0.060±0.007	0.061±0.004	0.064±0.005
对照组	0.216±0.020	0.350±0.012	0.405±0.017	0.464±0.011	0.502±0.014	0.522±0.009	0.554±0.009
观察组	0.312±0.020 <sup>a</sup>	0.496±0.010 <sup>a</sup>	0.545±0.014 <sup>a</sup>	0.682±0.014 <sup>a</sup>	0.818±0.013 <sup>a</sup>	0.806±0.010 <sup>a</sup>	0.807±0.015 <sup>a</sup>

<sup>a</sup>:  $P<0.05$ ,与对照组比较

### 3 讨 论

本研究利用 pET 原核表达系统在体外成功制备了人 FcεRIα 蛋白并对重组蛋白的生物学功能进行了鉴定。结果表明,通过 pET-28a(+)质粒克隆表达出的重组人 FcεRIα 蛋白能够有效地检测慢性荨麻疹患者血清中的抗 FcεRIα 抗体水平,并且能够与人血清中的 IgE 结合。本研究中的原核表达系统采用的是 T7 启动子,该启动子可调控目的基因的高效表达,同时在目的蛋白中融合 His 标签,有便于表达后的亲和纯化。实验采用低诱导温度(11℃)和低 IPTG 浓度(0.5 mmol/L),通过减慢蛋白合成速率,从而改变多肽折叠的动力学,进一步增加蛋白的正确折叠,为重组蛋白的正确表达提供了更有利的条件。

FcεRI 是一个异四聚体结构,具有一条 α 链,一条 β 链,两条 γ 链,膜外区 α 链是 IgE 的结合部位,也是触发过敏反应的基本单位<sup>[9]</sup>。当多价抗原与 IgE 交联时,受体即发生微聚集而被激活,经过蛋白激酶活化、磷脂酰肌醇水解及钙离子流动等信号转导过程,使肥大细胞、嗜碱粒细胞发生释放炎症介质、分泌细胞因子及表达黏附分子等生物学反应,参与过敏性炎症的形成,从而引起过敏反应。在此过程中发现,当血清中 IgE 水平上升时,细胞表面的 FcεRI 表达也出现上调现象<sup>[5,10]</sup>。因此,由 IgE-FcεRI 介导的肥大细胞和嗜碱粒细胞活化被认为是

速发性过敏反应的一个重要标志。近年来,关于 IgE 在过敏反应中的介导作用已逐渐清楚,越来越多的研究更多集中在 FcεRIα 上,尤其是在由抗 FcεRIα 自身抗体所引起的自身免疫性荨麻疹等疾病的研究中<sup>[11]</sup>。

在体外实验中,将自身免疫性荨麻疹患者血清与重组 FcεRIα 胞外区一起孵育,可抑制组胺释放,提示抗 FcεRIα 自身抗体结合的部位位于 FcεRI 的 α 链上。这种针对 FcεRIα 的自身抗体作为致病因子存在于约 12%~30% 的慢性荨麻疹患者血清中,并且这种自身抗体在自身免疫性慢性荨麻疹发病机制中具有重要作用<sup>[12-13]</sup>。在经典的 I 型过敏反应中,抗原与结合于 FcεRI 上的 IgE 发生交联,激活信号传导系统,导致效应细胞脱颗粒而发生过敏,但在自身免疫性慢性荨麻疹中,IgG-抗 IgE 自身抗体与结合在 FcεRI 上的 IgE 发生交联,或 IgG-抗 FcεRIα 自身抗体使相邻 FcεRI 直接交联来激活效应细胞释放炎症介质<sup>[14-15]</sup>。但是,目前国内在临床上尚未出现这类自身抗体的商品化诊断试剂盒,严重影响了抗 FcεRIα 自身抗体引起的此类疾病的诊断。因此,本研究通过基因工程技术制备了 FcεRIα 蛋白并对其生物学功能进行了鉴定,不仅为抗 FcεRIα 自身抗体的诊断研究提供了实践基础,同时为后续进一步探讨 FcεRIα 在 IgE 介导的过敏性疾病中的作用奠定了研究基础。

## 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人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)