

基础研究

DOI: 10.3969/j.issn.0253-3626.2013.02.004

NFBD1 在鼻咽癌组织中的表达及临床意义

邱志利, 曾 泉, 刘学良, 胡国华

(重庆医科大学附属第一医院耳鼻喉科, 重庆 400016)

【摘要】目的:研究 NFBD1 在鼻咽癌(nasopharyngeal carcinoma,NPC)组织中的表达及其临床意义。**方法:**采用免疫组化检测 40 例 NPC 组织及 20 例慢性鼻咽炎组织中 NFBD1 蛋白的表达,实时荧光定量PCR 检测 34 例 NPC 组织和 23 例慢性鼻咽炎组织中 NFBD1 mRNA 的表达并分析其与患者性别、年龄、颈淋巴结转移和临床分期的相关性。**结果:**NPC 组织中 NFBD1 在蛋白水平($\chi^2=9.600, P=0.002$)和 mRNA 水平($t=3.206, P=0.002$)表达均高于慢性鼻咽炎组织,NFBD1 在 mRNA 水平的表达高低与患者的性别($t=0.937, P=0.356$)、年龄($t=0.382, P=0.698$)及是否伴有临床颈淋巴结转移($t=1.037, P=0.322$)、临床分期($t=0.293, P=0.771$)均没有相关性。**结论:**NFBD1 可能参与了 NPC 的发生,但其与 NPC 的侵袭转移没有明显联系。

【关键词】NFBD1; 鼻咽癌; 免疫组织化学; 实时荧光定量 PCR

【中国图书分类法分类号】R739.63

【文献标志码】A

【收稿日期】2012-08-11

Expressions of NFBD1 in nasopharyngeal carcinoma and their clinical significances

QIU Zhili, ZENG Quan, LIU Xueliang, HU Guohua

(Department of Otorhinolaryngology, the First Affiliated Hospital, Chongqing Medical University)

【Abstract】Objective: To investigate the expressions of nuclear factor with BRCT domain 1(NFBD1) in nasopharyngeal carcinoma and their clinical significances. **Methods:** Expressions of NFBD1 protein in 40 cases of nasopharyngeal carcinoma(NPC) tissues and 20 cases of chronic nasopharyngitis tissues were detected by immunohistochemical SP method. Expressions of NFBD1 mRNA in 34 cases of NPC tissues and 23 cases of chronic nasopharyngitis tissues were observed by qRT-PCR and their correlations with patients' gender, age, cervical lymphnode metastasis and clinic stage were analyzed. **Results:** Expressions of NFBD1 protein and mRNA were significantly higher in NPC tissues than in chronic nasopharyngitis tissues($\chi^2=9.600, P=0.002; t=3.206, P=0.002$). Expressions of NFBD1 mRNA in NPC tissues were not significantly correlated with patient's gender($t=0.937, P=0.356$), age($t=0.382, P=0.698$), cervical lymphnode metastasis($t=1.037, P=0.322$) and clinic stage($t=0.293, P=0.771$). **Conclusions:** Overexpression of NFBD1 may be involved in the tumorigenesis of NPC, but it is not significantly correlated with nasopharyngeal carcinoma invasion and metastasis.

【Key words】 nuclear factor with BRCT domain 1; nasopharyngeal carcinoma; immunohistochemistry; real-time fluorescent quantitative PCR

鼻咽癌(nasopharyngeal carcinoma, NPC)是头颈部常见的恶性肿瘤,其发病具有明显的地区聚集性,我国南方是其高发地区。放射治疗一直是其首要的治疗手段。近年来虽然放射治疗的设备和技术有进一步提高,但 NPC 治疗的总体疗效并没有明显提高,其 10 年生存率仍徘徊在 40%~50%^[1-2]。而且放射治疗不可避免的给病人带来很大的身体上的痛苦

和经济上的负担。因此,进一步探索 NPC 的预防和诊治方法(包括治疗靶点探索)具有重要的理论和现实意义,也是摆在每一个医务工作者和科研人员面前的一个重要而迫切的课题。

NFBD1 也称 MDC1, 是一个参与细胞内 DNA 损伤后细胞应答反应的重要分子^[3]。该基因最早由日本的 Kazusa DNA 研究所在超长 cDNA 库大规模克隆测序中发现,编号为 KIAA0170, cDNA 全长约 6 940 bp^[4]。NFBD1 蛋白由 2 089 个氨基酸组成,分子量高达 227 kD, 包含 1 个位于氨基端的 FHA 结构域、2 个位于羧基端的 BRCT 结构域和中间的多个

作者介绍:邱志利, Email: arlyqiu201@sina.com,

研究方向:头颈肿瘤的基础与临床。

通信作者:胡国华, Email: hgheq@sina.com。

基金项目:重庆市自然科学基金重点资助项目(编号:2012jjB10015);

重庆市卫生局资助项目(编号:2010220)。

重复 P/ST 结构域,隶属于 BRCT 蛋白超家族^[5]。

NFBD1 作为 DNA 损伤与应答研究领域的一个新的热点分子,得到国外多个研究小组的关注,成为国际上新的研究热点,但仍处于起始阶段。Yuan 等^[6]报道,无论在 mRNA 水平还是在蛋白水平,宫颈癌组织中 NFBD1 的表达显著高于对应宫颈正常组织,从而推测 NFBD1 可能在宫颈癌的发生发展中起重要作用。并有研究表明,小干扰 RNA 抑制 NFBD1 后,NPC 细胞对化疗药物顺铂的敏感性显著提高^[7],这也为研究 NPC 生物学靶点治疗指明了方向。本实验通过检测 NFBD1 在 NPC 组织和慢性鼻咽炎组织中的表达差异,来推断其是否在 NPC 的发生机制中起作用,从而探索 NPC 的早期诊断和生物学治疗方法。

1 对象和方法

1.1 对象

做定量 PCR 所用 57 例鼻咽部标本均收集于重庆医科大学附属第一医院耳鼻咽喉科喉镜室和重庆市肿瘤医院门诊喉镜室,其中 34 例 NPC 标本均取自于临床高度怀疑 NPC 的患者且经病理组织切片确诊,23 例慢性鼻咽炎标本均取自于临床不能完全排除 NPC 的患者以及门诊体检者且经病理组织切片证实。34 例 NPC 组织中年龄 22~81 岁(53.7±11.9)岁,60 岁以上 9 例,60 岁以下 25 例,男性 21 例,女性 13 例,伴临床颈淋巴结转移 10 例,不伴临床颈淋巴结转移 24 例,按照国际抗癌联盟临床 TNM 分期:Ⅰ期 7 例,Ⅱ期 15 例,Ⅲ期 10 例,Ⅳ期 2 例。做免疫组化所用石蜡切片均购于重庆医科大学病理诊断中心。所有标本在行活检前均未行放疗以及其他针对肿瘤的治疗,并均经病理切片证实。

1.2 主要试剂

兔抗人 NFBD1 多克隆抗体购于 Abcam 公司,鼠抗人 β -actin 单克隆抗体、羊抗兔及羊抗鼠多克隆抗体、免疫组化试剂盒及 DAB 显色试剂盒均购于北京中杉金桥生物技术有限公司。引物由大连 TAKARA 公司合成,TRIZOL、逆转录试剂盒及定量 PCR 试剂盒均购于大连 TAKARA 公司。

1.3 实验方法

1.3.1 采用免疫组化 SP 法检测 NFBD1 在组织中的表达强度和部位 操作步骤:石蜡切片于二甲苯中脱蜡,枸橼酸盐抗原修复,封闭内源性过氧化物酶,5%山羊血清封闭组织内非特异性抗原,滴加一抗过夜,滴加二抗,滴加链霉亲和素-过氧化物酶复合物,滴加 DAB 显色试剂,显微镜下控制显色时间,流水冲洗,复染苏木精,清水洗苏木精,碳酸锂浸泡切片,尽量去除水分,送 57℃烘干数小时,取出切片后放入二甲苯(透明)中 0.5 h,切片滴加中性树脂,封片风干。阴性对照用 PBS 代替一抗,阳性对照用已知阳性切片。所有实验标

本均由石蜡包埋、切片、HE 染色检查。

1.3.2 实时荧光定量 PCR 检测 NFBD1 在组织中 mRNA 水平的表达

1.3.2.1 组织中总 RNA 的提取 采用 TRIZOL 试剂,参照 RNAiso Plus 说明书提取组织总 RNA,使用分光光度计检测其浓度,1%琼脂糖凝胶电泳检测其完整性。

1.3.2.2 cDNA 的合成 cDNA 的合成按逆转录试剂盒说明完成。按下列组分配成 10 μ l 反应体系:2 μ l 5 $\times$ PrimeScript Buffer、0.5 μ l PrimeScript RT Enzyme Mix1、0.5 μ l oligo dT Primer、0.5 μ l Random 6 mers、Total RNA(<500 ng)、RNase Free dH₂O 加至 10 μ l。反转录条件为 37℃ 15 min,85℃ 5 s(逆转录酶失活),cDNA 产物稀释 20 倍后用于实时荧光定量 PCR。

1.3.2.3 实时荧光定量 PCR 采用大连 TAKARA 公司 20 μ l 反应体系,其组分如下:10 μ l SYBR Premix Ex Taq™ II、0.8 μ l PCR 上游引物(10 mmol/L)、0.8 μ l PCR 下游引物(10 mmol/L)、2.0 μ l DNA 模板、6.4 μ l dH₂O。反应条件为 95℃ 预变性 3 min,95℃ 变性 5 s,58℃ 退火 15 s,72℃ 延伸 15 s,40 个循环。CT 值为荧光信号达到设定阈值时所经过的循环数。实时荧光定量 PCR 以 β -actin 为内参检测 NFBD1 的相对表达水平。 Δ CT 值为 NFBD1 的 CT 值与管家基因 β -actin 的 CT 值的差, $2^{-\Delta CT}$ 则为该样本中 NFBD1 mRNA 相对于 β -actin 的 mRNA 的相对表达量。NFBD1 引物和 β -actin 引物均由大连 TAKARA 公司合成。 β -actin 和 NFBD1 的上下游引物序列见表 1。

表 1 引物序列

Tab.1 Sequences of primers

基因名称	引物序列
β -actin	上游引物:5'-TGACGTGGACATCCGCAAAG-3' (205 kb) 下游引物:5'-CTGGAAGGTGGACAGCGAGG-3'
NFBD1	上游引物:5'-AGCAACCCAGTTGTGATTTC-3' (256 kb) 下游引物:5'-TCAGATGTGCCAAAGTCAGC-3'

1.4 结果判定

1.4.1 免疫组化结果判定 NFBD1 染色的阳性信号为胞核或细胞质出现棕黄色颗粒,每张切片随机选取 5 个高倍视野,观察平均阳性细胞染色强度并计算阳性细胞百分率。首先按照染色强度记分:0 分为无染色,1 分为浅黄色,2 分为黄色,3 分为棕黄色;再按照阳性细胞百分比记分:阳性细胞 <5% 为 0 分,5%~24% 为 1 分,25%~49% 为 2 分,50%~74% 为 3 分, $\geq 75\%$ 为 4 分。两者相乘 0 分为阴性(-),1~3 分为弱阳性(+),4~7 分为阳性(++),8~12 分为强阳性(+++)。为了消除人为意向和误差,笔者分别邀请了 2 位资深病理科医生独立观察,对结果进行判定。

1.4.2 实时荧光定量 PCR 相对表达量 采用 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 计算, $\Delta\Delta CT = (CT_{目的基因} - CT_{管家基因}) - (CT_{阳性组织目的基因} - CT_{阳性组织管家基因})$ 平均值。

1.5 统计学处理

数据采用 SPSS 17.0 统计学软件处理。免疫组化数据为

表 2 NFBD1 在 NPC 组织和慢性鼻咽炎组织中表达情况

Tab.2 Expressions of NFBD1 in NPC tissues and chronic nasopharyngitis tissues

分组	样本例数 (n)	NFBD1 的表达强度				阳性表达率	χ^2 值	P 值
		阴性	弱阳性	阳性	强阳性			
NPC 组织	40	8	2	9	21	80%	9.600	0.002
慢性鼻咽炎组织	20	12	4	3	1	40%		

计数资料,采用卡方检验;实时荧光定量 PCR 数据为计量资料,采用 t 检验。检验水准 $\alpha=0.05$ (双侧),以 $P \leq 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 NFBD1 在 NPC 组织和慢性鼻咽炎组织中的表达及定位

免疫组化结果的代表性图片见图 1、2, NFBD1 在 NPC 组织和慢性鼻咽炎组织中的表达情况见表 2。NFBD1 的阳性染色呈棕黄色,主要定位于胞核,部分位于细胞质。40 例 NPC 组织中弱阳性表达 2 例、阳性 9 例、强阳性 21 例,阳性表达率 80%; 20 例慢性鼻咽炎组织中弱阳性表达 4 例、阳性 3 例,强阳性 1 例,阳性表达率 40%。两者表达水平差异有统计学意义 ($\chi^2=9.600, P=0.002$), 见表 2。

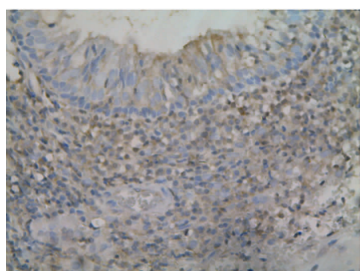


图 1 NFBD1 在 NPC 组织中的表达 (200 ×)

Fig.1 Expressions of NFBD1 in NPC tissues (200 ×)

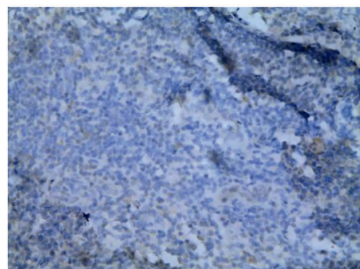


图 2 NFBD1 在慢性鼻咽炎组织中的表达 (200 ×)

Fig.2 Expressions of NFBD1 in chronic nasopharyngitis tissues (200 ×)

2.2 NFBD1 在 NPC 组织和慢性鼻咽炎组织中 mRNA 水平表达的分析

实时荧光定量 PCR 相对表达量采用 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 计算, 结果发现 34 例 NPC 组织的 NFBD1 mRNA 表达水平 (3.11 ± 2.39) 显著高于 23 例慢性鼻咽炎组织 (1.14 ± 0.69) ($t=3.206, P=0.002$), 见图 3。

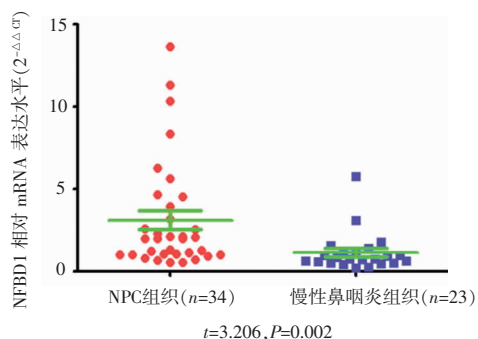


图 3 NFBD1 在 NPC 组织中和慢性鼻咽炎组织中 mRNA 水平的表达

Fig.3 Expressions of NFBD1 mRNA in NPC tissues and chronic nasopharyngitis tissues

2.3 NFBD1 在 NPC 组织中的 mRNA 表达水平在不同性别、年龄患者、伴或不伴临床颈部淋巴结转移患者以及不同临床分期患者中的差异性分析

NFBD1 mRNA 表达水平在男性患者和女性患者中差异无统计学意义 ($t=0.937, P=0.356$); 在 60 岁以上和 60 岁以下患者中差异无统计学意义 ($t=0.392, P=0.698$); 在伴有临床颈部淋巴结转移患者与不伴有颈部淋巴结转移者中差异无统计学意义 ($t=1.328, P=0.194$); 在 I、II 期患者与 III、IV 期患者中差异亦无统计学意义 ($t=0.293, P=0.771$), 见表 3。

表 3 NFBD1 mRNA 在 NPC 组织中的表达及其与临床特征之间的关系

Tab.3 Expressions of NFBD1 mRNA in NPC tissues and their correlations with clinical features

临床特征	样本例数 (n)	NFBD1 mRNA 相对表达量	t 值	P 值
性别			0.937	0.356
男	21	3.53 ± 3.20		
女	13	2.44 ± 3.45		
年龄 (岁)			0.392	0.698
< 60	28	3.05 ± 3.55		
≥ 60	9	2.56 ± 1.91		
颈淋巴结转移			1.328	0.194
伴颈淋巴结转移	10	3.75 ± 3.97		
不伴颈淋巴结转移	23	2.38 ± 2.01		
临床分期			0.293	0.771
I、II 期	22	3.24 ± 3.86		
III、IV 期	12	2.89 ± 1.98		

3 讨论

NPC 的发病原因目前认为主要与下列因素相关:①遗传因素;②EB 病毒感染;③包括微量元素及饮食在内的环境因素。近年来,分子生物学研究发现 NFBD1 是一个参与 DNA 损伤应答反应的重要分子;DNA 损伤应答后反应机制与肿瘤的发生相关^[3,9-11]。本课题小组率先以 NPC 为模型,研究 NFBD1 在 NPC 中的表达情况,并分析 NFBD1 与 NPC 患者临床分期以及临床颈部淋巴结转移的相关性,以推测 NFBD1 是否参与 NPC 的发生发展。

笔者收集 NPC 组织 34 例,慢性鼻咽炎组织 23 例。应用实时荧光定量 PCR 和免疫组化检测上述 NPC 和慢性鼻咽炎组织,结果表明 NFBD1 在 NPC 组织中表达显著高于慢性鼻咽炎组织,提示 NFBD1 可能在 NPC 的发生过程中起一定作用,此研究结果与 Yuan 等^[6]在宫颈癌中的研究结果一致,这些研究结果,进一步说明 NFBD1 与肿瘤发生密切相关,并为进一步探索 NFBD1 的作用奠定了前期基础,但是 NFBD1 在 NPC 组织中的表达上升是发生在哪个阶段,到底是先有 NFBD1 升高再有 NPC 发生,还是先有 NPC 发生而后才出现 NFBD1 上调,这个关系不得而知。

查阅大量国内外相关文献发现,NFBD1 主要有以下几方面生物学作用:①NFBD1 对 DNA 损伤后 S 期关卡和 G2/M 期关卡的激活起重要作用^[12];②NFBD1 通过中间的 PST 重复结构域(phospho-S/T motifs)和 DNA 蛋白激酶结合而介导 DNA 修复^[9];③NFBD1 在细胞生长和凋亡中起重要作用^[5,13]。在 NFBD1 的作用过程中 P53 扮演着重要角色;DNA 损伤早期,NFBD1 与 P53 结合,从而阻止 Ser15 的磷酸化,进而抑制 P53 的激活和促凋亡作用,使 DNA 损伤修复以及细胞得以存活;在 DNA 损伤后期,机体难以有效修复 DNA 的严重损伤,这时 NFBD1 出现表达下调,P53 被激活,细胞凋亡被启动。NFBD1 在细胞 DNA 损伤的早期和晚期阶段分别决定了细胞的存活或者凋亡^[14]。据此,笔者可以进一步认定 NFBD1 是 NPC 早期发生原因之一。今后,可以设想,通过患者鼻咽部黏膜中或者外周血中 NFBD1 的表达水平,进行 NPC 的早期诊断和排查方法的研究以及通过降低 NFBD1 的表达来预防 NPC 的发生。当然,这些设想的实施必须建立在大量的前期基础研

究的基础之上。

同时,笔者也对不同性别、年龄的患者、伴或不伴临床颈淋巴结转移的患者、不同临床分期的患者的 NFBD1 mRNA 表达水平进行比较分析,发现其 NFBD1 mRNA 表达水平高低与以上临床特征没有相关性。在后续实验中本课题需要通过扩大样本量来进一步验证上述现象,并且通过细胞实验(Transwell 细胞侵袭实验及划痕实验等)和动物实验(裸鼠原位癌模型建立颈淋巴结转移实验等)来深入探讨 NFBD1 是否参与了 NPC 的侵袭转移等生物学特性。

本课题小组在细胞水平的研究表明:NFBD1 siRNA 转染后抑制 NPC 细胞 NFBD1 表达,可显著提高其对化疗药物顺铂的敏感性。Yang 等^[15]和 Yuan 等^[6]分别在食道癌和宫颈癌细胞水平证实 NFBD1 siRNA 抑制 NFBD1 的表达后,可以有效促进癌细胞凋亡、抑制癌细胞增殖以及提高化疗药物敏感性。这些研究结果为笔者从 NFBD1 为靶点研究 NPC 的生物学治疗奠定了基础。在后续实验中,笔者打算采用多种 NPC 细胞系,通过 RNA 干扰技术,体内外实验观察 NFBD1 基因表达抑制后对 NPC 细胞和裸鼠移植瘤模型生长、周期、凋亡和放化疗敏感性的影响,探讨以 NFBD1 为靶点治疗 NPC 的潜在价值,为临床 NPC 的防治提供新的方法和措施。由于 NPC 的标本本身较小,扣除临床诊断所用,剩余标本不多;再者在一定区域内,NPC 病人有限,也即标本来源和标本数量受限。因此,在本课题中,标本数量还不够大,这是此工作的不足之处,但此部分中设计的临床标本收集及检测工作仍在继续中。

参 考 文 献

- [1] Zhou X F, Cui J, Macias V, et al. The progress on genetic analysis of nasopharyngeal carcinoma[J]. *Comp Funct Genomics*, 2007, 2007: 575-13.
- [2] Fandi A, Altun M, Azli N, et al. Nasopharyngeal cancer: epidemiology, staging, and treatment[J]. *Seminars in Oncology*, 1994, 21(3): 382-397.
- [3] Stucki M, Jackson S P. MDC1/NFBD1: a key regulator of the DNA damage response in higher eukaryotes[J]. *DNA Repair (Amst)*, 2004, 3(8-9): 953-957.
- [4] Nagase T, Seki N, Ishikawa K A, et al. Prediction of the coding sequences of unidentified human genes V: the coding sequences of 40 new gene(KIAA0161-KIAA0200) deduced by analysis of cDNA clones from human cell lines KG1[J]. *DNA Res*, 1996, 3(10): 17-24.
- [5] Ozaki T, Nagase T, Ichimiya S, et al. NFBD1/KIAA0170 is a novel

基础研究

DOI: 10.3969/j.issn.0253-3626.2013.02.005

生物钟 Per1 基因在人类部鳞状细胞癌中的表达及临床意义

赵春蓉, 杨 凯, 赵宁波, 唐 洪

(重庆医科大学附属第一医院口腔颌面外科, 重庆 400016)

【摘要】目的:探讨生物钟基因 Per1 在口腔颊鳞癌组织中的表达及意义。**方法:**应用免疫组化 SP 法和 Western blot 法检测 38 例口腔颊鳞癌及其癌旁正常颊黏膜组织中 Per1 的表达情况,并结合临床病理指标进行探讨。**结果:**Per1 在颊鳞癌中的表达显著低于在癌旁正常颊黏膜组织中的表达($P=0.025$)。Per1 在 I、II 期颊鳞癌中的表达显著高于在 III、IV 期的表达($P=0.007$),在 T₁、T₂ 期颊鳞癌组织中的表达显著高于在 T₃、T₄ 期中的表达($P=0.030$),在无淋巴结转移者的表达显著高于在有淋巴结转移者中的表达($P=0.008$),Per1 的表达与患者性别、年龄及病理分级无明显相关性(P 均大于 0.05)。**结论:**Per1 的表达在口腔鳞癌的发生发展,浸润、转移中可能占重要作用,为口腔颊鳞癌的诊断、预后评估和治疗提供了新的思路。

【关键词】口腔;鳞状细胞;癌;Per1;免疫组织化学;蛋白质印迹

【中国图书分类法分类号】R739.8

【文献标志码】A

【收稿日期】2012-07-10

Expressions and clinical significances of circadian clock gene Per1 in patients with oral squamous cell carcinoma

ZHAO Chunrong, YANG Kai, ZHAO Ningbo, TANG Hong

(Department of Oral and Maxillofacial Surgery, the First Affiliated Hospital, Chongqing Medical University)

【Abstract】Objective: To investigate the expressions and significances of circadian clock gene Per1 in patients with oral squamous cell carcinoma (OSCC). **Methods:** Expressions of Per1 in 38 cases of buccal squamous cell carcinoma and the adjacent non-tumor tissues were examined by immunohistochemical SP method and Western blot method and the significances of Per1 were studied combined with

作者介绍:赵春蓉, Email: zhao-rong-chun@163.com,

研究方向:口腔颌面-头颈肿瘤临床及相关基础研究。

通信作者:杨 凯, Email: cqfyk@yahoo.com.cn。

nuclear transcriptional transactivator with BRCT domain[J]. DNA Cell Biol, 2000, 19(8): 475-485.

[6] Yuan C, Bu Y, Wang C, et al. NFB1/MDC1 is a protein of oncogenic potential in human cervical cancer[J]. Mol Cell Biochem, 2012, 359(1-2): 333-346.

[7] 刘丹丹, 胡国华, 刘学良, 等. 抑制 NFB1 的表达对鼻咽癌化疗敏感性的影响[J]. 重庆医科大学学报, 2012, 37(5): 393-396.

Liu D D, Hu G H, Liu X L, et al. Effect of siRNA mediated NFB1 depletion on chemosensitivity in nasopharyngeal carcinoma cells[J]. Journal of Chongqing Medical University, 2012, 37(5): 393-396.

[8] 张 新, 吕晓丹, 漆 明, 等. Egr-1 与 TNF- α 在口腔扁平苔藓病损中的表达的研究[J]. 重庆医科大学学报, 2012, 37(1): 63-66.

Zhang X, Lv X D, Qi M, et al. The study on the expression of Egr-1 TNF- α in oral lichen planus[J]. Journal of Chongqing Medical University, 2012, 37(1): 63-66.

[9] Lou Z, Minter-Dykhous K, Franco S, et al. MDC1 maintains genomic stability by participating in the amplification of the amplification of ATM-dependent DNA damage signals[J]. Mol Cell, 2006, 21(2): 187-200.

[10] Kastan M B, Bartek J. Cell-cycle checkpoint and cancer[J]. Nature, 2004, 432(7015): 316-323.

[11] Bartkova J, Horejsi Z, Koed K, et al. DNA damage response as a candidate anti-cancer barrier in early human tumorigenesis[J]. Nature, 2005, 434(7035): 864-870.

[12] Goldberg M, Stucki M, Falck J, et al. MDC1 is required for the intra-S-phase DNA damage checkpoint[J]. Nature, 2003, 421(6926): 952-956.

[13] Xu X Z, Stern D F. NFB1/MDC1 regulates ionizing radiation-induced focus formation by DNA checkpoint signaling and repair factors[J]. FASEB J, 2003, 17(13): 1842-1848.

[14] Nakanishi M, Ozaki T, Yamamoto H, et al. NFB1/MDC1 associates with p53 and regulates its function at the crossroad between cell survival and death in response to DNA damage[J]. J Biol Chem, 2007, 282(31): 22993-23004.

[15] Yang Z, Bu Y, Wang C, et al. Growth inhibition, morphology change, and cell alterations in NFB1-depleted human esophageal cancer cells[J]. Mol Cell Biochem, 2010, 342(1-2): 1-6.

(责任编辑: 关蕴良)