

氯碘羟喹联合锌离子对人宫颈癌 HeLa 细胞的放射增敏研究

鲁珊 柯元 王尤 赵红 高孝家 於海军 周福祥

430071 武汉大学中南医院放化疗科

通信作者:周福祥, Email: happyzhoufx@sina.com

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-5098.2016.04.001

【摘要】 目的 探讨氯碘羟喹(CQ)联合锌离子(zinc)对人宫颈癌 HeLa 细胞系的放射增敏作用。**方法** 将细胞分为对照组、药物组、单纯照射组、药物+照射组。CCK-8 法检测不同浓度氯碘羟喹联合锌离子对 HeLa 细胞的毒性作用;集落形成实验检测氯碘羟喹联合锌离子对 HeLa 细胞放射敏感性的影响,依据单击多靶模型拟合剂量-生存曲线,并计算放射增敏参数;流式细胞仪检测 HeLa 细胞周期与凋亡率;单荧光素酶报告基因法检测核转录因子 NF- κ B 的活性。**结果** 氯碘羟喹联合锌离子对 HeLa 细胞的生长抑制作用呈浓度依赖性($F = 188.00, P < 0.01$)。单纯照射组和药物+照射组的平均致死剂量(D_0)分别为 3.16 和 2.04 Gy,放射增敏比(SER)为 1.55。药物+照射组较单纯照射组相比, G_2 期阻滞降低($t = 10.39, P < 0.05$),24 h 凋亡率增加($t = 5.64, P < 0.01$),药物+照射组 NF- κ B 活性降低($t = 21.42, P < 0.05$)。与对照组比较,药物组 NF- κ B 活性降低($t = 12.48, P < 0.05$),单纯照射组 NF- κ B 活性升高($t = 6.23, P < 0.05$)。**结论** 氯碘羟喹和锌离子二者联合使用可增加 HeLa 细胞的放射敏感性,其机制可能与药物去除 X 射线诱导的 G_2 期阻滞,增加射线诱导的细胞凋亡,以及抑制细胞 NF- κ B 活性有关。

【关键词】 放射增敏; 氯碘羟喹; 锌离子; HeLa 细胞; NF- κ B

基金项目: 国家自然科学基金(81201755)

Radiosensitization of clioquinol and zinc in human cervical cancer cell lines Lu Shan, Ke Yuan, Wang You, Zhao Hong, Gao Xiaojia, Yu Haijun, Zhou Fuxiang
Department of Chemoradiotherapy of Zhongnan Hospital, Wuhan University, Wuhan 430071, China
Corresponding author: Zhou Fuxiang, Email: happyzhoufx@sina.com

【Abstract】 Objective To investigate the radiosensitization effects of the combination treatment of clioquinol (CQ) and zinc on human cervical cell line HeLa *in vitro*. **Methods** Cells were divided into the 4 groups: controls, drug, radiation, and combined drug and radiation group. Cytotoxic effect of CQ and zinc on cell viability was determined by CCK-8 assay. Radiosensitization effect of CQ and zinc on HeLa cells was detected by colongenic assay, and the single-hit multi-target model was used to stimulate the dose-response curve of survival and to calculate radiosensitization parameters. The cell cycle and apoptosis of HeLa cells were analyzed with flow cytometry. Luciferase reporter assay was used to study NF- κ B activity of HeLa cells. **Results** The combination of CQ and zinc inhibited cell growth in a dose-dependent manner ($F = 188.00, P < 0.01$). The mean lethal dose was 3.16 and 2.04 Gy for radiation group and combined drug and radiation group, respectively, and hence the SER was 1.55. Compared with the radiation group, the ratio of G_2 -phase cells in the combined drug and radiation group decreased ($t = 10.39, P < 0.05$), the apoptosis rate increased at 24 h post-irradiation ($t = 5.64, P < 0.01$), and the NF- κ B activity decreased ($t = 21.42, P < 0.05$). Compared to the control group, the NF- κ B activity increased in the radiation group ($t = 6.23, P < 0.05$), but decreased in the drug group ($t = 12.48, P < 0.05$). **Conclusions** The combination of CQ and zinc could increase the radiosensitivity of HeLa cells by decreasing the ratio of G_2 -phase cells, increasing apoptosis and the inhibiting of NF- κ B activity.

【Key words】 Radiosensitization; Clioquinol; Zinc; HeLa cell; NF- κ B

Fund programs: National Natural Science Foundation (81201755)

放疗是恶性肿瘤治疗的三大手段之一,然而很多肿瘤对放疗耐受成为制约放疗效果的一大难题,寻找一种高效、低毒的放射增敏剂是当前研究的热点。有研究证实,氯喹对乳腺癌、脑胶质瘤等肿瘤有放射增敏作用^[1-2]。氯碘羟喹(CQ)作为氯喹衍生物,与锌离子化合物联用能增加肿瘤细胞内锌离子水平,从而发挥抗肿瘤效应^[3-4]。锌离子是维持正常细胞生长代谢的一种必需元素,在大多数肿瘤细胞中含量减少或缺乏^[5],有研究发现补充细胞内锌离子增加了蒽环霉素对肿瘤细胞 DNA 的损伤^[6],抵消肿瘤细胞乏氧表型,增加肿瘤细胞对化学治疗的敏感性^[7-8]。而 CQ 联合锌离子是否能增加肿瘤细胞对放射治疗的敏感性尚未见报道。本实验探讨氯碘羟喹(CQ)联合锌离子(zinc)对人宫颈癌 HeLa 细胞系的放射增敏作用,为 CQ 联合锌离子应用于临床恶性肿瘤的放射治疗提供实验基础。

材料与方法

1. 细胞、试剂与仪器:人宫颈癌 HeLa 细胞系购于中国科学院上海细胞库;氯碘羟喹、氯化锌、二甲基亚枫(DMSO)购于美国 Sigma 公司;类胎牛血清和 MEM 培养基购于美国 Hyclone 公司;CCK-8 试剂盒购于日本同仁公司;细胞周期与凋亡试剂盒购于上海贝博生物公司;荧光素酶活性检测试剂盒购于美国 Promega 公司,直线加速器为德国西门子公司 PRIMUS 型。

2. 细胞培养:HeLa 细胞接种于 MEM 培养基(含 10% 类胎牛血清及青霉素、链霉素各 100 U/ml),在 37℃、5% CO₂、饱和湿度恒温培养箱中培养,0.25% 胰酶消化传代。所有实验均在细胞指数生长期进行。

3. 实验分组:实验分对照组、药物组、单纯照射组、药物 + 照射组。对照组用含有 DMSO 的 MEM 培养基处理;药物组用含有 5 μmol/L CQ 和 10 μmol/L ZnCl₂ 的 MEM 培养基处理;单纯照射组用不同剂量 X 射线处理;药物 + 照射组用 5 μmol/L CQ 和 10 μmol/L ZnCl₂ 的药物预处理 4 h 后,再用不同剂量 X 射线处理。

4. 照射条件:6 MV X 射线,源靶距 100 cm,视野面积 35 cm × 35 cm,吸收剂量率 200 cGy/min。

5. CCK-8 法检测药物对细胞增殖的影响:用含 10% 类胎牛血清的 MEM 培养基将 HeLa 细胞悬液密度调制 2 × 10⁴/ml,接种于 96 孔板,2 000/孔。CQ

单独作用于 HeLa 细胞时 IC₁₀ 和 IC₁₅ 约为 6 和 10 μmol/L,数据未给出,考虑一分子 CQ 最多可以结合两分子锌离子,故固定 CQ 浓度为 5 μmol/L,调整锌离子浓度找出最佳抑制浓度。培养 24 h 贴壁后,加入 5 μmol/L CQ 和 0.5、10、20、50、100 μmol/L ZnCl₂ 溶液,置于 37℃、5% CO₂ 培养箱中培养 72 h,每孔加入 10 μl 的 CCK-8 试剂,2.5 h 后用酶标仪读取各孔吸光度(A)值,选择波长为 450 nm。对照组用含有 DMSO 的 MEM 培养基处理。实验重复 3 次。细胞抑制率(%) = 1 - (实验组 A 值 - 调零组 A 值)/(对照组 A 值 - 调零组 A 值) × 100%。

6. 集落形成实验检测对细胞放射敏感性的影响:取对数生长期细胞制备细胞悬液,接种于 6 孔板(0、0.5、1、4、6、8、10 Gy 分别接种 100、100、200、400、800、1 000、2 000 个细胞)。于含 10% 类胎牛血清的 MEM 培养基中培养 24 h,弃去培养基,给予药物处理,使 CQ 和 ZnCl₂ 的终浓度分别为 5 和 10 μmol/L,继续培养 4 h 后分别给予不同剂量(0、0.5、1、2、4、6、8、10 Gy) X 射线照射,每个剂量分设 6 个平行样,照射后继续培养 14 d,甲醇固定,结晶紫染色,计数 ≥ 50 个细胞的克隆,计算细胞存活分数(SF),SF = 实验中克隆数/接种细胞数 × PE,PE 为 0 Gy 时集落形成率,用 GraphPad Prism 5.0 软件根据单击多靶模型 $SF = 1 - (1 - e^{-D/D_0})^N$ 拟合剂量-存活曲线,计算平均致死剂量 D₀、准阈剂量 D_q、SF₂、放射增敏比(SER)等放射生物学参数,其中 D_q/D₀ = logN。

7. 细胞周期检测:将处于对数生长期的 HeLa 细胞接种于 6 孔板中,分为单纯照射组和药物 + 照射组,每组 3 个平行样。于照射前 4 h,弃去旧培养基,在药物 + 照射组中加入 CQ 和 ZnCl₂,使 CQ 和 ZnCl₂ 的终浓度分别为 5 和 10 μmol/L;在单纯照射组中加入含 DMSO 的培养基,培养箱培养 4 h 后用 6 Gy X 射线照射,射线照射后 24 h 收集细胞,并用 70% 乙醇固定。RNA 酶消化,碘化丙啶(PI)染色(4℃避光染 30 min)后立即用流式细胞仪检测细胞周期。

8. 细胞凋亡检测:将对数生长期的 HeLa 细胞接种于 6 孔板中,分设对照组、药物组、单纯照射组、药物 + 照射组,每组设 3 个平行样。在完全培养基中培养 24 h 后,在药物组、药物 + 照射组中加入 5 μmol/L CQ 和 10 μmol/L zinc,在对照组、单纯照射组加入含 DMSO 的培养基,单纯照射组和药物 +

照射组用 10 Gy X 射线处理,照射前 4 h 加药处理。照射后继续培养 24 h 后,用不含 EDTA 胰酶消化细胞,离心半径 6 cm,转速 1 000 r/min,离心 5 min,收集细胞,并用预冷 PBS 洗涤 2 次,分别加入 Annexin V 和 PI 染液,避光染色 15 min 后流式细胞仪检测凋亡。

9. 质粒转染和荧光素酶活性检测:取对数生长期细胞 HeLa 细胞接种于 100 mm 培养皿中,细胞密度为 70% ~ 80% 时,用 Lipo2000 将含有 NF-κB 报告基因的质粒 (pNF-κB-Luc) 转染细胞,转染 24 h 后,将转染细胞消化并接种于 96 孔板,20 000/孔,分设对照组、药物组、单纯照射组、药物 + 照射组,每组 3 个平行样。转染 48 h 后在药物组和药物 + 照射组加入 5 μmol/L CQ 和 10 μmol/L ZnCl₂,加药 4 h 后单纯照射组和药物 + 照射组用 2 Gy X 射线处理,射线处理 24 h 后进行荧光素酶活性检测,每孔加入 20 μl 细胞裂解液 (CCLR) 和 100 μl 荧光素酶检测底物 (LAR) (避光处理),立即用酶标仪读取荧光值。

10. 统计学处理:采用 SPSS 22.0 统计软件分析。实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间两两比较采用 *t* 检验,各组间比较采用单因素方差分析。*P* < 0.05 为差异有统计学意义。

结 果

1. 氯碘羟喹联合氯化锌对人宫颈癌 HeLa 细胞的生长抑制作用:结果见表 1。氯碘羟喹联合氯化锌对 HeLa 细胞的抑制率随着药物浓度的增加而升高 (*F* = 188.00, *P* < 0.01)。当 5 μmol/L CQ + 10 μmol/L zinc 作用时间为 72 h 时,细胞抑制率为 15.88%,与对照组比较,差异有统计学意义 (*t* = 12.17, *P* < 0.05),选用作放射增敏的实验研究。

2. 集落形成实验观察 CQ + zinc 对 HeLa 细胞的放射增敏作用:在相同照射剂量下,药物 + 照射组的细胞存活分数均低于单纯照射组,根据单击多靶模型拟合剂量-存活曲线见图 1。单纯照射组和药物 + 照射组的 *SF*₂ 分别为 0.65 和 0.48; *D*₀ 分别为 3.16 和 2.04 Gy; *D*_q 分别为 0.73 和 0.35 Gy。药物 + 照射组与单纯照射组相比, *D*₀、*D*_q、*SF*₂ 均降低,放射增敏比为 1.55,表明 CQ + zinc 对 HeLa 细胞有明显的放射增敏效应。

3. 流式细胞仪观察药物联合 X 射线对 HeLa 细胞周期的影响:结果见表 2。药物组和对照组相比, *G*₁、*S*、*G*₂/*M* 期均无明显差异;与单纯照射组相

表 1 CCK-8 法检测 5 μmol/L 氯碘羟喹联合不同浓度氯化锌作用 72 h 后 HeLa 细胞生长抑制率 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Cytotoxicity of 5 μmol/L CQ combined with different concentrations of zinc on HeLa cell proliferation after 72 h of drug treatment ($\bar{x} \pm s$)

药物浓度 (μmol/L)	样本量	吸光度 (A) 值	抑制率 (%)
对照组	6	1.237 ± 0.028	0
CQ + 0 μmol/L zinc	6	1.134 ± 0.067	8.55 ± 5.01
CQ + 5 μmol/L zinc	6	1.124 ± 0.109	9.42 ± 6.85
CQ + 10 μmol/L zinc	6	1.039 ± 0.046	15.88 ± 2.92
CQ + 20 μmol/L zinc	6	0.985 ± 0.057	20.44 ± 3.98
CQ + 50 μmol/L zinc	6	0.515 ± 0.069	58.29 ± 6.23
CQ + 100 μmol/L zinc	6	0.238 ± 0.033	80.70 ± 2.98
<i>F</i> 值			188.00
<i>P</i> 值			< 0.01

注: CQ. 氯碘羟喹; zinc. 锌离子。^a 与对照组比较, *t* = 12.17, *P* < 0.05

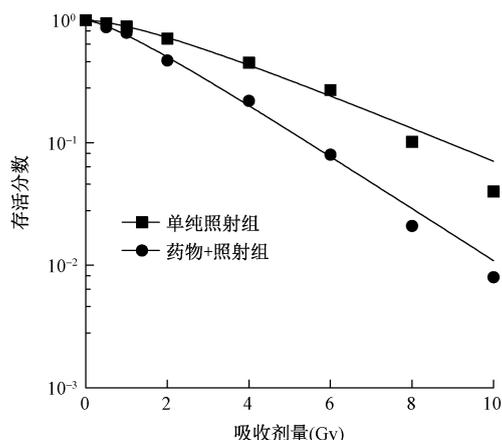


图 1 单击多靶模型拟合的 HeLa 细胞存活曲线图

Figure 1 Dose curves of cell survival stimulated by the single-hit multi-target model

表 2 药物联合 X 射线作用于 HeLa 细胞周期变化 (% , $\bar{x} \pm s$)

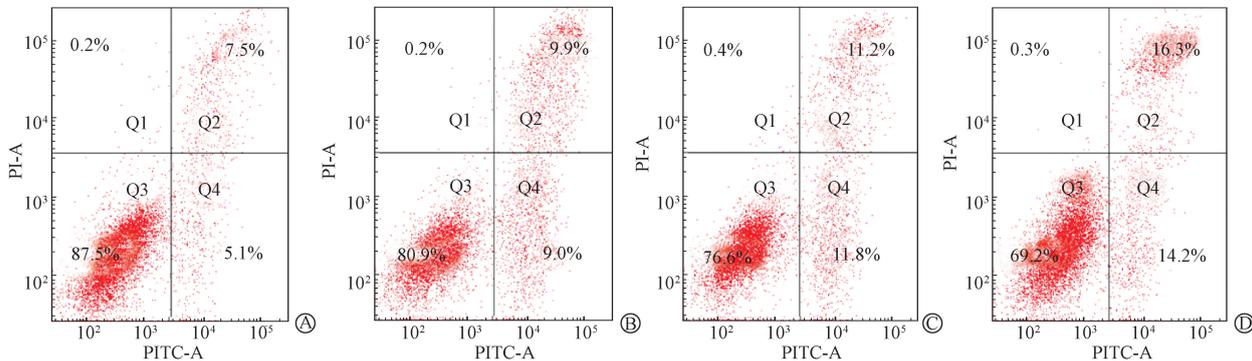
Table 2 Effect of drugs on HeLa cell cycle distribution after radiation (% , $\bar{x} \pm s$)

组别	样本数	<i>G</i> ₀ / <i>G</i> ₁	<i>S</i>	<i>G</i> ₂ / <i>M</i>
对照组	3	50.14 ± 4.90	31.19 ± 3.33	18.67 ± 1.59
药物组	3	48.40 ± 5.24	31.05 ± 4.40	20.55 ± 1.40
单纯照射组	3	18.12 ± 4.39	33.94 ± 3.07	47.94 ± 5.71
药物 + 照射组	3	41.52 ± 4.18 ^a	29.60 ± 6.74	28.88 ± 3.15 ^b

注: 与同一周期单纯照射组比较, ^a *t* = 10.39, *P* < 0.05; ^b *t* = 23.15, *P* < 0.05

比,药物 + 照射组 *G*₂ 期减少, *G*₁ 期增加,差异有统计学意义 (*t* = 10.39, 23.15, *P* < 0.05)。

4. 流式细胞仪观察 CQ + zinc 联合 X 射线对 HeLa 细胞凋亡的影响:结果见图 2。药物组与对照组相比,凋亡率由 (12.64 ± 1.58)% 增加到 (18.91 ± 4.25)% ,差异有统计学意义 (*t* = 3.39, *P* < 0.05); 药物 + 照射组与单纯照射组相比,凋亡率由



注: Q1. 坏死细胞; Q2. 晚期凋亡细胞; Q3. 正常活细胞; Q4. 早期凋亡细胞

图 2 药物联合 X 射线对 HeLa 细胞凋亡的影响 A. 对照组; B. 药物组; C. 单纯照射组; D. 药物 + 照射组

Figure 2 Effect of drugs on radiation-induced apoptosis in HeLa cells A. Control group; B. Drug group; C. Radiation group; D. Drug + irradiation group

(23.04 ± 1.44)% 增加到 (30.46 ± 2.88)%, 差异有统计学意义 ($t = 5.64, P < 0.01$)。

5. NF- κ B 活性检测: 对照组、药物组、单纯照射组、药物 + 照射组的荧光值分别为 (1.17 ± 0.103) $\times 10^6$ 、(0.38 ± 0.074) $\times 10^6$ 、(1.62 ± 0.101) $\times 10^6$ 和 (0.46 ± 0.039) $\times 10^6$ 。与对照组相比, 单纯照射组 NF- κ B 活性升高, 差异有统计学意义 ($t = 6.23, P < 0.05$), 提示射线可激活 HeLa 细胞 NF- κ B 活性; 药物组 NF- κ B 活性明显下降, 差异有统计学意义 ($t = 12.48, P < 0.05$), 提示药物可抑制 HeLa 细胞 NF- κ B 活性。与单纯照射组比较, 药物 + 照射组 NF- κ B 活性明显下降, 差异有统计学意义 ($t = 21.42, P < 0.05$), 提示药物可抑制射线导致的 HeLa 细胞 NF- κ B 活性升高。

讨 论

CQ 是一种金属螯合剂, 能与锌、铁、铜等金属离子稳定结合, 最早用来治疗腹泻和皮肤感染^[9]。锌离子是人体必需的一种微量元素, 目前多项研究证实多种肿瘤中存在锌离子缺乏, 锌离子缺乏与正常细胞恶性转化密切相关^[10], 而补充锌离子治疗能抑制肿瘤细胞生长, 改善细胞缺氧表型, 影响肿瘤细胞对抗癌治疗的反应性^[11]。用锌处理前列腺癌细胞能增加其对紫杉醇诱导凋亡的敏感性^[12]。前期研究证实, CQ 联合锌离子化合物能抑制人前列腺癌细胞和卵巢癌细胞的生长, 其主要机制是 CQ 通过调节细胞内锌离子水平, 促进肿瘤细胞凋亡。目前关于 CQ 联合锌离子对 HeLa 细胞的作用尚未报道, 本研究发现 CQ 联合锌离子对 HeLa 细胞的抑制作用呈浓度依赖性, 与前期研究一致。高浓度药

物对 HeLa 细胞有明显的细胞毒性, 而低浓度时细胞毒性很小, 用低浓度药物联合 X 射线处理 HeLa 细胞与单独射线处理组相比, 平均致死剂量降低, 放射增敏比为 1.55, 说明低浓度药物对 HeLa 细胞产生明显的放射增敏效应。

影响细胞的放射敏感性的因素很多, 比如 DNA 损伤修复、细胞周期、细胞凋亡、胞内信号转导等。细胞在受到射线辐射时, 通常会激活 G₁/S 期和 G₂/M 期这两个细胞周期检查站点, 进而导致细胞停滞在 G₁ 期或 G₂ 期有利于损伤的修复。p53 是调控 G₁ 期检查点的重要基因, p53 接受 DNA 损伤信号后表达增加, 再通过 p21 基因以及细胞周期素 D 等, 抑制 CDK 的激活, 导致 G₁ 期阻滞。大多数肿瘤细胞存在 G₁ 期检查站点的基因突变 (如 p53、cyclinD) 导致 G₁ 期检查站点的功能缺陷^[13-14]。本实验采用的人宫颈癌 HeLa 细胞是 p53 无功能的细胞, 射线照射后只出现 G₂ 期阻滞, 而未出现 G₁ 期阻滞, 与文献报道一致^[13]。药物 + 照射组与单纯照射组比较, G₂ 期阻滞的比例下降, 说明药物能部分去除射线导致的 G₂ 期阻滞, 受损细胞不能停留在 G₂ 期修复而进入 M 期进行异常分裂, 发生增殖性死亡。

DNA 双链断裂是细胞致死的主要原因, 当双链断裂积累至一定程度, 凋亡相关基因被激活, 并诱导凋亡发生。亦有报道显示, 凋亡与 SF₂ 密切相关, 能预测肿瘤细胞放射敏感性大小^[15]。本实验通过流式细胞仪观察到药物 + 照射组与单纯照射组相比, 细胞凋亡率明显增加, 说明该药物能增加射线诱导的凋亡。

射线或化疗药物可诱导肿瘤细胞 NF- κ B 活性

升高,并调控介导放疗耐受的一些基因的表达,抑制 NF- κ B 的活性能增加肿瘤细胞对放疗的敏感性,NF- κ B 有望作为克服肿瘤细胞放疗耐受的重要靶点^[16]。本实验中,单纯照射组与对照组相比,NF- κ B 活性升高约 1.4 倍,说明射线能激活 HeLa 细胞 NF- κ B 的活性,与文献报道一致^[17]。药物组与对照组相比,NF- κ B 活性抑制约 3.0 倍;药物 + 照射组与单纯照射组相比,NF- κ B 活性抑制约 3.6 倍,说明 CQ 联合锌离子不仅抑制 HeLa 细胞基础的 NF- κ B 活性,而且显著抑制射线诱导的 NF- κ B 活性的升高。

本实验观察到 CQ 联合锌离子对 HeLa 细胞产生明显放射增敏效应,为宫颈癌临床放射增敏治疗提供一种新思路,其机制可能与药物抑制射线诱导的 NF- κ B 活性升高和 G₂ 期阻滞相关,关于 NF- κ B 调控 HeLa 细胞放射增敏的具体分子机制尚不清楚,正在进一步研究之中。

利益冲突 本人与本人家属、其他研究者,未因进行该研究而接受任何不正当的职务或财务利益,在此对研究的独立性和科学性予以保证

作者贡献声明 鲁珊设计实验方案,进行相关实验操作,分析实验结果后统计并起草论文;柯元、高孝家协助部分实验操作;王尤、赵红指导部分实验操作;周福祥和於海军指导、监督实验进行,并修改论文

参 考 文 献

- [1] Lomonaco SL, Finniss S, Xiang C, et al. The induction of autophagy by gamma-radiation contributes to the radioresistance of glioma stem cells[J]. *Int J Cancer*, 2009, 125(3): 717-722. DOI: 10.1002/ijc.24402.
- [2] Chaachouay H, Ohneseit P, Toulany M, et al. Autophagy contributes to resistance of tumor cells to ionizing radiation[J]. *Radiother Oncol*, 2011, 99(3): 287-292. DOI: 10.1016/j.radonc.2011.06.002.
- [3] Yu H, Zhou Y, Lind SE, et al. Clotrimazole targets zinc to lysosomes in human cancer cells[J]. *Biochem J*, 2009, 417(1): 133-139. DOI: 10.1042/BJ20081421.
- [4] Yu H, Lou JR, Ding WQ. Clotrimazole independently targets NF- κ B and lysosome pathways in human cancer cells[J]. *Anticancer Res*, 2010, 30(6): 2087-2092.
- [5] Gumulec J, Masarik M, Adam V, et al. Serum and tissue zinc in epithelial malignancies: a meta-analysis[J]. *PLoS One*, 2014, 9(6): e99790. DOI: 10.1371/journal.pone.0099790.
- [6] Wysokinski D, Blasiak J, Wozniak K. Zinc differentially

modulates DNA damage induced by anthracyclines in normal and cancer cells[J]. *Exp Oncol*, 2012, 34(4): 327-331.

- [7] Uzzo RG, Leavis P, Hatch W, et al. Zinc inhibits nuclear factor-kappa B activation and sensitizes prostate cancer cells to cytotoxic agents[J]. *Clin Cancer Res*, 2002, 8(11): 3579-3583.
- [8] Sheffer M, Simon AJ, Jacob-Hirsch J, et al. Genome-wide analysis discloses reversal of the hypoxia-induced changes of gene expression in colon cancer cells by zinc supplementation[J]. *Oncotarget*, 2011, 2(12): 1191-1202. DOI: 10.18632/oncotarget.395.
- [9] Chen D, Cui QC, Yang H, et al. Clotrimazole, a therapeutic agent for Alzheimer's disease, has proteasome-inhibitory, androgen receptor-suppressing, apoptosis-inducing, and antitumor activities in human prostate cancer cells and xenografts[J]. *Cancer Res*, 2007, 67(4): 1636-1644. DOI: 10.1158/0008-5472.CCR-06-3546.
- [10] Franklin RB, Costello LC. The important role of the apoptotic effects of zinc in the development of cancers[J]. *J Cell Biochem*, 2009, 106(5): 750-757. DOI: 10.1002/jcb.22049.
- [11] Sheffer M, Simon AJ, Jacob-Hirsch J, et al. Genome-wide analysis discloses reversal of the hypoxia-induced changes of gene expression in colon cancer cells by zinc supplementation[J]. *Oncotarget*, 2011, 2(12): 1191-1202. DOI: 10.18632/oncotarget.395.
- [12] Uzzo RG, Leavis P, Hatch W, et al. Zinc inhibits nuclear factor-kappa B activation and sensitizes prostate cancer cells to cytotoxic agents[J]. *Clin Cancer Res*, 2002, 8(11): 3579-3583.
- [13] Hein AL, Ouellette MM, Yan Y. Radiation-induced signaling pathways that promote cancer cell survival (review)[J]. *Int J Oncol*, 2014, 45(5): 1813-1819. DOI: 10.3892/ijo.2014.2614.
- [14] Chen T, Stephens PA, Middleton FK, et al. Targeting the S and G2 checkpoint to treat cancer[J]. *Drug Discov Today*, 2012, 17(5-6): 194-202. DOI: 10.1016/j.drudis.2011.12.009.
- [15] Dunne AL, Price ME, Mothersill C, et al. Relationship between clonogenic radiosensitivity, radiation-induced apoptosis and DNA damage/repair in human colon cancer cells[J]. *Br J Cancer*, 2003, 89(12): 2277-2283. DOI: 10.1038/sj.bjc.6601427.
- [16] Li F, Sethi G. Targeting transcription factor NF- κ B to overcome chemoresistance and radioresistance in cancer therapy[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2010, 1805(2): 167-180. DOI: 10.1016/j.bbcan.2010.01.002.
- [17] Sandur SK, Deorukhkar A, Pandey MK, et al. Curcumin modulates the radiosensitivity of colorectal cancer cells by suppressing constitutive and inducible NF- κ B activity[J]. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2009, 75(2): 534-542. DOI: 10.1016/j.ijrobp.2009.06.034.

(收稿日期:2015-10-13)