题的专项知识健康教育,指导公众合理用药,提倡负责任、有科学根据的自我药疗。同时,执业药师制度应在保证居民自我药疗方面逐渐完善。我国的执业药师资格制度从 1994 年开始实施,至今已有 20 年的历史,但与国外 600 多年的历史相比尚属于新生事物,存成很多不完善。在美国等发达国家,药师承担着为公众提供优良药学服务和健康服务的社会功能[11]。随着我国居民自我药疗行为逐渐普遍,居民用药指导的需求越来越多,因此,我国的执业药师制度应在居民自我药疗方面发挥更加重要的作用。

参考文献

[1] 卫生部统计信息中心. 2008 中国卫生服务调查研究:第四次家庭健康询问调查分析报告[M]. 北京:中国协和医科大学出版社,2009:34 - 36.

[2] 刘立藏,刘国恩,徐菲,等. 北京、西安、成都、昆明四地区居民自我药疗行为影响因素分析[J]. 第二军医大学学报,2009,30(11):1274 - 1280.

[3] World Health Organization(1998)Report of 4th WHO Consultative Group on the role of pharmacist: the role of the pharmacist in self-care and self-medication[R]. Geneva: WHO, 1998.

[4] 胡银环,陈昊,张锐. 武汉市城区居民自我药物治疗现状调查[J]. 中国公共卫生,2008,24(11):1340 - 1341.

[5] 龙靓,杨瑞,秦群,等. 长沙城市居民自我药疗"知信行"模式的调查分析[J]. 中国医院药学杂志,2012,32(23):1920 - 1923.

[6] 胡银环,方鹏骞,陶红兵,等. 中国城镇居民自我药疗行为健康风险水平评估[J]. 中国公共卫生,2009,25(11):1328 - 1330.

[7] 朱琛娴,龚纯贵,李捷玮. 医疗保险政策对用药行为的影响研究综述[J]. 中国卫生事业管理,2013,5:341 - 343.

[8] 李秀娟,董丽;刘皓,等. 过度医疗行为的理论、实证与管理式医疗制度[J]. 中国药物经济学杂志. 2010,4:30 - 39.

[9] 胡银环,陈昊. 城镇居民自我药疗行为健康风险环节探讨[J]. 中国药房,2008,19(34):2719 - 2720.

[10] 樊晓光. 青岛大学师范生自我用药的知识和行为调查[J]. 中国公共卫生,2004,20(3):288.

[11] 肖伟丽,杨军华. 发挥执业药师在我国居民负责任的自我药疗中的作用[J]. 医学与社会,2005,18(7):52 - 54.

收稿日期: 2015-03-05　　(张翠编辑　周欣琳校对)

中国公共卫生 CPH

· 综　　述 ·

γH2AX 检测在 DNA 双链断裂研究中应用*

刘敏,赵苒

摘　要:DNA 双链断裂(DSBs)是真核细胞 DNA 损伤最严重的形式,DNA 损伤反应的激活可以导致基因组的不稳定,从而引发肿瘤;H2AX 磷酸化产生的 γH2AX 作为一种生物标志物可以清楚地反映 DNA 损伤程度和修复情况,被国内外广泛应用于细胞凋亡研究中,是细胞损伤应激反应的研究热点之一;本文对 γH2AX 用作 DSBs 检测的研究进展做一综述,对其在化合物的遗传毒性评估与临床肿瘤的早期筛查及治疗效果评价进行展望。

关键词:γH2AX ;DNA 损伤修复;遗传毒性生物标志物

中图分类号:R　**文献标志码**:A　**文章编号**:1001-0580(2015)06-0742-05　DOI:10.11847/zgggws2015-31-06-14

Application of γH2AX assay in measurement of DNA double stand breaks

LIU Min, ZHAO Ran(*School of Public Health*, *Xiamen University*, *Xiamen*, *Fujian Province* 361102, China)

Abstract: DNA double strand breaks(DSBs) are the gravest form of DNA damage in eukaryotic cells and it is a serious lesion that can cause genomic instability, ultimately leading to tumorigenesis. Phosphorylated histone H2AX (γH2AX) is a biomarker of cellular response to DSBs and could clearly reflect the status of DNA damage and repair and the biomarker is widely applied in the researches of cell apoptosis both in domestic and abroad. The review focuses on the research progress in the application of γH2AX-based methods to detect DNA DSBs, as well as application in early cancer screenings, assessment on the genotoxicity of environmental compounds, and evaluation of therapeutic effect of medical procedures or treatments.

Key words: γH2AX ;DNA double-stand breaks and repair ;genotoxicity biomarker

电离辐射、遗传毒性化学物质、化疗药物等均可导致 DNA 双链断裂(DNA double - strand breaks, DSBs),它是 DNA 损伤中最严重的形式,若未能修复可致细胞死亡[1]。DSBs 无效修复或错误修复可导致基因组不稳定,表现为染色体重排或染色体缺失,最终致肿瘤及其他年龄相关性疾病的发生[2]。

* **基金项目**: 福建省自然基金项目(2013J01354);厦门市科技计划项目(3502Z30123003)
作者单位: 厦门大学公共卫生学院,福建 厦门 361102
作者简介: 刘敏(1989 -),女,新疆昌吉人,硕士在读,研究方向:环境污染物的人群健康效应及其健康促进。
通讯作者: 赵苒,E-mail:zhaoran@ xmu. edu. cn
数字出版日期:2015 - 0 - 0 0:00
数字出版网址:http://www. cnki. net/kcms/detail/21. 1234. R. 2015. . 0. html

Phosphorylated histone H2AX(γH2AX)识别抗体免疫荧光法是近年来发展起的一种检测 DSBs 的方法,它是以流式细胞仪或激光共聚焦扫描电子显微镜为硬件设备,在免疫荧光标记技术的基础上根据 DSBs 诱导产生 γH2AX,且在 γH2AX 和 DSBs 的量存在一一对应关系这一事实基础上建立和发展起来的,在真核细胞的整个周期中均可检测到[3]。与其他 DNA 损伤的方法相比,γH2AX 法具有操作简单、精确、高敏感等优点,被广泛用于识别单一的 DSBs 研究中。为了解 γH2AX 法在化合物遗传毒性评估与临床肿瘤的早期筛查及治疗效果评价,本文对近年来 γH2AX 检测在 DSBs 研究中的应用进展做如下综述。

1　H2AX 磷酸化与 DSBs 及其修复

1.1　γH2AX 的形成　真核生物的 DNA 以核小体的形式存在于细胞内。组蛋白家族成员有 1、2A、2B、3、4,其中 H2AX 组蛋白是染色质核小体组蛋白核心的成员之一,有 H2A1-H2A2,H2AZ 和 H2AX。组蛋白做为一种高度保守蛋白在 DNA 加工、修复、基因调控中起重要作用。DSBs 发生后,位于 DSBs 附近的磷脂酸激酶 3 肌醇家族成员迅速聚集于 DNA 断裂发生位点磷酸化形成 γH2AX,它在 DNA 损伤应激反应中起扩大信号级联的重要作用。这种 DNA 损伤应激反应在几分钟内就能出现,因此它被认为是一种早期检测 DSBs 的最有效的生物学标志物[4]。近年来发现,真核细胞自身代谢产生的 DSBs 也可致 H2AX 磷酸化的产生。如在细胞的减数分裂过程中,DNA 的可变 - 多样性 - 连接[variable-diversity-joining, V(D)J]重组(在哺乳动物免疫系统的发育过程中出现)及免疫球蛋白开关类基因重组所发生的 DSBs 均可出现 H2AX 磷酸化形成 γH2AX 焦点[5]。H2AX 的磷酸化可以通过毛细血管扩张共济失调突变蛋白激酶(ataxia telangiectasia mutated protein kinase, ATM)、DNA 依赖性蛋白激酶(DNA-dependent protein kinase, DNA-PK)等多种途径实现[6]。然而有人采用 ATM 抑制剂处理后并未使 H2AX 磷酸化水平下降,用 DNA-PK 抑制剂则可使 H2AX 水平减弱,后续采用敲除细胞 DNA-PK 可使 γH2AX 水平下降,这一系列结果表明 H2AX 磷酸化是 DNA-PK 介导的。这可能与刺激物及细胞类型有关[7]。

1.2　DNA 双链的断裂及修复　DNA 损伤有多种形式,如 DNA 单链断裂、DNA 与 DNA 的交联、DNA 与蛋白质的交联、DSBs 等。其中,DSBs 会影响 DNA 双螺旋结构,被认为是 DNA 损伤最严重的形式,这种损伤若不被及时修复或被错误修复,会导致 DNA 遗传物质发生转变从而引发肿瘤及遗传性损伤。例如,电离辐射致 DSBs 发生后几分钟内就可以产生 γH2AX,30 min 达到高峰,接着一段时间下降。γH2AX 可招募其他信号因子和修复因子聚集于损伤位点,形成电离辐射所致的核焦点[8],其修复方式主要采用同源重组及非同源末端链接[9]。H2AX 磷酸化可以在整个细胞周期都能检测到,在有丝分裂期形成的 γH2AX 作为一种指示剂可以在分裂期一结束立即激活 DNA 损伤修复系统而发挥修复功能。采用电离辐射诱导 H2AX 磷酸化双峰动力学研究发现 G2/M 期阻滞可导致 γH2AX 第二峰出现[4]。邹鹏等[10]对博来霉素刺激下肝癌细胞中的 H2AX 复合物进行了免疫印迹检测发现 DNA 损伤修复蛋白 PARPI 和 Ku70 在 DNA 损伤后与 H2AX 相互作用出现了上调,从 DNA 损伤修复角度揭示了肿瘤细胞抗药性的分子机制,同时也为肿瘤的分子靶向治疗提供了可靠的依据。

2　γH2AX 应用的研究进展

γH2AX 作为一种生物学标志物由于在真核生物进化过程中高度保守,H2AX 磷酸化实验不仅在人类研究中广泛应用,而且在植物研究中也有报道[11]。对于 H2AX 的磷酸化的定量研究,最常见的是采用免疫印迹法、免疫荧光法以及流式细胞术等。

2.1　γH2AX 与人群研究(表 1)　由于 γH2AX 可以在整个细胞周期中都可以检测到,且具有操作简单、精确、高敏感等优点而广泛用于临床试验中。免疫组织化学发光法观测 γH2AX 焦点不仅可以定量 DSBs 情况而且可以明确损伤部位。在近年来已发表的 64 篇关于用 γH2AX 法做人群研究的文章中,50% 用于评估医学治疗效果,29.4% 采用病例对照研究用于阐明具体病理学过程,7.4% 用于环境遗传毒物暴露评价,13.2% 用于肿瘤及衰老的描述性研究[12]。其中,最常见的样本是外周淋巴血液采集和病理组织活检。由于它在发现少量 DNA 损伤时的高敏感性和特异性、操作时间短、需要很小的生物学样本、自动计数结果方面的优势,越来越多的流行病学家把它作为一种遗传毒性生物标志物运用于人群研究中。

表 1　γH2AX 法作为一种生物标志物在人群研究中的应用

患病情况	样本来源	总例数(对照例数)	检测方法	应用
男性前列腺癌[13]	患者腺体组织	35	免疫荧光法	评估疗效
肝癌[14]	肝脏组织	27	免疫荧光法	评估疗效
女性卵巢癌[15]	输卵管及卵巢组织	30	免疫荧光法	评估疗效
溃疡性结肠炎[16]	结肠组织	96(53)	免疫荧光法	阐明病例过程
胃癌[17]	胃组织	113(47)	免疫荧光法	阐明病例过程
小儿室管膜瘤[18]	颅内肿瘤组织	87	免疫荧光法	评估疗效
转移性肾癌、肝癌、肾上腺皮质癌[19]	肾脏、肝脏、肾上腺组织	101	免疫荧光法	评估疗效
细支气管肺泡细胞癌合并肝癌[20]	肝组织	139	免疫荧光法	描述性研究
低分化尿道上皮癌[21]	经尿道前列腺活检	60	免疫荧光法	评估疗效
子宫内膜异位症[22]	子宫内膜组织	73(35)	免疫荧光法	阐明病理过程
良性子宫内膜息肉[23]	子宫内膜息肉组织	147(137)	免疫荧光法	评估疗效
非小细胞肝癌肾上腺转移瘤[24]	肝癌组织	21	免疫荧光法	评估疗效
初次化疗后的乳腺癌[25]	乳腺组织	60	免疫荧光法	评估疗效
不同时期结肠癌[26]	结肠癌组织	55	免疫荧光法	阐明病理过程
放射线治疗后 24h 的颈椎癌[27]	劲椎癌组织	26	免疫荧光法	评估疗效
肝癌转移[28]	肝脏组织	42	免疫荧光法	评估疗效
一期子宫内膜癌[29]	子宫内膜组织	106	免疫荧光法	评估疗效
急性淋巴细胞白血病[30]	外周血淋巴细胞	18	流式	评估疗效
急性淋巴细胞白血病化疗后 1 h[31]	外周血淋巴细胞	20	流式	评估疗效
电离辐射敏感男性[32]	外周血淋巴细胞	10(5)	免疫荧光法	暴露评价
街头流浪男孩吸烟者[33]	口腔上皮鳞状细胞	252(50)	免疫荧光法	暴露评价

2.2　γH2AX 与遗传毒性化合物的评估　自 2004 年 Albino 等[34]将流式细胞仪检测 γH2AX 法作为一种新的遗传毒性试验[34]、2005 年 Gallmeier 等[35]采用免疫荧光法检测 γH2AX 之后，越来越多的遗传毒理学研究者采用 γH2AX 方法来研究复杂化合物的遗传毒性。有研究者采用 γH2AX 法发现卷烟烟雾提取物对支气管上皮细胞有遗传毒性作用，茶多酚对其遗传毒性具有干预作用[36]。刘海峰等[37]应用 γH2AX 法研究 DNA 损伤时发现石英粉尘可引起 DSBs，且存在剂量－效应关系。Smart 等[38]采用了 γH2AX 法检测大量的遗传毒性化合物，结果证明 γH2AX 因具有高敏感性和特异性等优点可以被广泛用于评估遗传毒性损伤中。当然需要注意的是由于不同细胞代谢系统的不同，用于体外遗传毒性试验评估化合物毒性时需考虑细胞自身的代谢活性。一些代谢活性差的细胞，研究者们需要归一化细胞代谢活力系统，可以人为地加入一些代谢活化剂来诱导发现前致癌物的形成。Audebert 等[39]采用三种不同的细胞系研究大量的多环芳烃化合物(如苯并芘)，结果表明苯并芘在 HepG2 细胞中可以发生氧化反应和结合反应，但发现 HepG2 细胞代谢能力有限，与之前报道一致[40]。使用有代谢活力的细胞系被认为是提高实验特异性的关键，当然其与方法本身的敏感性无关。在应用 γH2AX 方法评估吸烟的遗传毒性实验中，肺癌 A549 细胞及人支气管上皮细胞 NHBE 同时暴露于吸烟环境中，2 种细胞系均显示出 γH2AX 的产生有剂量依赖效应[33]，自从吸烟与 γH2AX 间的这种关系被证实后，γH2AX 法被广泛用于评估香烟的不同烟焦油产物研究中。结果表明 γH2AX 强度的增加与吸烟形成的烟焦油产物增多均有关，与香烟类型、吸烟习惯均无关[41]。Toyooka 等[42]研究暴露于烟雾环境中的 A549 细胞，产生的 γH2AX 有时间、剂量依赖效应。

2.3　γH2AX 与细胞凋亡　在外界环境因素刺激下，为了维持内环境稳态，细胞可以在某些基因的调控下自主有效地死亡，即细胞凋亡。目前发现 H2AX 在细胞凋亡中有新的作用，尤其是紫外线 A 活化 JNK 通路使 H2AX 磷酸化来调控凋亡。研究报道敲除细胞中 H2AX 基因可以阻碍凋亡的发生，证明了 H2AX 在调控凋亡中起关键的作用[43]。有文献更进一步表明 H2AX 调控凋亡的发生依赖于 C－末端磷酸化[44]，越来越多的文献报道与 H2AX 相关的肿瘤细胞凋亡[45]。有研究者采用免疫荧光法检测 γH2AX 来阐明内质网应激在顺铂诱导宫颈癌细胞凋亡中的作用，结果表明衣霉素可增加内质网应激水平，促进顺铂诱导 Hela 细胞凋亡[46]。在 γ 干扰素(γ-interferon, IFN-γ)诱导小鼠颗粒细胞 DNA 损伤及凋亡的体外研究中，吴彬[47]发现 IFN－γ 可通过 DNA 氧化损伤信号引起颗粒细胞凋亡。张慧等[48]采用观测组蛋白 H2AX 在高体积分数氧暴露肺泡Ⅱ型细胞中的动态变化来研究 H2AX 与肺损伤的关系，为早产儿高氧肺损伤的有效防控途径的重新设计打开了新的视野。Lu 等[49]采用去除 H2AX 基因来抑制 139 位 C-末端 H2AX 磷酸化，在全基因组转录水平阐明 H2AX 在肺癌 A549 细胞凋亡发生中所起的作用，结果表明，在 3 461 个不同表

中国公共卫生 CPH

达基因中，H2AX 敲除后可上调 1 435 个基因表达，下调 2 026 个基因表达；其中，在研究与肺癌细胞凋亡有关的通路时，雷帕霉素靶蛋白通路（mammalian target of rapamycin，mTOR）和丝裂原活化蛋白激酶通路（mitogen-activated protein kinase，MAPK）是 H2AX 调控凋亡中典型的下游通路，在血清饥饿致凋亡发生中，p38MAPK 信号通路使 H2AX 磷酸化参与其中。

2.4　γH2AX 与肿瘤　H2AX 蛋白与肿瘤的发生、发展及药物敏感性有关，是肿瘤的抑制蛋白，目前关于 γH2AX 在肿瘤检测及治疗中的应用得到广泛的关注。有研究者在癌前损伤及大量癌组织中发现 γH2AX，包括黑色素瘤、结肠癌、骨肉瘤、纤维肉瘤和宫颈癌等，提示在涉及到凋亡和衰老通路时或许它可以运用于肿瘤的早期筛查[50]。γH2AX 法具有耗时间短、高敏感性、低剂量的辐射（1.2 mGy）就可以识别 DNA 损伤等优点，在肿瘤的放疗治疗中也显示了它的优越性。电离辐射致 γH2AX 的产生具有线性关系，因此它被广泛用于估计生物学辐射剂量。在放射诊断与治疗中，Zhou 等[51] 即采用此方法计算在小鼠模型中以断层为主的电离辐射量。由于在荧光显微镜下观察少量的 DNA 损伤和潜在的细胞凋亡焦点形态是不同的，它作为一种药效学标志物在临床研究中迅速得到发展，可以更好的用来分析临床患者样本。在已发表的文章中，多篇临床试验采用 γH2AX 评估癌症患者药物反应，其中在临床一期的应用主要用于评价药物的安全性及其药代动力学，确定最大无作用剂量，明确药物与 DNA 损伤的关系。组蛋白 H2AX 作为 DNA 损伤的有效靶点，可预测肝癌细胞对某些化疗药物敏感性从而提高治疗疗效及避免化疗对正常组织的损伤[52]。范芳等[53] 采用 RNA 干扰抑制 MRE11 基因的表达，进一步揭示肝癌细胞 DNA 损伤修复与化疗耐药的关系，为肝癌患者临床治疗提供实验依据。在胃癌及胃癌前病变的化学防治中，以丝裂霉素为代表的抗癌药物起关键作用。贾金海等[54] 应用 γH2AX 评估丝裂霉素对胃癌细胞 DNA 损伤发现 γH2AX 法潜在的临床应用价值极高，丝裂霉素对体外胃癌细胞增殖抑制作用明显。PARP 酶在 DNA 双链及单链断裂后可被激活来修复 DNA 损伤，在肿瘤治疗中采用 PARP 抑制剂可以杀死携带有 BRCA1、BRCA2 等缺陷基因调控的 DSBs 修复[55]。在另一个药物结合反应研究中，Fandy 等[56] 采集骨髓增生异常综合征及急性髓性白血病患者外周血淋巴细胞，采用 γH2AX 法评价 DNA 甲基化抑制剂单独作用或与组蛋白去乙酰化酶抑制剂联合作用的临床效果。尽管 γH2AX 作为一种生物学标记物用于临床中是一种新的方法，但因其敏感性、高效性、方便性等优点及其在阐明 DNA 损伤修复研究中的重要的作用，γH2AX 法开始被越来越多的临床癌症研究者采用。

3　结　语

γH2AX 分析技术相对以前其他监测 DSBs 的方法具有明显的优势，它可清楚地反映 DNA 损伤程度和修复情况，更适于研究细胞 DNA 损伤应激反应机制。对化合物的遗传毒性进行量效评估以及在临床中开展肿瘤的早期筛查与治疗效果评价将是 γH2AX 分析技术今后主要的应用方向。

参考文献

[1] Zhou P. DNA damage, signaling and repair: protecting genomic integrity and reducing the risk of human disease[J]. Chinese Sci Bull, 2011, 56(30): 3119 – 3121.

[2] Fenech M, Kirsch-Volders M, Natarajan AT, et al. Molecular mechanisms of micronucleus, nucleoplasmic bridge and nuclear bud formation in mammalianand human cells[J]. Mutagenesis, 2011, 26(1): 125 – 132.

[3] Giunta S, Jackson SP. Give me a break, but not in mitosis: the mitotic DNA damage response marks DNA double strand breaks with early signaling events[J]. Cell Cycle, 2011, 10(8): 1215 – 1221.

[4] Tu W, Li B, Huang B, et al. γH2AX foci formation in the absence of DNA damage: mitotic H2AX phosphorylation is mediated by the DNA-PKcs/CHK2 pathway[J]. FEBS Lett, 2013, 587(21): 3437 – 3443.

[5] Daniel JA, Nussenzweig A. The AID-induced DNA damage response in chro-matin[J]. Mol Cell, 2013, 50(3): 309 – 321.

[6] 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.

[7] Yan C, Lu J, Zhang G, et al. Benzo[a]pyrene induces complex H2AX phosphorylation patterns by multiple kinases including ATM, ATR, and DNA-PK[J]. Toxicology In Vitro, 2011, 25(1): 91 – 99.

[8] 李俊英，张士猛，周平坤. H2AX 磷酸化与去磷酸化的分子机制及其对 DNA 损伤修复反应的调节作用[J]. 军事医学，2013，37(3)：227 – 230.

[9] Hunt CR, Ramnarain D, Horikoshi N, et al. Histone modifications and DNA double strand break repair after exposure to ionizing radiations[J]. Radiat Res, 2013, 179(4): 383 – 392.

[10] 邹鹏，杨晓丽，陈先. 博来霉素对肝癌细胞 DNA 损伤以及 H2AX 相互作用蛋白的影响[J]. 复旦学报：自然科学版，2011，50(2)：172 – 177.

[11] Redon CE, Nakamura AJ, Martin OA, et al. Recent developments in the use of γH2AX as a quantitative DNA double strand break biomarker[J]. Aging, 2011, 3(2): 168 – 174.

[12] Valdiglesias V, Giunta S, Fenech M, et al. γH2AX as a marker of DNA double strand breaks and genomic instability in human population studies[J]. Mutat Res, 2013, 753(1): 24 – 40.

[13] Fan C, Quan R, Feng X, et al. ATM activation is accompanied with earlier of prostate tumorigenesis[J]. Biochim Biophys Acta, 2006, 1763(10): 1090 – 1097.

[14] Plentz RR, Park YN, Lechel A, et al. Telomere shortening and inactivation of cell cycle checkpoints characterize human hepatocarcinogenesis[J]. Hepatology, 2007, 45(4): 968 – 976.

[15] Folkins AK, Jarboe EA, Saleemuddin A, et al. A candidate precursor to pelvic serous cancer(p53 signature) and its prevalence in ovaries and fallopian tubes from women with heterozygous BRCA mutations[J]. Gynecol Oncol, 2008, 109(2): 168 – 173.

[16] Risques RA, Lai LA, Brentnall TA, et al. Ulcerative colitis is a

disease of accelerated colon aging: evidence from telomere attrition and DNA damage [J]. Gastroenterology, 2008, 135 (2): 410 – 418.
[17] Sentani K, Oue N, Sakamoto N, et al. Positive immunohistochemical staining of γH2AX is associated with tumor progression in gastric cancers from radiationexposed patients [J]. Oncol Rep, 2008, 20(5): 1131 – 1136.
[18] Tabori U, Wong V, Ma J, et al. Telomere maintenance and dysfunction predict recurrence in paediatric ependymoma [J]. Br J Cancer, 2008, 99(7): 1129 – 1135.
[19] Wasco MJ, Pu RT. Utility of antiphosphorylated H2AX antibody (γH2AX) in diagnosing metastatic renal cell carcinoma [J]. Appl Immunohistochem Mol Morphol, 2008, 16(4): 349 – 356.
[20] Anami Y, Iijima T, Suzuki K, et al. Bronchioloalveolar carcinoma (lepidic growth) component is a more useful prognostic factor than lymph node metastasis [J]. J Thorac Oncol, 2009, 4(8): 951 – 958.
[21] Cheung WJ, Albadine R, Chan T, et al. Phosphorylated H2AX in noninvasive low grade urothelial carcinoma of the bladder: correlation with tumor recurrence [J]. Urol, 2009, 181(3): 1387 – 1392.
[22] Hapangama DK, Turner MA, Drury J, et al. Sustained replication in endometrium of women with endometriosis occurs without evoking a DNA damage response [J]. Hum Reprod, 2009, 24 (3): 687 – 696.
[23] Jarboe EA, Pizer ES, Miron A, et al. Evidence for a latent precursor (p53 signature) that may precede serous endometrial intraepithelial carcinoma [J]. Mod Pathol, 2009, 22(3): 345 – 350.
[24] Raynaud CM, Mercier O, Commo F, et al. Telomere length, telomeric proteins and DNA damage repair proteins are differentially expressed between primary lung tumors and their adrenal metastases [J]. Lung Cancer, 2009, 65(2): 144 – 149.
[25] Asakawa H, Koizumi H, Koike A, et al. Prediction of breast cancer sensitivity to neoadjuvant chemotherapy based on status of DNA damage repair proteins [J]. Breast Cancer Res, 2010, 12 (2): R17.
[26] Oka K, Tanaka T, Enoki T, et al. DNA damage signaling is activated during cancer progression in human colorectal carcinoma [J]. Cancer Biol Ther, 2010, 9(3): 246 – 252.
[27] Olive PL, Banuelos CA, Durand RE, et al. Aquino-Parsons, Endogenous and radiation-induced expression of gamma H2AX in biopsies from patients treated for carcinoma of the uterine cervix [J]. Radiother Oncol, 2010, 94(1): 82 – 89.
[28] Raynaud CM, Hernandez J, Llorca FP, et al. DNA damage repair and telomere length in normal breast, preneoplastic lesions, and invasive cancer [J]. Am J Clin Oncol, 2010, 33(4): 341 – 345.
[29] Brunner AH, Hinterholzer S, Riss P, et al. Expression of g-H2AX in endometrial carcinomas: an immunohistochemical study with p53 [J]. Gynecol Oncol, 2011, 121(1): 206 – 211.
[30] Karp JE, Ricklis RM, Balakrishnan K, et al. A phase 1 clinical-laboratory study of clofarabine followed by cyclophosphamide for adults with refractory acute leukemias [J]. Blood, 2007, 110 (6): 1762 – 1769.
[31] Halicka HD, Ozkaynak MF, Levendoglu-Tugal O, et al. DNA damage response as a biomarker in treatment of leukemias [J]. Cell Cycle, 2009, 8(11): 1720 – 1724.
[32] Markova' E, Hillert L, Malmgren L, et al. Microwaves from GSM mobile telephones affect 53BP1 and gamma-H2AX foci in human lymphocytes from hypersensitive and healthy persons [J]. Environ Health Perspect, 2005, 113(9): 1172 – 1177.
[33] Mondal NK, Ghosh S, Ray MR. Micronucleus formation and DNA damage in buccal epithelial cells of Indian street boys addicted to gasp'Golden glue' [J]. Mutat Res, 2011, 721(2): 178 – 183.
[34] Albino AP, Huang X, Jorgensen E, et al. Induction of H2AX phosphorylation in pulmonary cells by tobacco smoke: a new assay for carcinogens [J]. Cell Cycle, 2004, 3(8): 1062 – 1068.
[35] Gallmeier E, Winter JM, Cunningham SC, et al. Novel genotoxicity assays identify norethindrone to activate p53 and phosphorylate H2AX [J]. Carcinogenesis, 2005, 26(10): 1811 – 1820.
[36] 黄波,龙颖,李东阳. 卷烟烟气抽提物对细胞遗传毒性及茶多酚干预作用[J]. 中国公共卫生, 2013, 29(6): 823 – 825.
[37] 刘海峰,李晖,张庆娟,等. 石英对人胚肺成纤维细胞 DNA 损伤作用[J]. 中国公共卫生, 2011, 27(8): 993 – 995.
[38] Smart DJ, Ahmedi KP, Harvey JS, et al. Genotoxicity screening via the γH2AX by flow assay [J]. Mutat Res, 2011, 715(1 – 2): 25 – 31.
[39] Audebert M, Riu A, Jacques C, et al. Use of the γH2AX assay for assessing the genotoxicity of polycyclic aromatic hydrocarbons in human cell lines [J]. Toxicol Lett, 2010, 199(2): 182 – 192.
[40] Jennen DG, Magkoufopoulou C, Ketelslegers HB, et al. Comparison of HepG2 and HepaRG by whole genome gene expression analysis for the purpose of chemical hazard identification [J]. Toxicol Sci, 2010, 115(1): 66 – 79.
[41] Albino AP, Jorgensen ED, Rainey P, et al. γH2AX: a potential DNA damage response biomarker for assessing toxicological risk of tobacco products [J]. Mutat Res, 2009, 678(1): 43 – 52.
[42] Toyooka T, Ibuki Y. Cigarette sidestream smoke induces phosphorylated histone H2AX [J]. Mutat Res, 2009, 676(1 – 2): 34 – 40.
[43] Zhang YJ, Lu CR, Cao Y, et al. Imatinib induces H2AX phosphorylation and apoptosis in chronic myelogenous leukemia cells in vitro via caspase-3/Mst1 pathway [J]. Acta Pharmacol Sin, 2012, 33(4): 551 – 557.
[44] Cook PJ, Ju BG, Telese F, et al. Tyrosine dephosphorylation of H2AX modulates apoptosis and survival decisions [J]. Nature, 2009, 458(7238): 591 – 596.
[45] Bonner WM, Redon CE, Dickey JS, et al. Gamma H2AX and cancer [J]. Nat Rev Cancer, 2008, 8(12): 957 – 967.
[46] 徐冶,李质馨,曹慧玲,等. 衣霉素对顺铂诱导人宫颈癌细胞凋亡的影响[J]. 解放军医学杂志, 2013, 38(4): 283 – 287.
[47] 吴彬. IFN – γ 诱导小鼠颗粒细胞 DNA 损伤及凋亡的体外研究[J]. 社区医学杂志, 2013, 11(20): 16 – 19.
[48] 张慧,富建华,薛辛东. 组蛋白 H2AX 在高体积分数氧暴露肺泡Ⅱ型上皮细胞中的动态表达及其意义[J]. 实用儿科临床杂志, 2012, 27(16): 1274 – 1277.
[49] Lu C, Xiong M, Luo Y, et al. Genome-wide transcriptional analysis of apoptosis related genes and pathways regulated by H2AX in lung cancer A549 cells [J]. Apoptosis, 2013, 18(9), 1039 – 1047.
[50] Gire V, Roux P, Wynford-Thomas D, et al. DNA damage checkpoint kinase Chk2 triggers replicative senescence [J]. EMBO J, 2004, 23(13): 2554 – 2563.
[51] Zhou H, Rodriguez M, van den Haak F, et al. Development of a microcomputed tomography-based image-guided conformal radiotherapy system for small animals [J]. International Journal of Radiation Oncology Biology Physics, 2010, 78(1): 297 – 305.
[52] 于琳,孙青. 磷酸化组蛋白预测肝癌细胞对某些化疗药物的敏感性[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2008, 15(1): 60 – 65.
[53] 范芳,耿磊,李大玉,等. shRNA 沉默 MRE11 表达对肝癌耐药细胞 BEL7402/5 – FU DNA 损伤修复的影响[J]. 世界华人消化杂志, 2013, 21(29): 3053 – 3058.
[54] 贾金海,李勇,张晓琳,等. 应用 γH2AX 法评估丝裂霉素致胃癌细胞 DNA 损伤[J]. 中国现代医学杂志, 2013, 23(24): 16 – 20.
[55] Kyle S, Thomas HD, Mitchell J, et al. Exploiting the Achilles heel of cancer: the therapeutic potential of poly (ADP – ribose) polymerase inhibitors in BRCA2-defective cancer [J]. The British Journal of Radiology, 2008, 81(1): S6 – 11.
[56] Fandy TE. Development of DNA methyltransferase inhibitors for the treatment of neoplastic diseases [J]. Current Medicinal Chemistry, 2009, 16(17): 2075 – 2085.

收稿日期: 2015 – 01 – 08 (郭薇编辑 周欣琳校对)