

分子辐射生物剂量计发展潜势

穆蕊 陈英

【摘要】 生物剂量估算无论在辐射事故或职业流行病学调查等方面都是不可缺少的重要手段。以细胞遗传学方法为代表的生物剂量计经过半个多世纪的发展已经非常成熟,并被广泛应用。为了更好地应对辐射突发事件,寻找具有快速、简便、适合大范围人群应用的新型分子水平生物剂量计成为目前研究的热点。为此,着重介绍近年来研究期望价值比较高的分子水平生物指示剂。

【关键词】 剂量效应关系, 辐射; 基因表达; 辐射生物剂量计

Development potential on molecular radiation biological dosimeter

MU Rui, CHEN Ying

(Department of Radiation Toxicology and Oncology, Institute of Radiation Medicine, Academy of Military Medical Sciences, Beijing 100850, China)

【Abstract】 Biological dose assessment is an important means on radiation accident and occupational epidemic investigation. Cytogenetic bio-dosimeter has been very matured and widely applied through half century development. In order to reply to radiation emergency better, it becomes hot point of research to search new type molecular bio-dosimeters which are provided with quick and simple operation as well as fit in with application of great range crowd. The biological indicators of molecular level which have development potential of radiation bio-dosimeter are reviewed.

【Key words】 Dose-response relationship, radiation; Gene expression; Radiation bio-dosimeter

辐射生物剂量学是放射医学的一门重要学科,具体研究具有辐射剂量依赖性的生物学指征及其变化规律,所发展的技术统称为辐射生物剂量计。辐射生物剂量计用于定量估算受照射个体所吸收的辐射剂量,以指导放射病的临床诊断、治疗方案决策、预后判定以及远后效应的评估,在放射病救治中发挥着不可替代的作用。

DNA 分子是公认的辐射作用靶分子,迄今,得到应用或正在研究中的多种生物剂量计技术方法,基本上都是基于 DNA 辐射损伤的反应规律而建立的,其中已成熟和被广泛应用的是染色体畸变定量分析的染色体生物剂量计技术。近年来,随着辐射生物剂量计的发展,一方面在染色体畸变自动分析以及荧光原位杂交新技术方面取得的进展,使染色体生物剂量计技术仍在不断完善之中;另一方面,随着分子和基因水平的研究技术手段的突破,发展更灵敏的分子生物剂量计技术已成为放射生物医学研究中备受关注的领域。目前,众多实验应用

迅速发展的 DNA 芯片、实时定量 PCR、蛋白质双向电泳、质谱等高通量筛选技术对辐射引起的基因表达变化进行研究,希望可以建立与照射时间、照射强度相对应的基因表达模型,并鉴定一个基因或是一系列基因作为辐射特异的生物指示剂。根据辐射剂量效应关系,可粗略地将与辐射有关的各类基因分为辐射诱导表达上调基因、表达下调基因和低剂量反应基因三大类,辐射生物剂量计主要关注的是辐射诱导表达上调基因和低剂量反应基因。

1 辐射诱导表达上调的基因

细胞在应对压力时,转录水平的反应是极度复杂的,众多反应基因的变化依赖于细胞遗传背景、细胞特异的因子以及交互重叠的信号通路的激活。对于单个反应基因的重要性很难通过一个或少数几个细胞系和个体来评价。Marchetti 等^[1]总结了 30 多年来研究辐射引起蛋白表达变化的文献,根据物种的一致性、剂量和时间依赖性以及在放射性损伤反应中的功能将所有候选基因分为 9 组,并且推荐共济失调毛细血管扩张突变基因 (ataxia-telangiectasia mutated gene, ATM)、H2A 组

作者单位: 100850 北京, 军事医学科学院放射与辐射医学研究所放射毒理与辐射危害评价研究室

通讯作者: 陈英 (E-mail: yingchen29@yahoo.com.cn)

蛋白家族成员 X (H2A histone family member X, H2AX)、周期蛋白依赖激酶抑制因子 1A (cyclin dependent kinase inhibitor 1A, CDKN1A) 等基因作为辐射生物标志物的最佳候选者。Snyder 等^[2]认为, 辐射可以引起一系列复杂的细胞转录变化, 其中的许多变化依赖于遗传背景、剂量、剂量率、照后时间。综合众多研究显示, 涉及细胞周期检查点和细胞生长的基因在不同的芯片平台和实验设计中存在相似的变化, 其中一贯表达上调的基因包括生长停滞和 DNA 损伤诱导基因 45 (growth arrest and DNA-damage-inducible gene 45, GADD45)、CDKN1A 及 H2AX 等基因。

1.1 GADD45

1.1.1 GADD45 的生物学功能

GADD45 家族包含 GADD45_a、GADD45_b、GADD45_c 三个成员。当生理内环境或外界环境向哺乳细胞施加各种刺激的时候, GADD45 家族蛋白表现为细胞效应子, 在调控细胞应激反应中起重要作用。作为 p53 下游靶基因, 目前已知 GADD45_a 的生物学功能包括细胞周期阻滞、可能参与细胞凋亡和抑制肿瘤发生。

GADD45_a 介导的细胞周期阻滞可以发生在各种哺乳动物细胞系, 包括 p53 阳性细胞和 p53 阴性细胞。显微注射 GADD45_a 表达质粒至人成纤维细胞, 可以使细胞阻滞于 G₂/M 期。GADD45 在生长因子过度表达的细胞中也参与细胞 G₁ 期阻滞。

用已知可以引起细胞凋亡的遗传毒性因子刺激各种类型细胞, 均可以使 GADD45_a 的表达上调。Hildesheim 等^[3] 实验表明, 剔除 GADD45_a 的小鼠角质化细胞显著降低紫外线诱导的细胞凋亡, 并且诱导细胞凋亡和细胞周期阻滞是通过维持角质细胞中 p38 和 c-jun 基因产物氨基酸末端激酶 (c-jun-amino-terminal kinase, JNK) 蛋白激活实现的。已知, 促分裂原活化蛋白激酶激酶 4 (mitogen-activated protein kinase kinase kinase 4, MEKK4) 同时是 p38 和 JNK 的激酶。Takekawa 等^[4] 发现, GADD45 家族蛋白与 MEKK4 有生理上的相互作用, 这种相互作用可以激活 MEKK4, 进而激活下游 p38 和 JNK。但最近也有不同的结论, Gupta 等^[5] 实验证明, 在造血细胞中, GADD45_a 和 GADD45_b 可以保护造血细胞免受 DNA 损伤因子的刺激 (包括紫外线诱导的细胞凋亡) 而生存下来;

同时证明, 在各种细胞分化因子的急性刺激下, 来源于 GADD45_a、GADD45_b 缺失小鼠的骨髓细胞更容易发生细胞凋亡^[6]。

许多实验表明, 缺失 GADD45_a 的小鼠容易发生 DNA 损伤诱导的肿瘤。Hildesheim 等^[7] 发现, GADD45_a 可以调节基质金属蛋白酶水平, 而基质金属蛋白酶的活性是促进细胞的迁移和侵入。这为 GADD45_a 调节肿瘤的发生提供了可能的机制。Tront 等^[8] 通过建立的小鼠模型进行研究表明, GADD45_a 缺失的小鼠加速 Ras 蛋白引起的乳腺癌发生。缺失 GADD45_a, 一方面导致细胞凋亡的降低, 另一方面减少 Ras 引起细胞衰老, 并且分别与 p38 和 JNK 激酶活性降低相关联。因此, 这是一个新奇的模型, 说明 GADD45_a 的肿瘤抑制功能, 并且 GADD45_a 增加细胞凋亡和 Ras 引起细胞衰老的功能是通过诱导激活 p38 和 JNK 激酶来实现的。

1.1.2 GADD45 的辐射敏感性

GADD45 是一个对多种电离辐射敏感的基因, 在高、中、低剂量范围内, GADD45_a 表达都有上升趋势。大体上, 各种 DNA 损伤可以诱导许多类型细胞中的 GADD45 快速、短暂、并且是剂量依赖的表达^[9]。Amundson 等^[10] 用 20 Gy γ 射线照射人髓样肿瘤细胞系 ML-1, 应用基因芯片技术对照射后 4 h ML-1 细胞与对照细胞中的 mRNA 表达水平进行对比杂交分析, 结果表明 GADD45 的 mRNA 水平被上调。Gajdusek 等^[11] 用 0~30 Gy γ 射线照射培养的牛和大鼠主动脉上皮细胞, 逆转录-聚合酶链反应和免疫印迹分析的结果分别显示, GADD45 在 mRNA 和蛋白水平都以时间和剂量依赖的方式被上调。Grace 等^[12] 在人外周血离体照射模型中选择 GADD45 蛋白作为辐射反应靶蛋白, 结果显示经 0~3Gy γ 射线照后 24 和 48 h, 该蛋白具有线性的剂量依赖上调趋势。Jen 等^[13] 分别用 3 Gy 和 10 Gy γ 射线照射人淋巴母细胞, 应用基因芯片技术对照射后 24 h 内的 5 个时间点淋巴母细胞和对照细胞中的 mRNA 表达水平进行对比杂交分析, 结果显示, 照射 3 Gy 时有 87 个基因被上调, 照射 10 Gy 时有 660 个基因被上调, 其中共同变化的基因包括 CDKN1A、GADD45_a、损伤特异的 DNA 结合蛋白 2 等 p53 依赖基因。Akerman 等^[14] 用 cDNA 微阵列鉴定人淋巴母细胞 TK6 在 γ 射线照射 5、10、20 Gy 后 4 h 以及 24 h 的基因表达变

化时发现,更多基因表达的差异性表现在照后 24 h;在照后 4 h,最初涉及的是细胞周期阻滞、细胞解毒路径、DNA 修复以及细胞凋亡的基因表达变化;在照后 24 h,除了细胞凋亡途径基因表达发生改变,谷胱甘肽信号途径也被很强烈地激活,谷胱甘肽信号途径不但参与细胞的解毒作用,还是细胞凋亡途径的一部分;涉及细胞周期进程和有丝分裂的基因都被下调,说明照后 4 h 到 24 h DNA 损伤反应途径已经从识别、修复转向到细胞死亡模式。

1.2 CDKN1A

1.2.1 CDKN1A 的生物学功能

CDKN1A 参与细胞生长的调控以及 DNA 损伤后细胞反应,CDKN1A 被认为是一种周期素依赖性蛋白激酶抑制剂。CDKN1A 受到 p53 的严格调控,在 DNA 损伤反应中 p53 诱导 CDKN1A 表达,从而可以调节细胞周期。当 CDKN1A 与 cyclin-CDK2 或 cyclin-CDK4 复合体结合并抑制其活性的时候,功能上将抑制细胞周期于 G₁ 期;当 CDKN1A 与增殖细胞核抗原结合时,将阻止 DNA 合成,从而使细胞修复。同时,在细胞分化过程中,CDKN1A 的表达可以维持许多细胞系存活,分化细胞通过其他不依赖 p53 的方式调控 CDKN1A 表达,进而调节细胞周期及 DNA 复制。

1.2.2 CDKN1A 的辐射敏感性

Amundson 等^[10]用 20 Gy γ 射线照射 ML-1 细胞,应用基因芯片技术对照射后 4 h ML-1 细胞和对照细胞中的 mRNA 表达水平进行对比杂交分析,结果表明 CDKN1A 的 mRNA 水平被上调。Amundson 等^[15]实验表明,2 Gy γ 射线离体照射外周血淋巴细胞后 24 h,通过基因芯片筛选到 48 个显著上调的基因、7 个显著下调的基因,被诱导的基因涉及到白细胞介素 1A 和 1B、白细胞介素 6 等细胞因子和生长因子,以及 CDKN1A、增殖细胞核抗原、损伤特异 DNA 结合蛋白 2、着色性干皮病互补组 C (xeroderma pigmentosum complementation group C) 等与应激信号转导和 DNA 修复相关蛋白的基因。CDKN1A、损伤特异 DNA 结合蛋白 2、着色性干皮病互补组 C 3 个基因在 20 cGy~2 Gy γ 射线照射后 24 和 48 h 的表达上调与照射剂量之间呈现良好的线性依赖关系,并且它们在正常人外周血中的表达变化是很小的,这为辐射生物剂量计的应用提供了可能。Stassen 等^[16]检测并证实 2 Gy 和 6 Gy X 射线照射人乳腺癌细胞系

MCF-7 后 48 h 可诱导 CDKN1A 的表达。Marko 等^[17]报道,2 Gy γ 射线照射人结肠癌细胞系 HCT116,在照射后 2~6 h CDKN1A 转录水平在稳定快速地增加,然后再以缓慢的速度增加至 24 h。

1.3 H2AX

1.3.1 H2AX 的生物学功能

核小体是构成真核生物染色质的基本结构单位,由 H1、H2A、H2B、H3 和 H4 等 5 种组蛋白和 DNA 构成,细胞可通过对组蛋白不同氨基酸位点进行修饰,从而改变染色质的结构,影响 DNA 转录特性。目前研究发现,组蛋白 H2A 家族中共有 7 个成员:H2A1、H2A2、H2AX、H2AZ、macroH2AX1, macroH2AX2 和 H2ABbd。H2AX 在低等真核生物中的含量较高,在出芽酵母中几乎可达到 100%,而在大多数哺乳动物组织和细胞中 H2AX 占总 H2A 的 2%~25%^[18]。当辐射和其他因素使 DNA 发生双链断裂时,H2AX 快速发生磷酸化,并在 DNA 断裂点聚集,磷酸化的 H2AX 被命名为 γ H2AX。

H2AX 的第 139 位丝氨酸残基可以被磷脂酰肌醇-3 激酶家族成员磷酸化,不同环境因素诱导形成的 DNA 双链断裂可能是通过不同通路激活不同的磷脂酰肌醇-3 激酶家族成员,随后引起 H2AX 的磷酸化和簇集,并募集众多 DNA 损伤反应蛋白进行损伤修复^[19]。辐射诱导的 H2AX 磷酸化是由 ATM 和 DNA 依赖蛋白激酶完成的,同时缺失 ATM 和 DNA 依赖蛋白激酶,H2AX 磷酸化则完全消失^[20]。当酵母和小鼠细胞表达不能被磷酸化的 H2AX 时,细胞对各种 DNA 损伤介质更加敏感,这表明了 H2AX 这种组蛋白变体在损伤应答过程中是很重要的^[21]。Celeste 等^[22]实验证明,虽然 H2AX 不是辐射诱导的细胞周期检查点所必需的,但是缺失 H2AX 的小鼠对辐射敏感,这与染色体的不稳定性、修复缺陷以及不能招募修复因子至 DNA 断裂点相关。因此,H2AX 是 DNA 修复复合体形成的关键因素。并且有实验证明,在 γ H2AX 位点存在多种 DNA 修复蛋白^[23]。所以,H2AX 被认为有助于一系列损伤反应蛋白的招募。

1.3.2 H2AX 的辐射敏感性

Rogakou 等^[24]研究发现,受到 γ 射线照射的细胞内 H2AX 迅速磷酸化,1 min 时 H2AX 已活化一半,10 min 时达到最大值,H2AX 磷酸化位点位于 C 末端第 139 位进化十分保守的丝氨酸残基上。

H2AX 磷酸化发生在 DNA 修复、细胞周期检查点、基因重组、肿瘤抑制等事件中,并且每 1 Gy γ 射线可以引起大约 1% H2AX 磷酸化成为 γ H2AX。当辐射和其他因素使 DNA 发生双链断裂时,针对磷酸化的 H2AX 特异性抗体显示, γ H2AX 分子在细胞间期核中呈不连续的点状分布,在中期染色体呈带状,且所含免疫结合位点的数量与 DNA 双链断裂点的数量接近;随着 DNA 双链断裂被逐渐修复, γ H2AX 发生去磷酸化(半衰期约为 2 h),与 DNA 双链断裂的修复动力学相似^[25]。基于 γ H2AX 特异性抗体的免疫荧光方法可以更加方便地观察到 H2AX 磷酸化情况,因此根据观察的荧光数量来估算生物受照剂量是业内人士期待的方法。已有文献报道,剂量在 0.25~2 Gy 之间,观察到的 γ H2AX 形成的荧光数量与受照剂量间的依赖关系基本一致^[26]。

2 低剂量反应基因

最初,生物剂量计的研究和应用是针对急性、往往也相对高剂量的辐射照射,例如原子弹爆炸或核与辐射事故等。随着人们逐渐认识到低剂量辐射的普遍存在,目前对低剂量、慢性照射的研究越来越受到重视。尽管染色体生物剂量计是最经典的方法,但在低剂量范围要分析相当大量的细胞才能给出估算结果,这对低剂量人群来说是不适用的。也有的研究是采用体外照射得到的高剂量效应曲线外推到低剂量照射,这样得到的结果是不令人满意的。Ding 等^[27] 研究表明,低剂量与高剂量反应基因无论是在质上还是在量上都存在着明显差异。低剂量反应基因涉及细胞与细胞之间的信号转导、发育、DNA 损伤修复;而高剂量反应基因涉及细胞凋亡和细胞增殖。因此,研究低剂量、慢性照射的生物指示剂具有重要意义。目前报道的低剂量反应基因有间隙连接蛋白 43 (connexin43)、钙黏着蛋白 6、着色性干皮病互补组 C 等基因。以下重点介绍 connexin43。

2.1 Connexin43 的生物学功能

相邻细胞之间通过细胞间隙连接进行着信息、能量和物质的交换,对细胞的新陈代谢、内环境稳定、增殖和分化等生理过程起着重要的调控作用。目前在哺乳动物中发现的间隙连接蛋白至少有 20 种,其中 connexin43 作为间隙连接通道的主要成分,参与机体的正常发育;并且 connexin43 基因被认为是一种非突变型抑癌基因,调控细胞增殖

与分化,connexin43 基因表达异常与肿瘤的发生、发展密切相关。

2.2 Connexin43 的辐射敏感性

辐射旁效应和适应性反应决定了低剂量辐射的生物学反应,并且可能影响剂量-效应关系的形式。辐射旁效应,即在射线照射靶细胞的同时,在未直接受照的周围细胞中也能产生辐射损伤。2001 年 Azzam 等^[28] 报道,未经低剂量 α 粒子照射的细胞参与了所有的辐射反应,并且证明 connexin43 间隙连接参与了细胞对辐射的反应以及在辐射诱导的旁效应中所起的作用。Shao 等^[29] 认为,间隙连接和自由基都是辐射诱导旁效应产生的因素,但是间隙连接可能起到更重要的作用,能够调节辐射诱导的信号因子的释放。Azzam 等^[30] 实验表明,正常人二倍体成纤维细胞经过 0、3、6、12、24 cGy 不同低剂量 α 粒子照射后 6 h, connexin43 的 mRNA 水平显著增高;同样是该细胞系,经过 0、1、3、10 cGy 不同低剂量 α 粒子照射后 3 h, connexin43 蛋白水平亦明显增高。这表明 connexin43 基因对低剂量辐射是敏感的。Glover 等^[31] 报道, γ 射线以时间、剂量依赖的方式诱导 connexin43 启动子的活性增强,并且在 0.5 Gy γ 射线照射后 6 h 达到最高值,而在 5 Gy γ 射线照射时仅有少量增高;同时, connexin 43 启动子活性的增强与 connexin43 mRNA 和 connexin43 蛋白水平增加是相吻合的。可见,connexin43 基因对低剂量辐射的敏感性。

综上所述,分子辐射生物剂量计具有灵敏、快速、可批量检测等细胞遗传学方法不可替代的优越性,尤其对慢性低剂量职业照射人群的剂量估算具有潜在的优势。但是,由于基因表达水平的复杂性,作为辐射生物剂量计,其剂量依赖性、检测时效性以及稳定性和重复性等是必须解决的关键问题,也是目前该领域着力研究的热点。虽然辐射损伤的生物剂量估算在技术层面上还存在需要解决的问题,但是进入 21 世纪后,利用灵敏的分子生物学技术,围绕 DNA 辐射靶分子,开展新的分子水平辐射生物剂量计的研究,可望突破辐射生物剂量估算的技术瓶颈,可以部分实现灵敏、快速、规模化检测的目的。

参 考 文 献

- [1] Marhetti F, Coleman MA, Jones IM, et al. Candidate protein biosimeters of human exposure to ionizing radiation [J]. Int J

- Radiat Biol, 2006, 82(9): 605-639.
- [2] Snyder AR, Morgan WF. Gene expression profiling after irradiation: clues to understanding acute and persistent responses? [J]. *Cancer Metastasis Rev*, 2004, 23(3-4): 259-268.
- [3] Hildesheim J, Bulavin DV, Anver MR, et al. Gadd45a protects against UV irradiation-induced skin tumors, and promotes apoptosis and stress signaling via MAPK and p53 [J]. *Cancer Res*, 2002, 62(24): 7305-7315.
- [4] Takekawa M, Saito H. A family of stress-inducible GADD45-like proteins mediate activation of the stress-responsive MTK1/MEKK4/MAPKKK [J]. *Cell*, 1998, 95(4): 521-530.
- [5] Gupta M, Gupta SK, Hoffman B, et al. Gadd45a and Gadd45b protect hematopoietic cells from UV-induced apoptosis via distinct signaling pathways, including p38 activation and JNK inhibition [J]. *J Biol Chem*, 2006, 281(26): 17552-17558.
- [6] Gupta SK, Gupta M, Hoffman B, et al. Hematopoietic cells from gadd45a-deficient and gadd45b-deficient mice exhibit impaired stress responses to acute stimulation with cytokines, myeloablation and inflammation [J]. *Oncogene*, 2006, 25(40): 5537-5546.
- [7] Hildesheim J, Belova GI, Tyner SD, et al. Gadd45a regulates matrix metalloproteinases by suppressing DeltaNp63alpha and beta-catenin via p38 MAP kinase and APC complex activation [J]. *Oncogene*, 2004, 23(10): 1829-1837.
- [8] Tront JS, Hoffman B, Liebermann DA. Gadd45a suppresses Ras-Driven mammary tumorigenesis by activation of c-Jun NH2-terminal kinase and p38 stress signaling resulting in apoptosis and senescence [J]. *Cancer Res*, 2006, 66(17): 8448-8454.
- [9] Zhan Q. Gadd45a, a p53-and BRCA1-regulated stress protein, in cellular response to DNA damage [J]. *Mutat Res*, 2005, 569(1-2): 133-143.
- [10] Amundson SA, Bittner M, Chen Y, et al. Fluorescent cDNA microarray hybridization reveals complexity and heterogeneity of cellular genotoxic stress responses [J]. *Oncogene*, 1999, 18 (24): 3666-3672.
- [11] Gajdusek C, Onoda K, London S, et al. Early molecular changes in irradiated aortic endothelium [J]. *J Cell Physiol*, 2001, 188(1): 8 - 23.
- [12] Grace MB, McLeland CB, Blakely WF. Real-time quantitative RT-PCR assay of GADD45 gene expression changes as a biomarker for radiation biodosimetry [J]. *Int J Radiat Biol*, 2002, 78(11): 1011-1021.
- [13] Jen KY, Cheung VG. Transcriptional response of lymphoblastoid cells to ionizing radiation [J]. *Genome Res*, 2003, 13 (9): 2092 - 2100.
- [14] Akerman GS, Rosenzweig BA, Dorn OE, et al. Alterations in gene expression profiles and the DNA-damage response in ionizing radiation-exposed TK6 Cells [J]. *Environ Mol Mutagen*, 2005, 45 (2-3): 188-205.
- [15] Amundson SA, Do KT, Shahab S, et al. Identification of potential mRNA biomarkers in peripheral blood lymphocytes for human exposure to ionizing radiation [J]. *Radiat Res*, 2000, 154(3): 342-346.
- [16] Stassen T, Port M, Nuyken I, et al. Radiation-induced gene expression in MCF-7 cells [J]. *Int J Radiat Biol*, 2003, 79(5): 319-331.
- [17] Marko NF, Dieffenbach PB, Yan G, et al. Does metabolic radiolabeling stimulate the stress response? Gene expression profiling reveals differential cellular responses to internal beta vs. external gamma radiation [J]. *FASEB J*, 2003, 17(11): 1470-1486.
- [18] Fernandez-Capetillo O, Lee A, Nussenzweig M, et al. H2AX: the histone guardian of the genome [J]. *DNA Repair*, 2004, 3 (8-9): 959-967.
- [19] Wang H, Wang M, Wang H, et al. Complex H2AX phosphorylation patterns by multiple kinases including ATM and DNAPK in human cells exposed to ionizing radiation and treated with kinase inhibitors [J]. *J Cell Physiol*, 2005, 202(2): 492 - 502.
- [20] Stiff T, O'Driscoll M, Rief N, et al. ATM and DNA-PK function redundantly to phosphorylate H2AX after exposure to ionizing radiation [J]. *Cancer Res*, 2004, 64(7): 2390-2396.
- [21] Lowndes NF, Toh GW. DNA repair: the importance of phosphorylating histone H2AX [J]. *Curr Biol*, 2005, 15(3): 99-102.
- [22] Celeste A, Petersen S, Romanienko PJ, et al. Genomic instability in mice lacking histone H2AX [J]. *Science*, 2002, 296(5569): 922-927.
- [23] Paul T, Rogakou EP, Yamazaki V, et al. A critical role for histone H2AX in recruitment of repair factors to nuclear foci after DNA damage [J]. *Curr Biol*, 2000, 10(15): 886-895.
- [24] Rogakou EP, Pilch DR, Orr AH, et al. DNA double-stranded breaks induce histone H2AX phosphorylation on serine 139 [J]. *J Biol Chem*, 1998, 273(10): 5858-5868.
- [25] 王会平, 周平坤. 组蛋白 H2AX 与 DNA 损伤的分子感应 [J]. *癌变·畸变·突变*, 2006, 18(4): 334-336.
- [26] 闵锐, 倪瑾. H2AX 活化与 DNA 双链断裂及辐射剂量的关系 [J]. *生命的化学*, 2006, 26(5): 427-429.
- [27] Ding LH, Shingyoji M, Chen F, et al. Gene expression profiles of normal human fibroblasts after exposure to ionizing radiation: A comparative study of low and high doses [J]. *Radiat Res*, 2005, 164 (1): 17-26.
- [28] Azzam EI, de Toledo SM, Little JB. Direct evidence for the participation of gap junction-mediated intercellular communication in the transmission of damage signals from alpha-particle irradiated to nonirradiated cells [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, 98(2): 473-478.
- [29] Shao C, Furusawa Y, Aoki M, et al. Role of gap junctional intercellular communication in radiation-induced bystander effects in human fibroblasts [J]. *Radiat Res*, 2003, 160(3): 318-323.
- [30] Azzam EI, de Toledo SM, Little JB. Expression of connexin43 is highly sensitive to ionizing radiation and other environmental stresses [J]. *Cancer Res*, 2003, 63(21): 7128-7135.
- [31] Glover D, Little JB, Lavin MF, et al. Low dose ionizing radiation-induced activation of connexin 43 expression [J]. *Int J Radiat Biol*, 2003, 79(12): 955-964.