

艾迪注射液对人肺腺癌 A549 细胞 放疗敏感性的增加作用及其机制

王勇¹ 刘琴² 朱紫结¹ 罗辉¹ 钟小军¹ 李勇¹

(江西南昌大学第一附属医院 ①肿瘤科, ②呼吸科, 江西 南昌 330000)

【摘要】 目的 观察艾迪注射液对人肺腺癌 A549 细胞放疗敏感性的影响,分析其可能存在的机制。方法 ① 给予不同浓度的艾迪注射液 (1.875、3.75、7.5、15、30、60 mg/mL) 处理 A549 细胞 24 h,同时设置空白对照组,采用四甲基偶氮唑盐 (MTT) 比色法检测艾迪注射液对人肺腺癌 A549 细胞增殖的影响,计算 10% 细胞生长抑制剂量浓度 (IC₁₀),以 IC₁₀ 作为实验药物浓度。② 实验分为空白对照组、艾迪对照组、射线处理组和艾迪预处理组。艾迪对照组给予艾迪注射液 IC₁₀ 孵育 24 h;射线处理组给予 4 Gy X 射线照射后孵育 24 h;艾迪预处理组给予艾迪注射液 IC₁₀ 孵育 24 h 后给予 4 Gy X 射线照射;空白对照组给予等量生理盐水孵育 24 h。采用细胞克隆形成实验检测细胞存活分数 (SF);采用蛋白质免疫印迹试验 (Western Blot) 检测组蛋白 H2AX 的 139 号位点丝氨酸磷酸化为 γ -H2AX、同源重组修复途径中的关键蛋白 Rad51 和细胞自噬体标志性蛋白微血管相关蛋白 1 轻链 3 (LC3) 的蛋白表达情况;用透射电镜观察自噬体形成情况。**结果** 艾迪注射液对人肺腺癌 A549 细胞增殖具有抑制作用,各剂量艾迪注射液组 A549 细胞增殖较空白对照组较低,随药物浓度增加,细胞生长抑制率 (IR) 逐渐增加,呈浓度依赖性,IC₁₀ 为 3.09 mg/mL。与空白对照组比较,艾迪对照组细胞 SF 无明显变化 [(94.7 ± 3.85)% 比 (100.0 ± 0.00)% , $P > 0.05$],射线处理组 SF 下降 [(71.8 ± 5.90)% 比 (100.0 ± 0.00)% , $P < 0.05$],而艾迪预处理组较放疗组进一步下降 [(51.9 ± 4.73)% 比 (71.8 ± 5.90)% , $P < 0.05$]。3 个治疗组 γ -H2AX 蛋白表达均较空白对照组明显增加,以艾迪预处理组最为显著,而且明显高于射线处理组 (灰度值: 1.44 ± 0.11 比 0.93 ± 0.09, $P < 0.05$);但 Rad51 蛋白表达以射线处理组为最高,且高于艾迪预处理组 (灰度值: 1.37 ± 0.07 比 0.78 ± 0.04, $P < 0.05$)。艾迪对照组、射线处理组、艾迪预处理组的 LC3 II/LC3 I 比值较空白对照组有所增加,以艾迪预处理组增加最显著 (0.35 ± 0.06、0.37 ± 0.07、0.49 ± 0.06 比 0.05 ± 0.04, 均 $P < 0.05$)。与空白对照组比较,各治疗组自噬体形成均有不同程度的增加,以艾迪预处理组增加最为明显。**结论** 艾迪注射液对 A549 细胞具有放疗增敏的作用,其机制可能与上调 A549 细胞自噬水平有关。

【关键词】 艾迪注射液; A549 细胞; 放疗增敏; 自噬; DNA 损伤修复

The enhancing radiosensitization effect of Aidi injection on human lung adenocarcinoma A549 cells and its mechanism Wang Yong*, Liu Qin, Zhu Zijie, Luo Hui, Zhong Xiaojun, Li Yong. *Department of Oncology, the First Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang 330006, Jiangxi, China

Corresponding author: Li Yong, Email: liyongcsco@qq.com

【Abstract】 **Objective** To observe the radiosensitization effect of Aidi injection on human lung adenocarcinoma A549 cells, and to analyze its possible mechanism. **Methods** ① A549 cells were treated with different concentrations of Aidi injection (1.875, 3.75, 7.5, 15, 30, 60 mg/mL) for 24 hours, and in the mean time, a blank control group was set up; the effect of Aidi injection on lung adenocarcinoma A549 cells proliferation was detected by methyl thiazolyl tetrazolium (MTT) assay, and the 10% cell growth inhibitor concentration (IC₁₀) was calculated. ② The experiments were divided into blank control, Aidi control, radiation and Aidi pretreatment groups. The Aidi control group was incubated for 24 hours by Aidi injection IC₁₀; the radiotherapy group was given X-ray irradiation of 4 Gy followed by incubation for 24 hours; the Aidi pretreatment group was incubated for 24 hours by Aidi injection IC₁₀ and then given X-ray irradiation of 4 Gy; the blank control group received equal volume of normal saline and was incubated for 24 hours. The survival fraction (SF) value was detected by cell colony formation assay; the protein levels of the serine phosphorylation at 139 locus of histone (γ -H2AX protein), the key protein in homologous recombination repair pathway (Rad51 protein) and the cell autophagy characteristic protein (LC3 protein) were detected by Western Blot; the formation of autophagosome was observed by transmission electron microscope. **Results** Aidi injection possessed the suppression of the growth of human lung adenocarcinoma A549 cells, the proliferation of the cells in various Aidi groups was lower than that in the blank control group, with the increase in drug concentration, the A549 cell growth inhibition ratio (IR) was gradually increased, representing a dose dependent manner, and the IC₁₀ was 3.09 mg/mL. Compared with the blank control group, the SF value in Aidi control group was not significantly different [(94.7 ± 3.85)% vs. (100.0 ± 0.00)% , $P > 0.05$], the SF

value in radiation group was decreased $[(71.8 \pm 5.9)\% \text{ vs. } (100.0 \pm 0.0)\%, P < 0.05]$, and in Aidi pretreatment group, the value was further decreased compared with that in radiation group $[(51.9 \pm 4.7)\% \text{ vs. } (71.8 \pm 5.9)\%, P < 0.05]$. Compared with the blank control group, the expression of γ -H2AX protein in the three treatment groups was significantly increased, the degree of increase in Aidi pretreatment group was the most obvious, and it was significantly higher than that in radiation group (gray value: $1.44 \pm 0.11 \text{ vs. } 0.93 \pm 0.09, P < 0.05$). But the expression of Rad51 protein was the highest in radiation group, and it was higher than that in Aidi pretreatment group (gray value: $1.37 \pm 0.07 \text{ vs. } 0.78 \pm 0.04, P < 0.05$). Compared with the blank control group, the LC3 II/LC3 I value in Aidi control group, radiation group and Aidi pretreatment group were increased, and the degree of increase in Aidi pretreatment group was the most significant ($0.35 \pm 0.06, 0.37 \pm 0.07, 0.49 \pm 0.06 \text{ vs. } 0.05 \pm 0.04$, all $P < 0.05$). Under transmission electron microscope, compared with the blank control group, the autophagosome in all treatment groups was increased to some extent, and the degree of increase in Aidi pretreatment group was the most remarkable. **Conclusion** Aidi injection has the enhancing effect of radiosensitization on human lung adenocarcinoma A549 cells, and its mechanism is possibly related to the up-regulation of A549 cell autophagy level.

【Key words】 Aidi injection; A549 cell; Radiosensitization; Autophagy; DNA damage repair

放射治疗是肺癌综合治疗的重要手段之一,但射线在杀伤肿瘤细胞的同时,也对周围的正常组织产生了损伤。近年来研究发现,许多中草药不仅通过对机体的免疫调节功能发挥抗癌活性^[1-2],而且能够发挥放疗增敏作用^[3],减少正常组织的放射性损伤,降低放疗后并发症的发生。艾迪注射液是由斑蝥、人参、黄芪、刺五加合成的中药制剂,是一种具有免疫调节和抗肿瘤效应的双向广谱抗癌注射液^[4-5]。但目前有关艾迪注射液对肿瘤的放射治疗,尤其在肺癌放射治疗中的作用研究甚少。本研究旨在探讨艾迪注射液对人肺腺癌 A549 细胞放射敏感性的影响及其有关机制,为深入阐明其临床抗肿瘤作用提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 主要试剂及仪器

1.1.1 主要试剂:艾迪注射液由贵州益佰制药股份有限公司生产,每支含生药 0.3 g。高糖 Dulbecco 改良 Eagle 培养基(DMEM 培养基)、胎牛血清均购自美国 Hyclone 公司,胰酶购自美国 Gibco 公司,四甲基偶氮唑盐(MTT)购自北京索莱宝科技有限公司;蛋白提取试剂盒购自美国 Pierce 公司,细胞自噬体标志性蛋白微血管相关蛋白 1 轻链 3(LC3)抗体购自美国 Sigma 公司,组蛋白 H2AX 的 139 号位点丝氨酸磷酸化(γ -H2AX)抗体购自英国 Abcam 公司,同源重组修复中的关键蛋白 Rad51 抗体购自美国 CST 公司,

1.1.2 试验的主要实验仪器:蛋白电泳仪、电转仪(由美国 Bio-Rad 公司生产),二氧化碳恒温培养箱(由美国 Forma 公司生产),直线加速器(由德国西门子子公司生产),JEM-1400/1011 透射电镜(由日本电子株式会社生产)。

1.2 细胞培养与照射条件:人肺腺癌 A549 细胞

(购自中科院上海细胞库)用高糖 DMEM 培养基(含 10% 胎牛血清、100 kU/L 青霉素、100 kU/L 链霉素),置于 37 °C、5% CO₂ 培养箱中培养,用 0.25% 胰酶消化,常规传代培养,取对数生长期的 A549 细胞进行实验。照射条件:室温下采用 6MV X 线照射细胞,培养皿上方垫 1.5 cm 有机玻璃板。源皮距 100 cm,照射剂量为 4 Gy(剂量率为 200 cGy/min),每个实验组设 3 个平行样本。

1.3 MTT 比色法检测细胞增殖活性:将 A549 细胞按 4×10^4 个/mL 密度接种至 96 孔板中,孵育过夜贴壁,加入不同浓度的艾迪注射液(1.875、3.75、7.5、15、30、60 mg/mL),以不含艾迪注射液为阴性对照,每组设 5 个复孔,置于 37 °C、5% CO₂ 培养箱中培养 24 h,弃去旧培养基,加入含 10% 胎牛血清 DMEM 培养基 180 μ L + MTT 溶液(5 mg/mL) 20 μ L,细胞培养箱内继续培养 4 h 后弃去上清,加入 150 μ L 二甲基亚砷(DMSO),常温避光震荡 10 min,用酶联免疫检测仪测量 490 nm 波长下吸光度(A 值)。计算细胞增殖抑制率 $[\text{IR} = (1 - A_{\text{实验}}/A_{\text{对照}}) \times 100\%]$,实验重复 3 次,取平均值,绘制抑制率/药物浓度曲线。为了避免药物对细胞的毒性作用,选用艾迪注射液作用 A549 细胞 24 h 后,有 10% 细胞生长被抑制的浓度(IC₁₀)即为后续实验药物浓度。

1.4 实验分组及处理:A549 细胞按 1×10^6 个/mL 密度接种至 60 mm 培养皿中,孵育过夜贴壁。空白对照组给予等量生理盐水孵育 24 h;艾迪对照组给予 IC₁₀ 的艾迪注射液处理细胞后孵育 24 h;射线处理组接受 4 Gy X 线照射后孵育 24 h;艾迪预处理组给予 IC₁₀ 的艾迪注射液孵育细胞 24 h 后再接受 4 Gy X 射线照射。

1.5 检测指标及方法

1.5.1 细胞克隆实验检测放疗敏感性:每组处理

完毕后用胰酶常规消化,将细胞逐级稀释后接种于 60 mm 培养皿中,加入 5 mL 不含药物的新鲜培养基,常规换液继续培养 14 d 后出现肉眼可见的克隆时终止培养,弃去旧培养基,用磷酸盐缓冲液(PBS)洗 3 遍,甲醇固定 15 min, Giemsa 染液染色 20 min,洗去染液,计数细胞克隆数。克隆形成率(PE) = (每组平均集落数 / 每皿接种细胞数) × 100%, 细胞存活分数(SF) = (实验组集落形成率 / 对照组集落形成率) × 100%。实验重复 3 次,取平均值。

1.5.2 蛋白质免疫印迹试验(Western Blot)检测 γ -H2AX、Rad51、LC3 的蛋白表达:各实验组细胞经干预后继续置于培养箱内孵育,于 4 h 和 24 h 后收集细胞,加入细胞裂解液裂解 20 min,离心 20 min,取上清液提取细胞总蛋白,经二喹啉甲酸法(BCA)测定蛋白浓度。样品 100 °C 煮沸 5 min,取 20 μ g 凝胶电泳;80 V 电压至浓缩胶与分离胶交界处电压转为 100 V,转膜后用 5% 脱脂奶粉 37 °C 封闭 2 h;加一抗 4 °C 孵育过夜,三羟甲基氨基甲烷缓冲盐水吐温(TBST)洗膜 10 min × 3 次,加二抗 37 °C 孵育 1 h, TBST 洗膜 10 min × 3 次;化学荧光法(ECL)显影,分析条带灰度值。以 β 肌动蛋白(β -actin)为内参,结果以目的条带灰度值与内参的条带灰度比值表示。

1.5.3 电镜下观察自噬体变化:取对数生长期的 A549 细胞,实验分组同上。使用不含乙二胺四乙酸(EDTA)的胰酶消化细胞, PBS 清洗 3 次;加入 4% 戊二醛, 4 °C 过夜;经饿酸进一步固定、系列丙酮脱水、浸透、包埋、超薄切片、染色后,于透射电镜下观察自噬体形成情况。

1.6 统计学方法:使用 SPSS 19.0 统计软件对数据进行分析,计量资料以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用 LSD-*t* 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 艾迪注射液对人肺腺癌 A549 细胞生长的抑制作用(图 1):MTT 比色法结果发现,不同浓度艾迪注射液作用 A549 细胞 24 h 后, A549 细胞生长受到抑制,且随药物浓度的升高,细胞抑制率增加,呈浓度依赖性。艾迪注射液对人肺腺癌 A549 细胞的 IC₁₀ 为 3.09 g/L,在后续研究中采用该浓度进行实验。

2.2 艾迪注射液对人肺腺癌 A549 细胞的放射增敏作用(表 1):经 X 射线照射的各组细胞 SF 均较对照组明显下降,且艾迪预处理组较射线处理组下降更为显著(均 $P < 0.05$)。

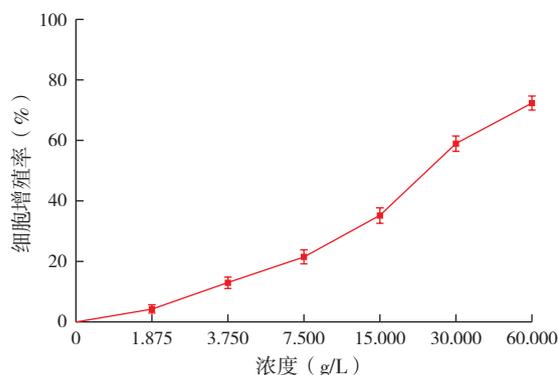


图 1 MTT 比色法检测艾迪注射液对人肺腺癌 A549 细胞增殖的影响

表 1 艾迪注射液对人肺腺癌 A549 细胞放疗后 SF 的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	标本数(次)	SF (%)
空白对照组	3	100.0 ± 0.00
艾迪对照组	3	94.7 ± 3.85
射线处理组	3	71.8 ± 5.90 ^a
艾迪预处理组	3	51.9 ± 4.73 ^{ab}

注:与空白对照组比较,^a $P < 0.05$;与射线处理组比较,^b $P < 0.05$

2.3 艾迪注射液对人肺腺癌 A549 细胞放疗后 γ -H2AX、Rad51 蛋白表达的影响(表 2;图 2):与空白对照组比较,艾迪对照组 γ -H2AX 蛋白表达增加, Rad51 蛋白表达减少,但差异均无统计学意义(均 $P > 0.05$);射线处理组、艾迪预处理组 γ -H2AX、Rad51 蛋白表达均较艾迪对照组增加, γ -H2AX 蛋白表达的变化以艾迪预处理组增加最为显著,但艾迪预处理组 Rad51 蛋白表达较射线处理组减少($P < 0.05$)。

结果表明, 4 Gy 放射治疗可引起 A549 细胞 DNA 损伤,且使放疗后 DNA 损伤修复增加,而 IC₁₀ 艾迪注射液对 A549 细胞 DNA 损伤及 Rad51 修复蛋白表达影响不大,但可增加 A549 细胞放疗后 DNA 损伤和减少 DNA 损伤修复,表明艾迪注射液可增加 A549 细胞放疗敏感性。

表 2 艾迪注射液对人肺腺癌 A549 细胞放疗后 γ -H2AX、Rad51、LC3 II/LC3 I 蛋白表达的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	标本数(次)	γ -H2AX 蛋白(灰度值)	Rad51 蛋白(灰度值)	LC3 II/LC3 I(灰度值)
空白对照组	3	0.59 ± 0.06	0.67 ± 0.07	0.05 ± 0.04
艾迪对照组	3	0.71 ± 0.10	0.62 ± 0.12	0.35 ± 0.06
射线处理组	3	0.93 ± 0.09 ^a	1.37 ± 0.07 ^a	0.37 ± 0.07 ^a
艾迪预处理组	3	1.44 ± 0.11 ^{ab}	0.78 ± 0.04 ^{ab}	0.49 ± 0.06 ^{ab}

注:与空白对照组比较,^a $P < 0.05$;与射线处理组比较,^b $P < 0.05$

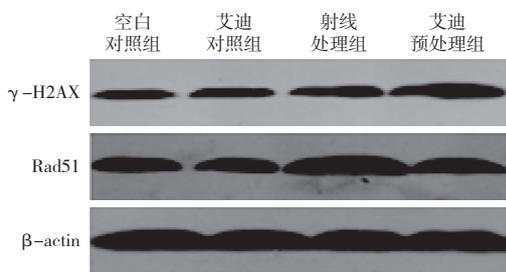


图 2 Western Blot 检测艾迪注射液 IC₁₀ 对放疗后 A549 细胞 γ-H2AX、Rad51 蛋白表达的影响

2.4 艾迪注射液对 A549 细胞自噬水平的影响 (表 2; 图 3): 用 Western blot 检测自噬标志性蛋白 LC3 表达结果发现, 与空白对照组比较, 各实验组 LC3 II 表达均增加, LC3 II/LC3 I 比值较空白对照组有所增加, 且艾迪预处理组增加最为显著 ($P < 0.05$); 电镜结果显示 (图 4), 与空白对照组比较, 各实验组自噬小体形成增加, 且艾迪预处理组自噬小体形成增加最为明显 ($P < 0.05$)。结果表明, 艾迪注射液、放疗可诱导 A549 细胞自噬发生, 且艾迪注射液联合放疗后自噬水平进一步增高。

以上结果表明艾迪注射液很可能通过上调 A549 细胞自噬水平途径增加细胞放疗敏感性。

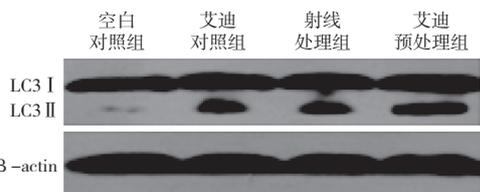


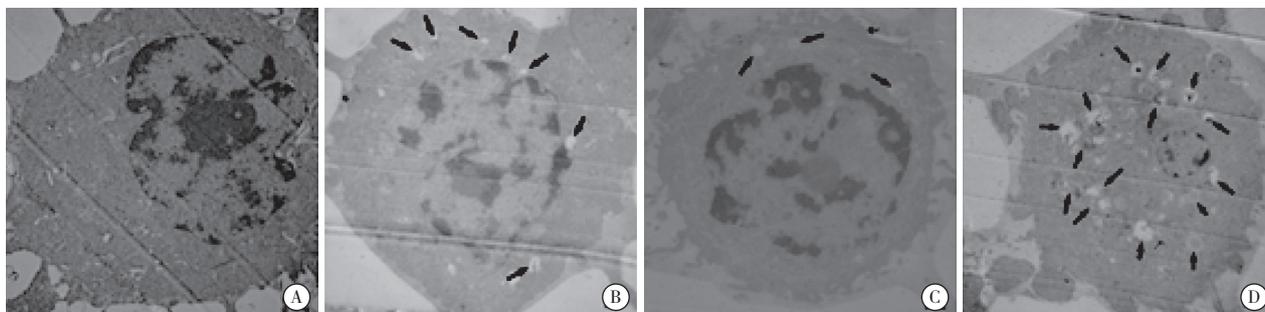
图 3 Western Blot 检测艾迪注射液 IC₁₀ 对放疗后 A549 细胞 LC3 蛋白表达的影响

3 讨论

中医药在肿瘤的治疗中具有独特作用及重要地位。研究发现, 多种中药在肿瘤放射治疗中有增敏作用, 还有降低放化疗毒副反应和提高机体免疫功

能等的作用^[6-7]。艾迪注射液是由中药斑蝥、人参、黄芪、刺五加中所含的抗肿瘤活性物质精炼提纯而配制成的抗癌药物, 有破血散结、补血养气、补脾益肺、强肾壮筋等功效^[8-9]。现代研究发现, 艾迪注射液具有诱导肿瘤细胞凋亡、坏死; 促进造血干细胞分化成熟、提高机体白细胞功能; 增加免疫细胞对肿瘤细胞的杀伤作用^[10]。目前已广泛应用于肺癌、肝癌、胃肠道肿瘤等多种癌症的治疗中。

研究报道, 艾迪注射液具有抑制大肠癌^[11]、肺癌^[12]等多种肿瘤细胞增殖的作用。本研究采用不同浓度的艾迪注射液处理 A549 细胞 24 h, MTT 比色法实验结果发现, 艾迪注射液对 A549 细胞生长具有抑制作用, 并且呈浓度依赖性; 射线处理组、艾迪预处理组 SF 降低, 且艾迪预处理组进一步下降, 而艾迪对照组对 SF 的影响不明显, 可见艾迪注射液可增加放疗后 A549 细胞的死亡。放疗引起的 DNA 损伤将诱导相关信号分子的活化, 其中组蛋白 H2AX 的 139 号位点丝氨酸发生磷酸化转变为 γ-H2AX^[13], 放疗后细胞中 γ-H2AX 的表达可代表细胞内 DNA 受射线损伤的程度, 与 DNA 损伤程度呈正相关^[14]。本研究发现, 放疗后 24 h, 射线处理组和艾迪预处理组 γ-H2AX 蛋白表达上调, 且艾迪预处理组 γ-H2AX 蛋白表达更高。研究表明, 放射敏感性主要与放疗后肿瘤细胞 DNA 损伤修复相关^[15]。Rad51 蛋白是肿瘤细胞放疗后同源重组修复 (HR) 途径中的关键蛋白, 研究表明, 当细胞内 Rad51 蛋白表达减少时, DNA 损伤修复能力将会下降, 细胞对放射治疗的敏感性增加^[16]。本研究发现, 射线处理组 Rad51 蛋白表达较艾迪对照组明显增加, 而艾迪预处理组较射线处理组降低。可见放疗可诱导 A549 细胞 DNA 损伤, 并进行放疗后的自我修复, 由于其修复作用, 极大地削弱了射线对 A549 细胞的杀伤作用; 但在给予艾迪注射液预处理 24 h



A: 空白对照组; B: 艾迪对照组; C: 射线处理组; D: 艾迪预处理组

图 4 透射电镜下观察艾迪注射液 IC₁₀ 对放疗后 A549 细胞自噬小体的影响 (高倍放大)

后,增加了 A549 细胞放疗后 DNA 的损伤,并降低了修复蛋白 Rad51 的表达,增加了肿瘤放射治疗的有效性。但艾迪注射液增加 A549 细胞放疗敏感作用的机制尚不清楚。

研究发现,艾迪注射液可促进细胞凋亡,增加其放疗敏感性^[17]。然而,凋亡与自噬作为细胞两种不同的程序性死亡方式,其间存在着复杂的相互作用^[18-20]。本课题组前期研究发现,通过雷帕霉素上调 A549 细胞自噬水平后可增加放疗后细胞的死亡,提高肿瘤细胞对射线的敏感性^[21]。艾迪注射液是否对 A549 细胞自噬产生影响,是否通过自噬途径对 A549 细胞放疗产生增敏作用有待进一步研究。

自噬是细胞内通过形成双层膜将受损细胞器等待分解的物质包裹,形成自噬小体,并与溶酶体结合降解所包裹物质的自我消化过程^[22]。自噬与多种疾病的病理生理相关,如神经系统紊乱、炎症、肿瘤等^[23-25]。近年来研究发现,调控肿瘤细胞自噬水平可增加细胞的放疗敏感性^[26]。Chen 等^[27]首次报道上调乳腺癌乳腺癌细胞(MCF-7)自噬水平可增加 MCF-7 细胞的放疗敏感性,减少放疗后 Rad51、乳腺癌易感基因(BRCA1)修复蛋白在双链断裂(DSBs)损伤位点的聚集。LC3 II 是自噬形成过程的标志性蛋白,在自噬体形成过程中,LC3 I 转化为 LC3 II,存在于自噬小体的双层膜上,因此,LC3 II/LC3 I 的比值越大预示着自噬活性就越高。本研究结果显示,A549 细胞在经艾迪注射液处理 24 h 后 LC3 II 表达增高,LC3 II/LC3 I 比值增加;同时电镜结果显示,艾迪注射液处理后细胞内自噬体形成增加。可见艾迪注射液能上调 A549 细胞自噬水平。

综上所述,艾迪注射液对 A549 细胞的生长具有抑制作用,并可增加 A549 细胞的放疗敏感性。其机制可能是通过上调 A549 细胞自噬水平实现的。但其确切信号途径尚有待于进一步研究。

参考文献

[1] 胡云才,孙立新,陆洁,等.灵芝多糖对肺癌患者血清淋巴细胞活化的抑制作用[J].中国中西医结合急救杂志,2012,19(5):300-303.
 [2] 朱江,周桂萍.香菇多糖联合化疗治疗中晚期肺癌疗效观察[J].中国中西医结合急救杂志,2011,18(1):37.
 [3] 张巧丽,黄金昶.中药放疗增敏剂的研究进展[J].中国临床医生杂志,2014,42(11):23-25.
 [4] 王刚,周朝娟.艾迪注射液配合放射治疗鼻咽癌的临床观察[J].中国肿瘤临床与康复,2003,10(5):460-461.
 [5] 吴剑.艾迪注射液加放疗治疗非小细胞肺癌的疗效观察[J].肿瘤防治杂志,2003,10(4):403-404.
 [6] 徐振晔.益气养精为主分阶段治疗晚期非小细胞肺癌的探索[J].上海中医药大学学报,2010,24(4):1-4.
 [7] 张成明,于金玲,王海霞,等.黄芪注射液对感染性休克大鼠心

肌损伤的影响[J].中国中西医结合急救杂志,2007,14(1):47-50.
 [8] 曲政海,刘小梅,谢宁,等.人参五味子汤预防小鼠哮喘的作用机制研究[J].中国中西医结合急救杂志,2008,15(4):201-204.
 [9] 范跃祖,陈春球,赵泽明,等.去甲斑蝥素对胆囊癌肿瘤血管生成的作用及机制研究[J].中华医学杂志,2006,86(10):693-699.
 [10] 胡文兵,高小平.艾迪注射液对肝癌 HepG2 细胞放疗增敏的研究[J].现代肿瘤医学,2011,19(3):446-448.
 [11] 张俊华,张银旭,左腾,等.艾迪注射液对大肠癌细胞的生长抑制作用观察及相关机制探讨[J].山东医药,2011,51(50):46-48.
 [12] 陈军,武延庆,姚莉.艾迪注射液对肺癌 SPC-A-1 细胞的增殖抑制作用及其机制[J].中成药,2015,37(3):630-633.
 [13] Chowdhury D, Keogh MC, Ishii H, et al. gamma-H2AX dephosphorylation by protein phosphatase 2A facilitates DNA double-strand break repair[J]. Mol Cell, 2005, 20(5): 801-809.
 [14] Rothkamm K, Lobrich M. Evidence for a lack of DNA double-strand break repair in human cells exposed to very low x-ray doses[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2003, 100(9): 5057-5062.
 [15] Sorensen CS, Hansen LT, Dziegielewska J, et al. The cell-cycle checkpoint kinase Chk1 is required for mammalian homologous recombination repair[J]. Nat Cell Biol, 2005, 7(2): 195-201.
 [16] Mo N, Lu YK, Xie WM, et al. Inhibition of autophagy enhances the radiosensitivity of nasopharyngeal carcinoma by reducing Rad51 expression[J]. Oncol Rep, 2014, 32(5): 1905-1912.
 [17] 纪宁,朱惠霞,季斌.艾迪注射液对肺癌细胞 A549 放疗增敏作用的实验研究[J].实用肿瘤杂志,2010,25(1):60-64.
 [18] Vijayarathna S, Jothy SL, Chen Y, et al. Anti-Cancer Natural Products Inducing Cross-talk between Apoptosis and Autophagy Mutual Proteins to Regulate Cancer Cell Death: Design of Future Green Anticancer Therapies[J]. Asian Pac J Cancer Prev, 2015, 16(14):6175-6176.
 [19] Ouyang C, You J, Xie Z. The interplay between autophagy and apoptosis in the diabetic heart[J]. J Mol Cell Cardiol, 2014, 71: 71-80.
 [20] Dai C, Tang S, Velkov T, et al. Colistin-induced apoptosis of neuroblastoma-2a cells involves the generation of reactive oxygen species, mitochondrial dysfunction, and autophagy[J]. Mol Neurobiol, 2015, 52: 1-16 [2015-09-08]. [published online ahead of print August 28, 2015].
 [21] 徐丽瑶.自噬对人肺腺癌 A549 细胞放疗敏感性影响机制的初步探讨[D].南昌:南昌大学医学院,2013:1-50.
 [22] Mizushima N, Yoshimori T, Ohsumi Y. The role of Atg proteins in autophagosome formation[J]. Annu Rev Cell Dev Biol, 2011, 27: 107-132.
 [23] 刘焯,余娇,蔡艳星,等.自噬在炎症性疾病中的研究进展[J].中华危重病急救医学,2015,27(6):527-529.
 [24] 陈胜利,黄锦达,曾其毅,等.自噬和线粒体辅酶 Q 对急性脓毒症大鼠胰腺外分泌功能的影响[J].中华危重病急救医学,2015,27(2):86-91.
 [25] 李海峰,邢宝鹏,权玉兰,等.选择性磷酸酶抑制剂 Salubrinal 对急性百草枯中毒大鼠肺组织细胞自噬和凋亡的影响[J].中华危重病急救医学,2014,26(9):671-675.
 [26] Saglar E, Unlu S, Babalioglu I, et al. Assessment of ER Stress and autophagy induced by ionizing radiation in both radiotherapy patients and ex vivo irradiated samples[J]. J Biochem Mol Toxicol, 2014, 28(9): 413-417.
 [27] Chen H, Ma Z, Vanderwaal RP, et al. The mTOR inhibitor rapamycin suppresses DNA double-strand break repair[J]. Radiat Res, 2011, 175(2): 214-224.

(收稿日期:2015-09-08)(本文编辑:李银平)