

⁶⁰Co-γ 照射后早期小鼠肝组织基因表达谱

宋立华¹, 颜宏利², 蔡东联^{3*}

(1. 上海交通大学食品科学与工程系, 上海 201101; 2. 第二军医大学基础医学部医学遗传学教研室, 上海 200433; 3. 第二军医大学长海医院营养科, 上海 200433)

[摘要] **目的:**以基因芯片技术研究辐射后小鼠肝脏的基因表达谱,从分子水平探讨辐射引起小鼠肝脏损伤的机制。**方法:**采用小鼠基因表达谱芯片(4 096 个基因)对⁶⁰Co-γ 照射后 48 h 小鼠肝组织基因表达谱进行研究。RT-PCR 验证基因芯片结果。**结果:**与正常小鼠相比,辐射后小鼠肝组织有 124 条基因差异表达,78 条下调,46 条上调。其中 57 条基因的功能已知,这些差异表达的基因按功能可分为 6 类:DNA 修复和应激蛋白,细胞骨架,离子通道和转运蛋白,信号转导,免疫蛋白,代谢调控,其中下调基因主要为细胞骨架基因,而上调基因主要为细胞周期调控蛋白和转录因子。RT-PCR 结果表明,Hspa5、Rasa3、Nqo1 基因的表达和芯片结果一致。**结论:**辐射造成的肝损伤具有多靶点、多层次及多通路的特点。

[关键词] 辐射; 肝脏; 基因表达谱

[中图分类号] R 818.85 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2006)04-0386-05

Hepatic gene expression profile early after ⁶⁰Co-γ irradiation in mice

SONG Li-hua¹, YAN Hong-li², CAI Dong-lian^{3*} (1. Department of Food Science and Engineering, Shanghai Jiaotong University, Shanghai 201101, China; 2. Department of Medical Genetics, College of Basic Medical Sciences, Second Military Medical University, Shanghai 200433; 3. Department of Nutrition, Changhai Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200433)

[ABSTRACT] **Objective:** To study the hepatic gene expression profile early after ⁶⁰Co-γ irradiation in mice with cDNA microarray, in an attempt to understand the molecular mechanism of irradiation damage to liver in mice. **Methods:** Total RNA was extracted from mice liver 2 days after irradiation with ⁶⁰Co-γ ray and from normal mice liver. Hepatic gene expression patterns of irradiated and normal mice were compared with cDNA microarray(4 096 genes). RT-PCR was performed to validate the cDNA microarray results. **Results:** Compared with normal group, 124 genes showed a differential expression in irradiation group, with 46 genes upregulated(maily cell cycle and transcription regulation related proteins) and 78 down-regulated(mainly cytoskeletal genes). Of the 124 genes, 57 had identified functions and could be divided into 6 groups: DNA repair and stress response, cytoskeleton, hydronium channel/transport protein, signaling transduction, intermediary metabolism, and immune related proteins. RT-PCR analysis indicated that the expression of heat shock 70kD protein 5 (Hspa5), RAS p21 protein activator 3 (Rasa3), and NAD(P)H dehydrogenase, quinone 1 (Nqo1) were consistent with cDNA microarray data. **Conclusion:** Irradiation-induced hepatic injury is of multi-target and multi-pathway.

[KEY WORDS] radiation; liver; gene expression profiling

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2006, 27(4): 386-390]

目前有关应用 cDNA 微阵列筛选辐射诱导基因的研究, Amundson 等^[1]做了很多工作;从整体水平研究辐射诱导基因的变化国内有所报道, 胡川闽等^[2]应用 cDNA 微阵列技术绘制了正常及轻型肠型放射病小鼠早期及肠上皮再生期差异表达基因图谱。刘红岩等^[3]用基因芯片技术研究了辐射后小鼠骨髓细胞基因表达谱的变化。但受条件制约, 有关辐射损伤机制的认识长期停留在电离辐射引起的 DNA 分子损伤上, 且辐射损伤的研究进展缓慢^[4], 对辐射诱导的基因表达变化研究也不多。现有研究表明, 不同组织中辐射诱导表达的基因差异明显, 即辐射诱导基因在机体中的表达是组织特异的^[5]。肝

脏是人体最为重要的脏器之一, 承担着极其重要的生理生化功能, 其本身的基因调控网络也极为复杂^[6]。本实验采用基因芯片技术, 研究辐射造成肝组织损伤的分子机制。

1 材料和方法

1.1 实验动物及辐射处理条件 昆明种雌性小鼠 12 只(由第二军医大学实验动物中心提供), 体质量

[基金项目] 上海市自然科学基金(04ZR14083). Supported by Natural Science Foundation of Shanghai Municipal Government(04ZR14083).

[作者简介] 宋立华, 博士, 主治医师。

* Corresponding author. E-mail: nutrition1226@sohu.com

23~29 g。随机分为两组:辐照组和正常组各6只。辐照组小鼠辐照条件: $^{60}\text{Co}-\gamma$ 射线源(第二军医大学长海医院放疗科钴源室),照射距离:75 cm;照射视野:20 cm×20 cm;照射剂量率57.0 cGy/min,照射时间为8 min,小鼠一次全身性照射剂量为4.56 Gy。正常组不接受辐照。照射后第2天摘眼球放血处死,迅速取肝组织样本,并置于液氮中冻存备用。

1.2 芯片及其试剂 BioStar-M40S 芯片由博星基因芯片公司提供,芯片含有4 096个鼠cDNA文库中随机筛选的基因或EST。Oligotex mRNA Kit、dNTP、RNA 荧光标记试剂盒(Kit Cy3 和 Kit Cy5)及其他试剂均由博星公司提供。

正常组小鼠肝组织提取的 mRNA 通过逆转录用 Cy3 荧光标记成 cDNA 探针,辐照组的 mRNA 通过逆转录用 Cy5 荧光标记成 cDNA 探针,将2种探针混合后与基因芯片进行杂交、洗涤,再用基因芯片扫描仪扫描芯片,得到这些基因在2组动物肝脏中的表达谱图片,如果 Cy3 信号较强,该点多显绿色(下调趋势);如果 Cy5 信号较强,该点多显红色(上调趋势);如果强度相似,即显黄色。通过计算机软件处理分析出这些基因在不同处理组动物肝脏中差异表达的信息。

1.3 表达差异判断标准 先将所有数据的前景值与背景值相减,得出 Cy3、Cy5 标记的强度值;将所有<200的强度值以200取代。并以 Cy3、Cy5 值两者皆>200,或者其一>800为有效基因。计算每张

芯片总有效基因的 Ratio 的自然对数值 $\ln Ri = \ln(\text{Cy}5/\text{Cy}3)$,以 Ri 值在 0.1~10 之间的有效基因作为均一化依据,算出这些基因 Ratio 自然对数平均值 $\ln(R')$,即均一化系数。将所有数据项的 Cy3 标记强度乘上均一化系数,得出调整后的 Cy3。算出所有基因均一化后的 Ratio 值(Cy5/Cy3)。以>2或<0.5为标准筛选出差异表达基因,这些数据所代表相应杂交时表现出较大的差异,>2代表上调,<0.5代表下调。

1.4 RT-PCR 验证芯片结果 Hspa5, Rasa3, Nqo1 基因和内参照基因 GAPDH 的相应引物见表1(博亚公司合成)。取 0.5 μg 总 RNA 用逆转录试剂盒(TaKaRa 公司)合成 cDNA 第一链。反应体系(50 μl):10× one step RNA PCR 缓冲液,5 mmol/L MgCl_2 , dNTP mixture (1 mmol/L each), AMV RTase XL 5 U, AMV-Optimized Taq 5 U, Olig(dT) 0.4 $\mu\text{mol/L}$ 。反应条件为 50℃ 30 min,95℃ 热变性 5 min,-20℃ 冷冻保存备用。PCR 总反应体系(25 μl),包括 cDNA 0.5 μl ,10 mmol/L dNTPs 0.5 μl ,5 U Taq 酶,10× PCR 反应缓冲液(含 15 mmol/L MgCl_2) 2.5 μl ,各目标基因 Hspa5、Rasa3、Nqo1 和内参照基因 GAPDH 的上下游引物 0.2 $\mu\text{mol/L}$,随后用 ddH₂O 补足至 25 μl 。PCR 反应条件:94℃ 预变性 5 min,然后 94℃ 变性 50 s,退火温度见表 1,72℃ 延伸 1 min,30 个循环后 72℃ 再延伸 8 min。

表 1 Hspa5、Rasa3、Nqo1 基因和内参照基因 GAPDH 的引物序列和退火温度

Tab 1 Primers and annealing temperatures for RT-PCR analysis of Hspa5, Rasa3, Nqo1 and GAPDH

Primer	Primer sequences	Annealing temperature($T/^\circ\text{C}$)	Products (bp)
Hspa5	Forward: 5'-AGT GGT GGC CAC TAA TGG AG-3'	56	536
	Reverse: 5'-GGG GAC AAA CAT CAA GCA GT-3'		
Rasa3	Forward: 5'-AGT CAA AGC CGT CAG GAT-3'	57	392
	Reverse: 5'-CGT GTT CTC AAA GTC AGC AT-3'		
Nqo1	Forward: 5'-TGC AAG AAC TGA TGC TGT CTT T-3'	58	349
	Reverse: 5'-TTG AGG TGG TTG GAC TTT TCT T-3'		
GAPDH	Forward: 5'-ACC ACA GTC CAT GCC ATC AC-3'	56	452
	Reverse: 5'-TCC ACC ACC CTG TTG CTG TA-3'		

PCR 产物经 2% 琼脂糖凝胶电泳后,经 Alpha ChemiImageTM 5500 image system (Alpha Innotech Corporation, California, USA) 凝胶成像及分析系统扫描分析,测目标基因和 GAPDH 条带的光密度(D)值,波长 365 nm,两者 D_{365} 值的比值代表各目标基因的相对表达含量。

判断标准:如果 RT-PCR 分析,辐照组 6 只小鼠

各基因相对表达含量的平均值/正常组 6 只小鼠各基因相对表达含量的平均值>2 或者<0.5,认为基因上调或下调的趋势和基因芯片结果一致;反之,认为 RT-PCR 结果和基因芯片结果不一致。

2 结果

2.1 基因芯片质量控制 从不同组小鼠肝组织中

提取的总 RNA 经电泳质检,18S 和 28S 条带均清晰,辐照组及正常在 260 nm 和 280 nm 光密度比值分别为 1.982 和 1.112 及 1.515 和 0.852。证实所获组织总 RNA 纯度较高,mRNA 线性扩增后,满足实验要求的数量和质量。

杂交后芯片的扫描结果(图 1A)符合标准,信号强度高,背景均一。为对芯片的结果进行质量控制,

每块芯片设有如下 96 个持家基因作为阳性对照,并设有如下阴性对照:水稻 U2RNA 基因(8 个点)、HCV 外壳蛋白(8 个点)、空白点 16 个。本实验的结果发现,90% 的阳性对照均一化后的比值在 1 左右;在两次芯片结果中阴性对照的荧光强度低于 200。

以上结果表明,本实验的结果可靠。

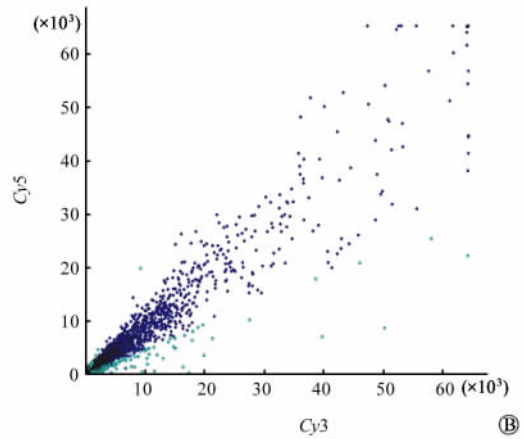
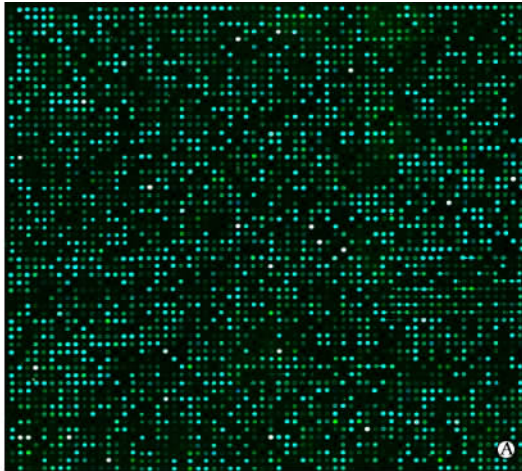


图 1 辐射后第 2 天小鼠肝组织双色荧光标记叠加图(A)和杂交信号强度散点图(B)
Fig 1 Gene expression profile(A) and scatter plots(B) of mice liver 2 days after irradiation

2.2 辐射后第 2 天单纯辐照组小鼠肝组织(相对于正常小鼠)基因表达谱的变化 图 1A 为与正常组小鼠相比较辐照组小鼠肝组织双色荧光标记叠加图片,从图片中可看出绿色荧光点较红色荧光点多,表明下调基因较多;4 096 个基因在两组动物中的表达差异可用散点图表示,图 1B 代表 Cy3 (正常小鼠)和 Cy5(辐照组小鼠)荧光信号比值的离散程度,愈靠近 X 轴或 Y 轴表明该点基因差异表达愈显著。

与正常对照组相比,受辐射小鼠肝组织中 124 条基因表达有差异,其中 78 条表达下调,下调基因中有 44 条已知功能;46 条表达上调,上调基因中有 13 条已知功能。这些已知功能基因可分为 6 类:DNA 修复和应激蛋白、细胞骨架、离子通道和转运蛋白、信号转导、免疫蛋白、代谢调控。其中下调基因主要包括:DNA 修复和应激蛋白、细胞骨架、离子通道和转运蛋白、信号转导、代谢相关基因、免疫蛋白;上调基因主要包括 DNA 修复和应激蛋白、细胞骨架、离子通道和转运蛋白、信号转导、代谢相关基因、免疫蛋白(表 2),功能未知基因表中未列出。

为验证基因芯片结果和进一步进行细胞水平的功能研究,我们选择了 3 个在氧化应激中具有重要意义的基因——heat shock 70kD protein 5

(Hspa5), RAS p21 protein activator 3 (Rasa3), NAD(P)H dehydrogenase, quinone 1 (Nqo1)进行 RT-PCR 分析,这 3 个基因中 Hspa5,Rasa3 辐照后下调,而 Nqo1 辐照后上调。结果显示,Hspa5、Rasa3、Nqo1 在辐照组和正常组的比值分别为 0.238、0.436、2.589,而基因芯片的结果分别为 0.404、0.374、4.118,二者的趋势一致(图 2)。

3 讨论

实验在预实验的基础上选择 4.56 Gy 的照射强度,将小鼠进行⁶⁰Co-γ 射线全身照射,观察到辐照后第 2 天已导致小鼠外周血常规显著变化,在照射后的急性期内未使小鼠致死,并且辐照后第 7 天取小鼠肝组织进行病理检查发现有明显损伤,与正常组相比损伤程度为++~+++ (未发表数据),说明选择的照射剂量合适。

电离辐射对生物作用的全过程是一系列很复杂的连锁过程,是一个涉及多基因、多途径、多阶段的过程,它不仅仅是单纯地造成损伤和损伤不断发展的过程,同时还进行着性质相反的另一过程,即对损伤的修复过程,最后表现出来的损伤是这两个过程共同作用的结果。电离辐射除直接作用于染色体的

DNA 分子外, 还可诱导一系列具有重要功能基因的表达增强或另一些基因的表达抑制和关闭^[7,8]。

表 2 辐射后第 2 天受辐照小鼠肝组织差异表达的已知基因 (相对于正常对照组)

Tab 2 Differentially expressed genes with identified function in liver of mice irradiated with ⁶⁰Co- γ (compared with normal group)

Classification	Upregulated genes		Downregulated genes	
	Gene ID	Name	Gene ID	Name
DNA repair and stress response	NM_Q11803	Core promoter element binding protein (Copeb)	NM_Q25415	CDC28 protein kinase regulatory subunit 2 (Cks2)
	NM_Q08211	H3 histone, family 3B (H3f3b)		
	NM_Q11580	Thrombospondin1 (Thbs1)		
	NM_Q22310	Heat shock 70kD protein 5 (glucose-regulated protein, 78kD) (Hspa5)	NM_Q08706	NAD(P)H dehydrogenase, quinone 1 (Nqo1)
Cytoskeleton	NM_Q25824	Basic leucine zipper and W2 domains 1 (Bzw1)		
	NM_Q07570	B-cell translocation gene 2, anti-proliferative (Btg2)		
	NM_Q08220	Hemoglobin, beta adult major chain (Hbb-b1)		
	NM_Q13615	Outer dense fiber of sperm tails 2 (Odf2)	NM_Q25604	Membrane-spanning 4-domains, subfamily A, member 4B (Ms4a4b)
	NM_Q08470	Keratin complex 1, acidic, gene 16 (Krt1-16)	NM_Q10064	Dynein, cytoplasmic, intermediate chain 2 (Dncic2)
	NM_Q10260	Guanylate nucleotide binding protein 2 (Gbp2)	NM_Q18815	Nucleoporin 210 (Nup210)
	BC016507	Gap junction membrane channel protein beta 6		
	NM_Q08475	Keratin complex 2, basic, gene 4 (Krt2-4)		
	NM_Q10129	Epithelial membrane protein 3 (Emp3)		
	NM_Q07393	Actin, beta, cytoplasmic (Actb)		
	NM_Q13798	Actin-like (Actl)		
	NM_Q09608	Actin, alpha, cardiac (Actc1)		
	NM_Q16845	Proacrosin binding protein (Aerbp)		
	NM_Q24427	Tropomyosin1, alpha (Tpm1)		
	NM_Q07615	Catenin src (Catns)		
	NM_Q09898	Coronin, actin binding protein 1A (Coro1a)		
Hydronium channel/Transport protein	NM_Q134086	Solute carrier family 38, member 1 (Slc38a1)	NM_Q08880	Phospholipid scramblase 2 (Plscr2)
	NM_Q15747	Solute carrier family 20, member 1 (Slc20a1)		
	NM_Q13667	Solute carrier family 22 (organic cation transporter), member 2 (Slc22a2)		
	AJ426432	Partial mRNA for transferrin receptor1 (TFR1 gene)		
	NM_Q23805	Solute carrier family 38, member 3 (Slc38a3)		
	NM_Q08880	Phospholipid scramblase 2 (Plscr2)		
Signal transduction protein	NM_Q19580	Membrane interacting protein of RGS16 (Mir16-pending)		
	NM_Q28035	Sorting nexin 10 (Snx10)	NM_Q09803	Nuclear receptor subfamily 1, group I, member 3 (Nr1i3)
	NM_Q130447	Dual specificity phosphatase 16 (Dusp16)	NM_Q10914	Nuclear transcription factor-Y beta (Nfyb)
	NM_Q21485	Ribosomal protein S6 kinase, polypeptide 2 (Rps6kb2)	AF283466	PRP4 kinase (Prp4k)
	BC002031	BH3 interacting domain death agonist	NM_Q144509	ADP-ribosylation factor-like 6 interacting protein 4 (Arl6ip4)
	NM_Q07484	Ras homolog (RhoC) gene family, member C (Arhc)	NM_Q19580	Membrane interacting protein of RGS16 (Mir16-pending)
	NM_Q09025	RAS p21 protein activator 3 (Rasa3)	NM_Q11100	Protein kinase, cAMP dependent, catalytic, beta (Prkach)
Intermediary metabolism	NM_Q10937	Neuroblastoma ras oncogene (Nras)		
	NM_Q08807	Tubby-like protein 2 (Tulp2)	NM_Q10274	Glycerol phosphate dehydrogenase 2, mitochondrial (Gpd2)
	NM_Q21528	Chondroitin4-sulfotransferase12 (C4st2-pending)	NM_Q10191	Farnesyl diphosphate farnesyl transferase 1 (Fdf1)
	NM_Q53156	Allantoicase (Alle)		
	NM_Q08492	Lactate dehydrogenase2, B chain (Ldh2)		
	NM_Q133182	Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein methyltransferase-like 1 (S. cerevisiae) (Hrmt111)		
	NM_Q27588	5'-nucleotidase, cytosolic 1B (Nt5c1b)		
	NM_Q17372	Lysozyme (Lyzs)		
Immune related protein	NM_Q10382	Histocompatibility class II antigen E beta (H2-Eb1)	NM_Q21718	Lymphocyte antigen 116 (Ly116)
	U68543	Ig single-chain antibody		

Hspa5, Rasa3 and Nqo1 (underlined) were validated by RT-PCT analysis

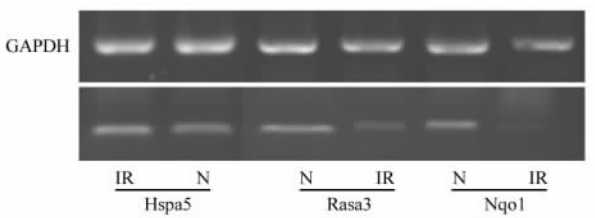


图 2 RT-PCR 验证芯片表达结果

Fig 2 Validation of gene expression data by RT-PCR analysis

IR: Irradiated mice; N: Normal mice

本实验中, 与正常对照组相比辐射后小鼠肝组织差异表达基因中, 下调基因所占比例较大, 提示电离辐射后早期蛋白合成与分泌减少而分解增加。其

中下调较多的是细胞骨架基因, 如血色素 β 主链 (M0011b12)、胞质 β -肌动蛋白 (M0103f10)、心肌 α -肌动蛋白 (M0138e07) 等, 肌动蛋白、肌球蛋白等细胞骨架蛋白对于维持细胞的形态和正常的生理功能具有重要的意义, 大量此类基因的下调提示辐射造成了细胞基本结构的损伤和功能的异常。

另外, 辐照后小鼠肝组织基因表达谱还表现出广泛的离子转运蛋白如 solute carrier family 38, member 1 (M0121a05)、solute carrier family 20, member 1 (M0109g10)、solute carrier family 22 (organic cation transporter) 等的下调。生物膜具有多种重要生物学功能, 如物质转运、能量转换、信息传递、细胞识别和代谢调控等, 肿瘤的发生也与生物膜有关, 膜是辐射作用的靶点之一, 辐射能量的吸收和

传递以及辐射后所产生的大量自由基可导致构成膜的生物分子的激发和电离,使膜结构的有序性、方向性和协调性等遭到破坏,从而破坏了膜的结构,造成膜的严重损伤,导致其运输机能不正常,膜的屏障和间隔作用部分消失,并影响到无机离子和有机离子的转运。

本实验中,辐射也引起肝组织中重要信号转导基因表达的异常,值得注意的是 ras 家族如 ras p21 protein activator 3 (M0134a12, NM_009025)、ras homolog (RhoC) gene family member c (Arhc) (M0075c07, NM_007484)、neuroblastoma ras oncogene (Nras) (M0012h04, NM_010937) 及其信号转导下游基因核糖体蛋白 S6 激酶表达的下调。Ras 信号转导途径或 Ras/Raf/MAPK 途径是电离辐射反应中重要的信号转导途径之一,它控制细胞生长和分化,具有促进细胞增殖和保护细胞免受凋亡的作用,与细胞辐射敏感性有密切的关系^[9~11], ras 基因表达水平的下调降低肝组织细胞的辐射抗性,可能是辐照造成肝损伤的原因之一;另外, ras 的下游信息传递为: MAPKK (有丝分裂原蛋白激酶激酶) 激活后,又使核糖体蛋白质 S6 激酶发生苏氨酸残基磷酸化而被激活。MAP 激活和核糖体蛋白质 S6 激活可使核内转录因子 Jun 磷酸化而调节其活性,从而影响基因表达。

本实验还筛选到了代谢相关的基因,如乳酸脱氢酶 2 (M0108g09)、核糖核蛋白甲基转移酶 (M0104c12)、5'-核苷酸酶 (M0294e03),说明辐射引起细胞及细胞器包括核酸、碳水化合物、脂类及能量等代谢的改变,代谢相关基因的下调提示辐射可能造成细胞代谢减缓。辐射还引起部分免疫相关基因表达的下调,可能是辐射引起机体免疫力下降的机制之一。

辐射对肝组织基因表达谱的影响,除了上述大部分下调基因外,辐射也引起部分基因的上调,主要涉及到信号转导、脂质和糖代谢相关基因以及细胞周期调控基因。比如 dynein、cytoplasmic、intermediate chain 2 (M0021a06),动力蛋白的重要功能是承担有丝分裂的核转移,动力蛋白中链是动力蛋白发挥此项功能的必要结构^[12]。本实验中动力蛋白中链基因和 CDC28 蛋白激酶调节亚单位 (M2256f01) 表达的上调,以及 cyclin B₂ (M0204g10) 表达下调提示辐射导致细胞有丝分裂过程和细胞周期调控的混乱,这可能是辐射引起细胞癌变的机制之一。此外,ADP-ribosylation factor-like 6 interacting protein, nuclear transcription fac-

tor 和 PRP4 kinase 表达的上调提示辐射导致细胞转录和翻译过程的异常。

由上所述,辐射后初期,单纯辐照组总体表现为基因表达下调居多,引起差异表达的基因涉及到信号转导、免疫与应激、代谢、细胞骨架和细胞外基质、转录、核因子、细胞凋亡、细胞周期调控等有关方面,其中以信号转导、免疫应激相关基因和看家基因所占比例较多,反映出辐射对细胞损伤的多靶点、多层次及多通路的特点。

[参考文献]

- [1] Amundson SA, Do KT, Vinikoor L, et al. Stress-specific signatures: expression profiling of p53 wild-type and -null human cells [J]. *Oncogene*, 2005, 24: 4572-4579.
- [2] 胡川闽,栗永萍,程天民,等.小鼠轻型肠型放射病肠上皮细胞差异表达基因的筛选研究[J]. *第三军医大学学报*, 2002, 24: 705-708.
- [3] 刘红岩,从玉文,善亚君,等.电离辐射诱导 BALB/c 小鼠骨髓细胞基因表达谱的研究[J]. *辐射研究与辐射工艺学报*, 2003, 21: 25-28.
- [4] 张浩,毛秉智,张军权,等.用 cDNA 微阵列研究辐射损伤小鼠骨髓细胞基因的表达[J]. *微生物学免疫学进展*, 2001, 29: 6-9.
- [5] 饶亚岚,陈肖华,毛秉智. DNA 微阵列技术在辐特异射诱导基因表达研究中的运用[J]. *辐射研究与辐射工艺学报*, 2003, 21: 25-28.
- [6] 强晖,谢渭芬,张忠兵.基因芯片技术及其在肝脏疾病中的应用研究进展[J]. *国外医学·消化系统疾病分册*, 2003, 23: 29-32.
- [7] Sadekova S, Lehnert S, Chow TY. Induction of PBP74/mortalin/GRP75, a member of the hsp70 family, by low doses of ionizing radiation: a possible role in induced radio-resistance [J]. *Int Radiat Biol*, 1997, 72: 653-660.
- [8] Crowe R, Vale J, Trott KR, et al. Radiation-induced changes in neuropeptides in the rat urinary bladder [J]. *J Urol*, 1996, 156: 2062-2066.
- [9] Kharbanda S, Saleem A, Shafman T, et al. Activation of the pp90rsk and mitogen-activated serine/threonine protein kinases by ionizing radiation [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1994, 91: 5416-5420.
- [10] Stevenson MA, Pollock SS, Coleman CN, et al. X-irradiation, phorbol esters, and H₂O₂ stimulate mitogen-activated protein kinase activity in NIH-3T3 cells through the formation of reactive oxygen intermediates [J]. *Cancer Res*, 1994, 54: 12-15.
- [11] Samid D, Miller AC, Rimoldi D, et al. Increased radiation resistance in transformed and nontransformed cells with elevated ras proto-oncogene expression [J]. *Radiat Res*, 1991, 126: 244-250.
- [12] Lee WL, Kaiser MA, Copper JA. The offloading model for dynein function: differential function of motor subunits [J]. *J Cell Biol*, 2005, 168: 201-207.

[收稿日期] 2005-11-10

[修回日期] 2006-03-23

[本文编辑] 曹静