

电离辐射联合顺铂对人肺癌细胞中 BTG3 基因表达的影响

王利利¹ 涂 彧² 贺汝燕¹ 秦颂兵¹ 徐晓婷¹ 周菊英¹

¹ (苏州大学附属第一医院放疗科 苏州 215006)

² (苏州大学医学部放射医学与防护学院 江苏省放射医学与防护重点实验室 苏州 215123)

摘要 加速器产生的 6-MV X-射线一次性照射体外培养的人肺腺癌细胞株 A549 和 SPCA-1, 细胞的吸收剂量分别设置为 0、1、3、5 和 8 Gy, 细胞照射后 24 h 及单次接受 5 Gy 照射后 6、12 和 24 h 后取样; X-射线联合顺铂对 BTG3 表达的影响研究设立单纯照射组(5 Gy)、顺铂处理组(20 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 顺铂)和联合处理组(5 Gy + 20 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 顺铂), 上述实验均以未给予任何处理的细胞为对照组; 采用 Western blot 及 RT-PCR 法检测受到不同剂量电离辐射及照射后不同时间肿瘤细胞中 BTG3 表达水平。Western blot 与 PCR 检测结果均显示, A549 和 SPCA-1 细胞在受到不同剂量的 X-射线照射后 24 h, 其 BTG3 蛋白及 mRNA 表达量均明显增加, 并随电离辐射剂量的增加而增加, 与对照组比较有统计学差异($t=5.25-15.75$, $p<0.05$); 照射后不同时间检测结果显示, 细胞在 X-射线照射 4 h 后 BTG3 蛋白及 mRNA 的表达量即开始上升, 并持续到照射后 24 h, 与照射前相比有统计学差异($t=7.52-11.18$, $p<0.05$); 联合处理组 BTG3 的表达量均明显高于单纯照射组、顺铂处理组 and 对照组($t=7.02-15.86$, $p<0.05$)。电离辐射联合顺铂可以上调肺癌细胞株中 BTG3 的表达, BTG3 基因有可能作为肺癌放化疗的靶基因。

关键词 BTG3, 肺癌细胞系, 电离辐射, 顺铂

中图分类号 R811.5

肺癌是世界上发病率最高的恶性肿瘤之一, 死亡率居于所有恶性肿瘤之首位^[1]。随着其分子生物学机制研究的深入和生物靶向治疗的临床应用, 与肺癌相关的基因在制定其临床研究和治疗方案中显得越来越重要^[2]。BTG3 位于人染色体 21q11.2-q21.1, 编码含 252 个氨基酸的蛋白质分子^[3]。BTG3 负向调节细胞周期, 参与了细胞分化、组织器官的形成, 在多种肿瘤中呈低表达或沉默状态。在肺癌的大部分临床病例中亦可见到 BTG3 表达降低, 缺乏 BTG3 的小鼠呈现肺肿瘤的高发生率^[4]。另外, BTG3 在肾细胞癌、人原代口腔鳞癌细胞 OSCCs 中表观遗传学上呈被沉默状态; 与正常的前列腺上皮细胞 RWPE-1 相比, BTG3 在前列腺癌细胞系 LNCaP 和 PC3 中的表达明显下调^[5-6]。此外, 在正常细胞中 BTG3 的缺失能诱导细胞的衰老, 这些研究提示 BTG3 与人类肿瘤的发生发展有着重要的关联^[7]。因此, BTG3 基因相关功能的研究, 对肿瘤

的发生、发展、预防和治疗等方面具有重要意义。

本研究初步探讨电离辐射联合顺铂对人肺腺癌细胞株 A549 和 SPCA-1 中 BTG3 的影响, 以期为临床寻找肺癌新的放化疗靶基因提供实验参考依据。

1 材料与方法

1.1 药物和试剂

RPMI 1640 培养基干粉、小牛血清、胎牛血清、0.25%胰酶购自美国 Gibco 公司, 蛋白酶抑制剂购自瑞士罗氏公司, 所需抗体均购自美国 Santa Cruze 公司, BTG3 PCR 引物采用 Primer 5 软件设计, 交由美国 Invitrogen 公司合成, PCR 反应试剂盒购自美国 Promega 公司。实验用细胞株人肺癌 A549 和 SPCA-1 细胞株购自中国科学院上海细胞所, 由苏州大学肿瘤放射生物学实验室培养和保藏。

基金资助: 江苏省放射医学与防护重点实验室开放课题(KJS1239)资助

第一作者: 王利利, 女, 1975 年 11 月出生, 2011 年 11 月于苏州大学获博士学位, 现为苏州大学附属第一医院放疗科医师, E-mail: lyyz_wll@163.com

通讯作者: 周菊英, 医学博士, 主任医师, 博士生导师, E-mail: zhjuying@sohu.com

收稿日期: 收稿 2013-11-27; 修回 2014-02-07

1.2 细胞培养

实验将人肺癌细胞株 A549 和 SPCA-1 培养在含 10%胎牛血清的 RPMI 1640 培养基中,在 37 ℃、体积分数为 5%的 CO₂ 且饱和湿度的培养箱内培养,取指数生长期细胞进行实验研究。

1.3 细胞照射

使用德国西门子 PRIMUS 医用电子直线加速器产生的高能 6-MV X-射线垂直照射,照射细胞表面覆以 1.5 cm 组织等效填充物,以消除建成效应确保细胞的吸收剂量准确,照射野大小为 20 cm×20 cm,吸收剂量率为 200 cGy·min⁻¹,源皮距 100 cm,机架角 180°。

1.4 实验分组

不同剂量 X-射线照射后 24 h 对 BTG3 表达的影响,按照吸收剂量分为 1、3、5 和 8 Gy 剂量组,以未照射细胞(0 Gy)为对照组;细胞接受 5 Gy X-射线照射后,不同时间 BTG3 表达的研究分为照射后 6、12 和 24 h 3 组,同样以不照射细胞(0 h)为对照组;X-射线联合顺铂对 BTG3 表达影响分为空白对照组、顺铂处理组(20 μmol·L⁻¹)、单纯照射组(单次 5 Gy)和联合组(5 Gy +20 μmol·L⁻¹ 顺铂)。其中联合组用 20 μmol·L⁻¹ 顺铂处理细胞 2 h 后接受 5 Gy X-射线照射,24 h 后收样检测。

1.5 Western blot 法

收集指数生长期细胞,用含蛋白酶抑制剂的免疫沉淀裂解液 4 ℃裂解细胞收集蛋白,采用二辛可宁酸(Bicinchoninic acid, BCA)法对收集的蛋白进行定量检测。各样品取总蛋白 25 μg,5×蛋白上样缓冲液稀释各样本,100 ℃变性后上样,然后采用十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶(SDS-PAGE)电泳,将分离胶上蛋白转移至聚偏二氟乙烯(PVDF)膜上,4 ℃封闭过夜,加入山羊抗人 BTG3 抗体(I 抗)室温孵育 1 h,洗膜后加入经辣根过氧化物酶标记的兔抗羊 IgG(II 抗)室温孵育 1 h,洗膜三次,采用 ECL 法显色。以 β-肌动蛋白为内参,检测各种肿瘤细胞株内 BTG3 蛋白表达水平。并通过 Quantity one 图像分析软件对各条带灰度进行检测,以各自 β-肌动蛋白条带的灰度为标准,计算各组的 BTG3 条带灰度值与之的比值为其相对表达量。

1.6 RT-PCR 法

收集细胞,Trizol 提取细胞总 RNA,紫外分光光度计测定 RNA 纯度。各样品取 5 μg 总 RNA 采用反转录试剂盒合成第一链 cDNA。BTG3 上游引物为 5' AATTGCTGCCGTTGTCTTCTTT 3',下游引物为:5' GATCTCATCCTTGTCTCATCTTTA 3',扩增产物为 370 bp。GADPH 上游引物为:5' CAACTACATGGTGTACATGTTCC 3',下游引物为:5' CAACCTGGTCCTCAGTGTAG 3',扩增产物为 700 bp。PCR 反应条件为:94 ℃,5 min;31 个 PCR 循环(94 ℃,50 s;50 ℃,40 s;72 ℃,40 s),72 ℃,8 min;4 ℃,5 h。1%琼脂糖凝胶电泳,经 0.5 μg·mL⁻¹ 溴乙锭染色后凝胶置于 Gel DocTM XR 凝胶成像系统中成像、拍照、分析。各组均以 GADPH 的灰度值为标准,目的条带与之相比为其相对表达量。

1.7 统计学方法

所有实验均重复 3 次,实验数据以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,采用 SAS8.0 软件分析,组间结果比较采用独立样本 *t* 检验和单因素方差分析。*p* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 不同剂量 X-射线对肺癌细胞内 BTG3 表达水平的影响

结果发现,A549 和 SPCA-1 细胞在接受不同剂量的 X-射线照射后 24 h,细胞中 BTG3 的蛋白与 mRNA 表达水平在各个剂量组均较 0 Gy 组升高,且随电离辐射剂量的增加而显著增高,BTG3 的 mRNA 表达在不同剂量照射后表现出与蛋白表达相一致的变化($t=5.25-15.75$, $p<0.05$)。见图 1 和表 1。

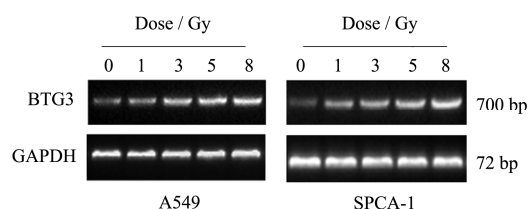


图 1 不同剂量 X-射线照射后细胞株中 BTG3 的 mRNA 表达水平变化

Fig.1 Expression of BTG3 mRNA in A549 and SPCA-1 cell lines irradiated by X-rays with dedicated dose

表 1 细胞接受不同剂量 X-射线照射后 BTG3 的 mRNA 和蛋白表达水平变化
Table 1 Expression level of BTG3 mRNA and protein in A549 and SPCA-1 cell lines irradiated by X-rays with dedicated dose ($\bar{x} \pm s$)

吸收剂量 / Gy Absorbed dose	A549		SPCA-1	
	mRNA	蛋白质 Protein	mRNA	蛋白质 Protein
0	1.00±0.00	1.00±0.00	1.00±0.00	1.00±0.00
1	1.24±0.43	1.03±0.28	1.20±0.45	1.06±0.36
3	1.52±0.41 ^a	1.90±0.43 ^a	1.92±0.29	3.04±0.82 ^a
5	2.59±0.45 ^a	2.88±0.52 ^a	3.55±0.54 ^a	4.34±0.57 ^a
8	2.65±0.51 ^a	3.09±0.59 ^a	4.26±0.59 ^a	5.07±0.52 ^a

注：^a 各组指标与 0 Gy 组比较， $t=5.25-15.75$ ， $p<0.05$ 。

Note: ^acompared with control group, $t=5.25-15.75$, $p<0.05$.

2.2 5 Gy X-射线照射后不同时间肿瘤细胞内 BTG3 表达变化情况

采用 Western blot 及 RT-PCR 法检测 A549 和 SPCA-1 细胞在接受 5 Gy 6-MV X-射线单次照射后不同时间 BTG3 蛋白及 mRNA 表达水平，结果显示，在照射后 6 h，细胞中 BTG3 蛋白表达水平即开始有所升高，与 0 h 组相比有显著差异，mRNA 表达水平在照射后 12 h 开始显著升高，且均随着照射时间的延长逐渐升高，照射后 24 h 仍保持较高的表达水平($t=5.31-12.14$ ， $p<0.05$)。见图 2 和表 2。

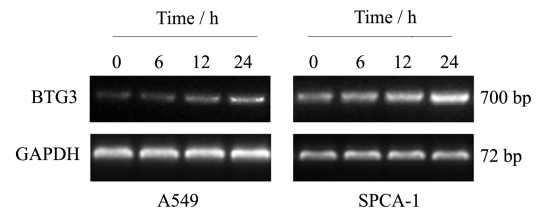


图 2 5 Gy 6-MV X-射线照射后不同时间细胞株中 BTG3 的 mRNA 表达水平变化

Fig.2 Expression of BTG3 mRNA in A549 and SPCA-1 cell lines at specified time after 5 Gy 6 MV X-rays irradiation exposure

表 2 5 Gy X-射线照射后不同时间细胞株中 BTG3 的 mRNA 和蛋白表达水平变化
Table 2 The expression level of BTG3 mRNA and protein in A549 and SPCA-1 cell lines at specified time after 5 Gy 6-MV X-ray irradiation ($\bar{x} \pm s$)

时间 / h Time	A549		SPCA-1	
	mRNA	蛋白质 Protein	mRNA	蛋白质 Protein
0	1.00±0.00	1.00±0.00	1.00±0.00	1.00±0.00
6	1.10±0.38	1.50±0.34 ^a	1.12±0.34	1.75±0.64 ^a
12	2.10±0.48 ^a	2.58±0.47 ^a	2.06±0.34 ^a	2.06±0.53 ^a
24	2.96±0.58 ^a	3.49±0.58 ^a	3.28±0.64 ^a	2.96±0.75 ^a

注：^a 各组指标与 0Gy 组比较， $t=7.52-11.18$ ， $p<0.05$ 。

Note: ^acompared with control group, $t=7.52-11.18$, $p<0.05$.

2.3 5 Gy X-射线联合顺铂对肺癌细胞内 BTG3 表达的影响

采用 Western blot 及 PCR 法检测 5 Gy 6-MV X-射线单次照射、顺铂($20 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)、和照射与顺铂联合($5 \text{ Gy} + 20 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 顺铂)对 A549 和 SPCA-1 细胞中 BTG3 蛋白及 mRNA 表达的影响，结果显示，各处理组 BTG3 蛋白及 mRNA 的表达水平均明显高于对照组($t=8.52-13.57$ ， $p<0.05$)；而照射与顺铂联合组的蛋白及 mRNA 的表达水平则明显高于单纯照射组($t=7.02-15.86$ ， $p<0.05$)。见图 3 和表 3。

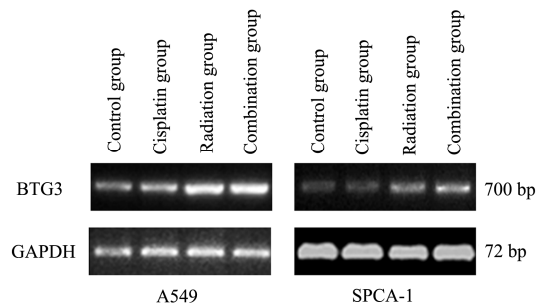


图 3 X-射线联合顺铂处理后细胞株中 BTG3 的 mRNA 表达水平变化

Fig.3 Expression of BTG3 mRNA in A549 and SPCA-1 cell lines treated by cisplatin combined with X-rays

表3 X-射线联合顺铂处理后细胞株中 BTG3 的 mRNA 和蛋白表达水平变化
Table 3 Expression level of BTG3 mRNA and protein in A549 and SPCA-1 cell lines treated by cisplatin combined with X-rays

($\bar{x} \pm s$)

分组 Group	时间 / h Time	A549		SPCA-1	
		mRNA	蛋白质 Protein	mRNA	蛋白质 Protein
对照 Control	24	1.00±0.00	1.00±0.00	1.00±0.00	1.00±0.00
Cisplatin 20 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$	24	2.13±0.27 ^a	2.67±0.46 ^a	2.15±0.44 ^a	2.49±0.48 ^a
X-ray 5 Gy	24	2.50±0.38 ^a	2.96±0.49 ^a	3.35±0.60 ^a	3.28±0.69 ^a
X-ray 5 Gy +Cisplatin 20 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$	24	3.82±0.94 ^{ab}	5.28±0.86 ^{ab}	5.19±0.57 ^{ab}	4.59±0.73 ^{ab}

注: ^a 各组指标与 0 Gy 组比较, $t=8.52-13.57$, $p<0.05$; ^b 各组指标与单纯照射组比较, $t=7.02-15.86$, $p<0.05$ 。

Note: ^acompared with control group, $t=8.52-13.57$, $p<0.05$; ^bcompared with radiation group, $t=7.02-15.86$, $p<0.05$ 。

3 讨论

大部分肺癌患者在确诊时已经属于中晚期, 目前, 序贯放化疗已经成为局部晚期非小细胞肺癌的首选治疗方案, 而以铂类药物为基础的化疗联合放疗是局限期小细胞肺癌的标准治疗方案^[8-9]。针对靶基因的分子靶向治疗及其与放化疗联合应用已经成为肺癌治疗的新手段^[2]。然而, 考虑到肿瘤的异质性和个体差异, 以及癌细胞生长繁殖的复杂性, 只有在肺癌治疗中寻找多个候选靶基因, 进而锁定可能获益的患者人群, 才能真正实现肺癌的个性化治疗。本研究初步探讨电离辐射联合顺铂对人肺腺癌细胞株 A549 和 SPCA-1 中 BTG3 的影响, 以期为肺癌的治疗提供更多的靶基因, 为真正的个性化治疗奠定实验基础。

BTG3 基因最早由 Gue'henneux 等^[10]于 1997 年从小鼠胚胎 cDNA 文库中克隆出, 并发现其人同源性基因以 Tob5 的名称刊出。进来又不少学者认为 BTG3 在一些恶性肿瘤中起着候选的肿瘤抑制基因的作用^[11-13]。而抑癌基因的研究对阐明细胞分裂分化过程的调控、癌变机制以及肿瘤防治具有十分重要的意义。因此对 BTG3 的进一步深入研究将为肿瘤发生发展机制的了解, 以及为肿瘤的预防、治疗、细胞诱导分化、凋亡、衰老等方面提供一个新的研究方向。

作为抗增殖蛋白家族中的一员, BTG3 同样具有抗增殖作用, 其 RNA 水平在细胞周期的 G1 末期达到高峰, 可阻止细胞周期从 G0/G1 期向 S 期进展^[10,14-15]。因此 BTG3 在细胞周期中起着负向调节的作用。同时 BTG3 作为 p53 的直接靶基因, 参与机体细胞的分化、组织器官的形成^[6,13-14,16]。另外,

在有关 miRNA 的研究中发现, 电离辐射可以明显改变细胞中 hsa-miR-16-2, hsa-miR-106a, hsa-miR-183, hsa-miR-376a 的表达, 而 BTG3 可能为这四种 miRNA 的共同的靶基因, 这些研究就间接提示 BTG3 不仅具有抗增殖作用, 而且可能为一辐射损伤效应基因^[17]。而有关电离辐射和化疗单独或联合应用是否影响肺腺癌细胞中 BTG3 基因表达, 国内外相关研究尚未见报道。

本研究采用 Western blot 及 PCR 法检测 6-MV X-射线和顺铂, 单独或(和)联合应用对肺腺癌细胞株 A549 和 SPCA-1 中 BTG3 蛋白和 mRNA 表达的影响, 结果显示, 细胞在接受不同剂量 X-射线照射后 24h BTG3 蛋白和 mRNA 表达均增高, 细胞在接受 5 Gy X-射线照射后 6h, BTG3 蛋白和 mRNA 表达量即开始升高, 并持续到 24h。这些结果提示, 电离辐射可以显著影响肺癌细胞 A549 和 SPCA-1 中 BTG3 的表达, 且表达量的变化具有一定的剂量和时间依赖性。另外, 我们的结果发现肺癌细胞 A549 和 SPCA-1 中 BTG3 的表达不仅受电离辐射的影响, 而且受化疗药物顺铂的影响。当用顺铂处理细胞后 24 h, 肺癌细胞 A549 和 SPCA-1 中 BTG3 蛋白和 mRNA 的表达均较对照组明显升高, 当顺铂联合电离辐射处理细胞后, BTG3 蛋白和 mRNA 的表达均较单纯照射组和顺铂处理组增高, 对 BTG3 的影响具有协同作用。由于 BTG3 被认为一种抑癌基因, 同时又是抗增殖蛋白家族中的一员, 因此, 这些结果提示, 电离辐射和顺铂很有可能通过诱导肿瘤细胞中 BTG3 的表达抑制肿瘤细胞的生长、增殖和转移, 来发挥其杀灭肿瘤细胞的机制^[9-10]。

综上所述, 电离辐射和(或)顺铂可以上调肺

腺癌细胞株 A549 和 SPCA-1 中 BTG3 的表达。而 BTG3 的表达增高可能是电离辐射和顺铂杀伤肿瘤细胞的一个可能机制，至少 BTG3 有望作为肺癌放化疗的一个靶基因。当然，电离辐射和（或）顺铂是如何诱导肿瘤细胞中 BTG3 的表达，BTG3 的表达升高又是如何在抑制肿瘤细胞的生长、增殖和转移中发挥作用的，这些将是我们下一步深入研究的方向，以期肺癌及其它恶性肿瘤的多靶点治疗提供一个新思路和研究基础，真正实现肺癌的个性化治疗。

参考文献

- 1 Jemal A, Siegel R, Xu J, *et al.* Cancer statistics 2010 [J]. A Cancer Journal for Clinicians, 2010, **60**: 277-300.
- 2 Gaughan E M, Costa D B. Genotype-driven therapies for non-small cell lung cancer: focus on EGFR, KRAS and ALK gene abnormalities [J]. Therapeutic Advances in Medical Oncology, 2011, **3**: 113-125.
- 3 Majid S, Dar A A, Ahmad A E, *et al.* BTG3 tumor suppressor gene promoter demethylation, histone modification and cell cycle arrest by genistein in renal cancer [J]. Carcinogenesis, 2009, **30**: 662-670.
- 4 Yoneda M, Suzuki T, Nakamura T, *et al.* Deficiency of antiproliferative family protein Ana correlates with development of lung adenocarcinoma [J]. Cancer Science, 2009, **100**: 225-232.
- 5 Yamamoto N, Uzawa K, Yakushiji T, *et al.* Analysis of the ANA gene as a candidate for the chromosome 21q oral cancer susceptibility locus [J]. British Journal of Cancer, 2001, **84**: 754-759.
- 6 Majid S, Dar A A, Shahryari V, *et al.* Genistein reverses hypermethylation and induces active histone modifications in tumor suppressor gene B-Cell translocation gene 3 in prostate cancer [J]. Cancer, 2010, **116**: 66-76.
- 7 Lin T Y, Cheng Y C, Yang H C, *et al.* Loss of the candidate tumor suppressor BTG3 triggers acute cellular senescence via the ERK-JMJD3-p16(INK4a) signaling axis [J]. Oncogene, 2012, **31**: 3287-97.
- 8 Azzoli C G, Temin S, Giaccone G. 2011 focused update of 2009 American society of clinical oncology clinical practice guideline update on chemotherapy for stage IV non-small-cell lung cancer [J]. Journal of Oncology Practice, 2012, **8**: 63-66.
- 9 Soeinski M A, Bogart J A. Limited-stage small cell lung cancer: the current status of combined-modality therapy [J]. Journal of Clinical Oncology, 2007, **25**: 4137-4145.
- 10 Guéhenneux F, Duret L, Callanan M B, *et al.* Cloning of the mouse BTG3 gene and definition of a new gene family (the BTG family) involved in the negative control of the cell cycle [J]. Leukemia, 1997, **11**: 370-375.
- 11 Yu J, Zhang Y, Qi Z, *et al.* Methylation-mediated downregulation of the B-cell translocation gene 3 (BTG3) in breast cancer cells [J]. Gene Expression, 2007, **14**: 173-182.
- 12 Dimitrios T, Vassiliki A B. Tob, a member of the APRO family, regulates immunological quiescence and tumor suppression [J]. Cell Cycle, 2009, **8**: 1019-1025.
- 13 Ou Y H, Chung P H, Hsu F F, *et al.* The candidate tumor suppressor BTG3 is a transcriptional target of p53 that inhibits E2F1 [J]. EMBO Journal, 2007, **26**: 3968-3980.
- 14 Yoshida Y, Matsuda S, Ikematsu N, *et al.* ANA, a novel member of Tob/BTG1 family, is expressed in the ventricular zone of the developing central nervous system [J]. Oncogene, 1998, **16**: 2687-2693.
- 15 Ikematsu N, Yoshida Y, Kawamura-Tsuzuku J, *et al.* Tob2, a novel anti-proliferative Tob/BTG1 family member, associates with a component of the CCR4 transcriptional regulatory complex capable of binding cyclin-dependent kinases [J]. Oncogene, 1999, **18**: 7432-7441.
- 16 Bobe J, Nguyen T, Mahé S, *et al.* In silico identification and molecular characterization of genes predominantly expressed in the fish oocyte [J]. BMC Genomics, 2008, **9**: 499.
- 17 Shin S, Cha H J, Lee E M, *et al.* Alteration of miRNA profiles by ionizing radiation in A549 human non-small cell lung cancer cells [J]. International Journal of Oncology, 2009, **35**: 81-86.

Effects of ionizing radiation and cisplatin on the expression of BTG3 in human lung cancer cell lines

WANG Lili¹ TU Yu² HE Ruyan¹ QIN Songbing¹ XU Xiaoting¹ ZHOU Juying¹

¹ (Department of Radiotherapy, the First Affiliated Hospital of Soochow University, Suzhou 215006, China)

² (Jiangsu Provincial Key Laboratory of Radiation Medicine and Protection, School of Radiation Medicine and Protection, Medical College of Soochow University, Suzhou 215123, China)

ABSTRACT Human lung cancer A549 and SPCA-1 cell lines were irradiated by X-rays at the absorbed doses of 1, 3, 5 and 8 Gy, respectively, generated by a linear accelerator (with the source skin distance of 100 cm and dose rate of 200 cGy·min⁻¹). The cell molecular samples were subtracted at 6 h, 12 h, and 24 h after 5 Gy ionizing irradiation. For the study of X-rays and cisplatin combination treatment, cells were divided into radiation group (5 Gy X-rays), cisplatin group (20 μmol·L⁻¹ cisplatin), and combination group (5 Gy X-rays + 20 μmol·L⁻¹ cisplatin). Untreated cells were classified as control group. The relative levels of BTG3 mRNA and protein expression in cells were detected by semi-quantitative RT-PCR and Western blot analysis with quantitation of the mRNA/protein bands by densitometry. The expression level of BTG3 mRNA and protein significantly increased with the dose climbed after radiation exposure of human lung cancer A549 and SPCA-1 cell lines ($t=5.25-15.75$, $p<0.05$). The expression level in cancer cells significantly increased 4 h after radiation exposure and kept increasing until 24 h later ($t=7.52-11.18$, $p<0.05$). Compared with that of the radiation and/or cisplatin treatment alone, more significant increase of BTG3 expression was identified after the combination treatment of X-rays and cisplatin ($t=7.02-15.86$, $p<0.05$). Ionizing radiation could up-regulate the expression of BTG3 in human lung cancer cells in both mRNA and protein levels. BTG3 gene may be targeted as a molecular for ionizing radiation and cisplatin treatment in lung cancer.

KEYWORDS BTG3, Lung cancer cell line, Ionizing radiation, Cisplatin

CLC R811.5