

Beclin1 调控鼻咽癌细胞放疗抵抗的体外研究

敬前程^{1,2}, 刘 勇², 李 果², 卢善翊², 刘 超², 黄东海², 周 芳¹, 邱元正²

(1. 南华大学附属长沙市中心医院 耳鼻咽喉头颈外科, 湖南 长沙 410004; 2. 中南大学湘雅医院 耳鼻咽喉头颈外科 耳鼻咽喉重大疾病研究湖南省重点实验室, 湖南 长沙 410008)

摘 要: **目的** 探讨 *Beclin1* 基因对鼻咽癌细胞放疗抵抗的影响。**方法** Western blotting 法检测 CNE2、6-10B 及其放疗抵抗细胞 CNE2-Rs、6-10BRs 中 *Beclin1* 蛋白的表达, CNE2 细胞经不同条件放射线照射后 *Beclin1* 蛋白的表达改变; 通过脂质体转染 *Beclin1* cDNA 和慢病毒介导的 *Beclin1* shRNA, 在 6-10B 细胞和 CNE2-Rs 细胞中分别过表达及沉默 *Beclin1* 基因, 平板克隆集落形成实验检测鼻咽癌细胞的放疗抵抗能力的改变; 细胞免疫荧光法检测 DNA 双链损伤相关指标 γ -H2AX 表达的改变。**结果** *Beclin1* 蛋白在放疗抵抗细胞中表达增加, 同时随着放疗时间的延长及放疗剂量的增加, *Beclin1* 蛋白表达迅速升高, 随后趋于基础水平; *Beclin1* 过表达后 6-10B 细胞克隆集落形成能力增强, 生存分数增加, γ -H2AX 焦点数量减少; 相反, *Beclin1* 沉默后, CNE2-Rs 细胞克隆集落形成能力下降, 生存分数下降, γ -H2AX 焦点数量增加。**结论** *Beclin1* 能促进鼻咽癌细胞的放疗抵抗性, 其与放疗后 DNA 双链损伤修复调控可能相关。

关 键 词: 鼻咽癌; 放疗抵抗; *Beclin1*; γ -H2AX; 体外实验
中图分类号: R739. 63

Beclin1 promotes radioresistance in nasopharyngeal carcinoma in vitro

JING Qiancheng^{1,2}, LIU Yong², LI Guo², LU Shanhong², LIU Chao², HUANG Donghai², ZHOU Fang¹, QIU Yuanzheng²
(1. Department of Otolaryngology Head and Neck Surgery, Changsha Central Hospital, University of South China, Changsha 410004, China; 2. Department of Otolaryngology Head and Neck Surgery, Key Laboratory of Otolaryngology Major Disease Research of Hunan Province, Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410008, China)

Abstract: **Objective** To study the function of *Beclin1* on the radioresistance in nasopharyngeal carcinoma. **Methods** Western blotting was used to check the *Beclin1* protein in CNE2, 6-10B and their radioresistant cell lines CNE2-Rs, 6-10BRs, as well as the dynamic changes of *Beclin1* protein in CNE2 cell exposed to irradiation under different conditions. Plate colony formation assay was applied to examine the alterations of radioresistant capacity in CNE2 and 6-10B after the expression of *Beclin1* was upregulated with Lipofectamine-mediated *Beclin1* cDNA and inhibited with lentivirus-mediated *Beclin1* shRNA. Immunofluorescence was adopted to detect the expression of γ H2AX, which was a surrogate marker of DNA doublestrand breaks. **Results** The expression of *Beclin1* protein was increased in radioresistant cell lines and after irradiation, which displayed an irradiation dose-dependent and time-dependent manner. *Beclin1* overexpression in 6-10B cells resulted in enhanced ability to form colony on plate and high survival fraction, increased γ H2AX foci formation. On the contrary, inhibition of *Beclin1* expression in CNE2-Rs cells led to declined ability of plate colony formation and low survival fraction, decreased γ H2AX foci formation. **Conclusion** *Beclin1* promotes radioresistance of nasopharyngeal carcinoma, which may be related to modulating the repair process of DNA doublestrand breaks.

Keywords: Nasopharyngeal carcinoma; Radioresistance; *Beclin1*; γ -H2AX; In vitro experiment

鼻咽癌系东南亚地区及我国南方地区常见的头颈部恶性肿瘤, 放射治疗是其首选治疗方式, 尽管目前放射治疗技术及治疗方案不断规范改进, 但中晚期鼻咽癌患者的 5 年生存率依然不足 50%^[1]。放

基金项目: 国家自然科学基金(81602684, 81773243)。
第一作者简介: 敬前程, 男, 博士, 副主任医师。
通信作者: 邱元正, Email: xyqyz@csu.edu.cn

疗抵抗的存在严重制约鼻咽癌患者的疗效、生存质量及预后^[2]。因此,探寻与放疗抵抗相关的分子标志物和治疗靶点,用以有效预测鼻咽癌患者放疗抵抗性并及时干预,从而提高患者生存质量及治疗效果,具有重要临床意义。*Beclin1*是自噬的一个关键调控基因,其参与了众多生物学过程,包括对应激的适应、发育、内吞作用、细胞分裂、免疫、肿瘤发生、衰老和细胞死亡;多种疾病都与*Beclin1*缺乏或功能障碍有关,这使得它成为多种疾病治疗的潜在有价值的靶点,包括抗癌治疗^[3]。然而,关于*Beclin1*与鼻咽癌放疗抵抗相关的研究鲜有报道。因此,本研究旨在探讨*Beclin1*在鼻咽癌细胞放疗抵抗中的作用及其作为潜在分子干预靶点的价值。

1 材料与方法

1.1 实验材料

RPMI-1640 细胞培养基(Gibco,美国),胎牛血清(Gibco,美国),含 EDTA 的 0.25% 胰酶消化液、青链霉素双抗(Gibco,美国),*Beclin1* cDNA 质粒及对照质粒(Gene Copoeia,美国),*Beclin1* shRNA 慢病毒沉默载体及其对照载体(Gene Copoeia,美国),嘌呤霉素(Santa Cruz,美国),FuGENE 转染试剂盒(Promega,美国),兔抗人*Beclin1* 抗体(CST,美国),山羊抗兔 GAPDH 抗体(CST,美国),鼠抗人 γ H2AX 单克隆抗体(Novus,美国),羊抗鼠 DyLight594 IgG 抗体(联科生物公司,中国),4',6-二脒基 2-苯基吡啶/DAPI(碧云天公司,中国),SDS-PAGE 凝胶配制试剂盒、BCA 蛋白定量试剂盒(碧云天公司,中国),Western blotting 发光液(北京英格恩生物科技有限公司,中国)。

1.2 实验方法

1.2.1 细胞培养 实验所用细胞 CNE2、6-10B 均为鼻咽部低分化鳞癌细胞,由中南大学湘雅医学院细胞中心提供,两种细胞系放疗抵抗细胞株均由课题组前期构建并经实验证实^[2]。细胞培养于 37℃、5% CO₂ 浓度的细胞培养箱中,根据细胞生长情况日常换液及传代,实验所使用细胞均处于对数生长期。

1.2.2 细胞转染及筛选 将处于对数期的 6-10B 细胞消化后种板于 6 孔板,约 60% 密度并贴壁过夜后按说明书方法采用 FuGENE 脂质体携带 *Beclin1* cDNA 对细胞进行转染。只加转染试剂组为空白组(Blank 组),转染对照 cDNA 组为对照组(NC 组),

转染 *Beclin1* cDNA 组为过表达组(*Beclin1* 组),24 h 后换液,荧光显微镜下观察可见绿色荧光,48 h 后即可进行后续实验。CNE2-Rs 细胞种于 24 孔板,转染前细胞融合度约 60% 为宜,根据 MOI 值计算需加入的 *Beclin1* shRNA(*Beclin1* sh 组)及对照组 shRNA(Vector 组)病毒量,转染 24 h 后换液,酌情传代扩增培养,48 h 后即加入 5 μ g/mL 嘌呤霉素筛选 2 周,Western blotting 检测 *Beclin1* 沉默效果,再进行后续实验。

1.2.3 蛋白质印迹法(Western blotting) 提取各组细胞总蛋白后并定量,根据浓度计算出上样 20 mg 所需体积,蛋白质变性后使用 10% 十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶(SDS-PAGE)电泳,以 Marker 为参考标志,切取目的蛋白所在区域凝胶转膜至 PVDF 膜上,5% 脱脂奶粉封闭 1 h,孵育一抗 4℃ 过夜,次日室温复温 30 min 后 TPST 洗涤,室温孵育相应二抗 1 h,TPST 洗涤后行化学发光剂显影、照相保存。

1.2.4 放射线照射 照射的细胞培养板予以封口膜封闭防治污染,使用 Siemens PRIMUS 直线加速器进行照射,放射线照射参数设定为 6MVX、吸收剂量 300 Gy/min、源皮距 100 cm,细胞培养板上覆盖一厚 1.5 cm 的补偿胶。照射后继续进行后续操作。

1.2.5 平板克隆集落形成实验 细胞消化后计数,每 6 孔板种 200 ~ 400 个细胞,每处理组设置 3 复孔。贴壁 12 h 后根据设计照射剂量行满野照射,之后继续培养 12 ~ 14 d,每 3 d 更换新鲜培养基。待肉眼可见集落时弃培养基终止实验,甲醇固定 15 min,结晶紫染色 10 min,晾干后计数集落大小及数量,取 3 次平均值为最终结果,计算生存分数。

1.2.6 γ -H2AX 细胞免疫荧光染色及定量 各处理组细胞消化后种于覆盖爬片的 12 孔板中,贴壁 12 h 后予以 4 Gy 射线照射,继续培养 6 h 后 4% 多聚甲醛固定 15 min,0.2% Triton 行细胞破膜,山羊血清封闭 30 min,加入鼠抗人 γ -H2AX 单克隆抗体(1:800)于 4℃ 孵育过夜,复温 30 min 后加入羊抗鼠二抗室温避光孵育 50 min,DAPI 核染 1 min 后封片,光学显微镜下观察细胞核内出现的红色焦点即为 γ -H2AX 焦点,取 200 个以上细胞内平均焦点数为最终结果。

1.3 统计学方法

采用 SPSS 20.0 统计软件进行数据分析,计量资料采用 *t* 检验,计数资料采用方差分析。所有检验均为双侧检验, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 放疗抵抗细胞和亲本细胞中 *Beclin1* 的表达

为明确放疗抵抗细胞及亲本细胞在静态下 *Beclin1* 蛋白的表达情况,Western blotting 法检测了亲本细胞系 CNE2、6-10B 及其抵抗细胞系 CNE2-Rs、6-10B-Rs 中 *Beclin1* 蛋白的表达,结果显示两抵抗细胞系中 *Beclin1* 的表达明显高于其相应亲本细胞系,如图 1 所示。上述结果提示,*Beclin1* 与鼻咽癌细胞的放疗抵抗相关。

2.2 放射线照射诱导 *Beclin1* 在鼻咽癌细胞中的表达

为进一步探讨 *Beclin1* 对鼻咽癌细胞的放疗抵抗性的潜在作用,我们在不同条件下对 CNE2 细胞进行放射线照射。首先将 CNE2 细胞分别置于 0、4、8 Gy 的放射线下进行照射,3h 后提取细胞蛋白行 Western blotting 检测 *Beclin1* 蛋白的表达,结果显示随着放疗剂量增加,*Beclin1* 蛋白的表达增加,于 4 Gy 时即达到峰值,如图 2A 所示;随后,当细胞经 4 Gy 射线照射后,我们在 0、3、6、12h 分别对其行 Western blotting 检测,以明确 *Beclin1* 蛋白的表达情况,结果显示随着放疗后时间延长,*Beclin1* 蛋白的表达逐渐升高,于 3~6 h 即达到峰值,然后逐渐降低,如图 2B 所示。上述结果表明,放射线可诱导鼻咽癌细胞 *Beclin1* 的表达,提示 *Beclin1* 在其放疗抵抗过程中发挥作用。

2.3 沉默 *Beclin1* 与过表达 *Beclin1* 在鼻咽癌细胞的放疗抵抗中的作用

为了直接证实 *Beclin1* 在鼻咽癌细胞放疗抵抗中的作用,我们通过基因调控的方式于放疗抵抗细胞株 CNE2-Rs 中沉默 *Beclin1* 的表达,如图 3A 所示;于亲本细胞株 6-10B 中上调 *Beclin1* 的表达,如图 3B 所示。进一步行平板克隆集落形成实验检测其放疗抵抗性,结果显示沉默 *Beclin1* 后,实验组集落数量明显少于对照组,单个集落亦小于对照组,如

图 3C 所示,根据集落数量计算生存分数结果显示,实验组于 2、4、6Gy 生存分数均低于对照组,如图 3D 所示,差异具有统计学意义($P < 0.05$)。表明沉默 *Beclin1* 降低鼻咽癌细胞的放疗抵抗性。相反,6-10B 过表达 *Beclin1* 后,其集落形成数量多于对照组,单个集落亦大于对照组,生存分数高于对照组,如图 3E、F 所示,差异具有统计学意义($P < 0.05$)。表明过表达 *Beclin1* 能增加鼻咽癌细胞的放疗抵抗性。

2.4 *Beclin1* 影响鼻咽癌细胞放疗后 DNA 损伤的修复

细胞经放疗后即出现 DNA 双链损伤,放疗抵抗细胞可能出现 DNA 损伤修复增强,以保持基因组的稳定有助于细胞的存活。 γ -H2AX 为 DNA 双链损伤的标志物,可间接反映放疗后 DNA 损伤的程度。为证实 *Beclin1* 对鼻咽癌细胞放疗后 DNA 损伤修复的影响,我们亦通过对鼻咽癌细胞 *Beclin1* 基因调控,并行细胞免疫荧光法检测放疗前后 γ -H2AX 焦点数量的改变。结果显示,放疗前在 CNE2-Rs 及 6-10B 细胞中 *Beclin1* 基因沉默或过表达与对照组相比, γ -H2AX 焦点数量均极少,无统计学差异。放疗后沉默 *Beclin1* 组 γ -H2AX 焦点数量比对照组明显增多,差异具有统计学意义($t = 6.872, P = 0.000$),如图 4A、B 所示;放疗后过表达 *Beclin1* 组 γ -H2AX 焦点数量比对照组明显减少,差异具有统计学意义($t = -10.933, P = 0.000$),如图 4C、D 所示。综上所述结果表明过表达 *Beclin1* 后,鼻咽癌细胞 DNA 损伤修复增强,增加了放疗抵抗性。

3 讨论

自噬即活细胞将失去功能的细胞器、潜在毒性蛋白、代谢产物、进入细胞内的微生物等进行消化降解循环再利用,为细胞正常的功能代谢提供能量的一种过程^[4-5]。当细胞受到各种应激时,自噬在保持其内环境稳定中发挥重要作用。*Beclin1*,即酵母

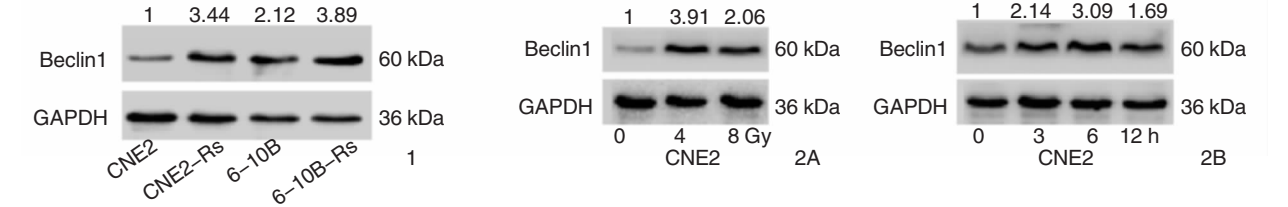


图 1 Western blotting 检测亲本细胞 CNE2、6-10B 及其抵抗细胞 CNE2-Rs、6-10B-Rs 中 *Beclin1* 蛋白的表达 图 2 Western blotting 检测鼻咽癌细胞 CNE2 于不同条件放疗后 *Beclin1* 蛋白的表达 2A:不同放射剂量照射 3 h 后检测 *Beclin1* 蛋白的表达; 2B:经 4 Gy 放射剂量照射后不同时间点检测 *Beclin1* 蛋白的表达

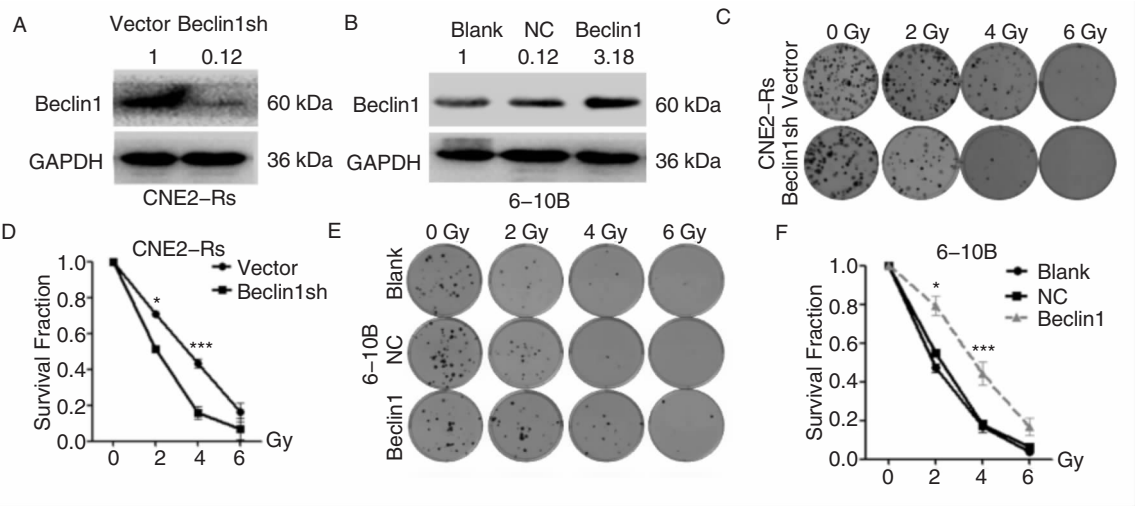


图 3 *Beclin1* 在鼻咽癌细胞放疗抵抗中的作用 A、B:Western blotting 法检测 *Beclin1* 基因调控的效果; C、D:CNE2-Rs 细胞沉默 *Beclin1* 基因后克隆集落形成能力的改变及生存分数的改变; E、F:6-10B 细胞过表达 *Beclin1* 基因后克隆集落形成能力的改变及生存分数的改变 (* $P < 0.05$, *** $P < 0.001$)

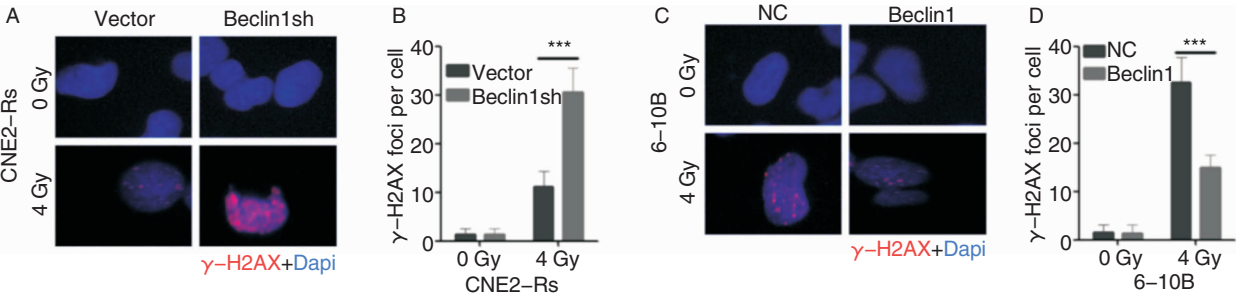


图 4 细胞免疫荧光检测鼻咽癌细胞经 *Beclin1* 基因调控放疗前、后 γ -H2AX 焦点数量的改变 A、B:CNE2-Rs 细胞沉默 *Beclin1* 基因放疗前、后细胞中 γ -H2AX 焦点图及平均每个细胞内焦点数量统计; C、D:6-10B 细胞过表达 *Beclin1* 基因放疗前、后细胞中 γ -H2AX 焦点图及平均每个细胞内焦点数量统计 (***) $P < 0.001$)

自噬相关基因 6 与 III 型 PI3K 结合,正向调节自噬,在自噬的启动中起到关键作用,被视为自噬的启动基因^[6]。*Beclin1* 在细胞自噬、分化、抗凋亡和肿瘤的发生发展及预后中起重要作用^[7]。有研究报道 *Beclin1* 的表达水平与食管癌的化疗抵抗、乳腺癌内分泌治疗的敏感性相关^[8-9],*Beclin1* 对膀胱癌、非小细胞肺癌、卵巢癌的进展亦有影响,可能是肿瘤潜在的预后因素^[10]。然而,*Beclin1* 介导的自噬在头颈肿瘤中的作用尚不完全清楚,其在肿瘤放疗抵抗中的研究更是鲜有报道。

研究放疗抵抗,离不开放射线对肿瘤细胞的作用。本研究首先明确了在两类放疗抵抗细胞中 *Beclin1* 的基础表达水平均高于其亲本细胞,进一步我们还证实了在不同条件下放射线作用于肿瘤细胞后,*Beclin1* 随着放射剂量的增加其表达升高,随着时间的延长其表达出现峰值,然后逐渐减弱。我们发现放射线诱导 *Beclin1* 的表达与其他研究者在口

腔癌中的研究结果一致^[11]。根据自噬理论^[5, 12],短时中等水平的自噬对细胞起到保护作用,而长期高水平自噬则诱导自噬性死亡。据此,我们推测,肿瘤细胞在放疗过程中,处于瞬时中等水平自噬的细胞存活可能性大,进而诱导放疗抵抗的形成。

在本研究中,我们利用基因调控的方法在两株鼻咽癌细胞系中检测了 *Beclin1* 对放疗抵抗性的影响。选择 *Beclin1* 基础水平表达高的 CNE2-Rs 细胞行功能缺失实验,沉默 *Beclin1* 基因后发现,其集落形成能力较对照组明显下降,计算生存分数发现差异具有统计学意义,于 4 Gy 时差异最明显。相反,我们对 6-10B 细胞行功能获得实验发现,过表达 *Beclin1* 后其集落形成能力较对照组明显增强,增加了鼻咽癌的放疗抵抗性。我们的结果与其他在前列腺癌、肺癌、胰腺癌中的研究结果一致^[13-14]。但 Chang 等^[15]发现放疗诱导的自噬促进肺癌细胞死亡而不是存活;有趣的是,Ko 等^[16]在研究中发现了

自噬的两面性,即在体外细胞实验中抑制自噬降低了放疗抵抗性,而在免疫缺陷动物体内实验中发现抑制自噬增加了放疗抵抗性。结合上述研究的不同结果,我们分析后认为 *Beclin1* 介导的自噬对细胞的保护功能受诸多因素的影响,如自噬持续的时间及强度、诱导因素、不同种类肿瘤的免疫原性,自噬在作用于放疗抵抗的同时可能还存在其他信号通路的调控等,这也恰体现了自噬具有两面性的特点。至于 *Beclin1* 通过何种信号通路或具体机制影响了鼻咽癌的放疗抵抗是我们进一步研究的内容。

近年来, γ -H2AX 焦点备受研究者关注,其常在放疗导致的 DNA 损伤特别是双链 DNA 损伤位点出现。进一步研究发现, γ -H2AX 在招募其他 DNA 修复蛋白到焦点的过程中发挥重要作用,是细胞应激反应的重要组成部分,被认为与 DNA 损伤呈正相关,因此, γ -H2AX 的检测常作为验证放疗抵抗的一个重要表型^[17-19]。我们在研究中发现,鼻咽癌细胞 *Beclin1* 基因沉默组经放疗后 γ -H2AX 焦点数量明显多于对照组,而过表达组其焦点数量显著少于对照组,提示 *Beclin1* 基因可能通过影响 DNA 损伤修复而促进鼻咽癌的放疗抵抗。

总之,本研究清楚表明,沉默 *Beclin1* 基因抑制了鼻咽癌细胞的 DNA 损伤修复能力,进而降低了其放疗抵抗性。至于 *Beclin1* 具体如何影响 DNA 的修复机制,以及进一步影响放疗抵抗尚需进一步深入探讨。上述研究将有助于将 *Beclin1* 作为鼻咽癌潜在放疗抵抗靶点提供理论支持。

参考文献:

[1] Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA Cancer J Clin, 2018, 68(6): 394–424.

[2] Li G, Liu Y, Su Z, et al. MicroRNA-324–3p regulates nasopharyngeal carcinoma radioresistance by directly targeting WNT2B[J]. Eur J Cancer, 2013, 49(11): 2596–2607.

[3] Wirawan E, Lippens S, Vanden Berghe T, et al. Beclin1: a role in membrane dynamics and beyond[J]. Autophagy, 2012, 8(1): 6–17.

[4] Yang Y, Yang Y, Yang X, et al. Autophagy and its function in radiosensitivity[J]. Tumour Biol, 2015, 36(6): 4079–4087.

[5] White E, DiPaola RS. The double-edged sword of autophagy modulation in cancer[J]. Clin Cancer Res, 2009, 15(17): 5308–5316.

[6] Klionsky DJ. A human autophagy interaction network[J]. Autophagy, 2012, 8(4): 439–441.

[7] Huang JJ, Li HR, Huang Y, et al. Beclin1 expression: A predictor of prognosis in patients with extranodal natural killer T-cell lymphoma, nasal type[J]. Autophagy, 2014, 6(6): 777–783.

[8] Chen Y, Li X, Wu X, et al. Autophagy-related proteins LC3 and Beclin-1 impact the efficacy of chemoradiation on esophageal squamous cell carcinoma[J]. Pathol Res Pract, 2013, 209(9): 562–567.

[9] Ueno T, Saji S, Sugimoto M, et al. Clinical significance of the expression of autophagy-associated marker, beclin 1, in breast cancer patients who received neoadjuvant endocrine therapy[J]. BMC Cancer, 2016, 16: 230.

[10] Liu GH, Zhong Q, Ye YL, et al. Expression of beclin 1 in bladder cancer and its clinical significance[J]. Int J Biol Markers, 2013, 28(1): 56–62.

[11] Min HJ, Suh KD, Lee YH, et al. Cytoplasmic HMGB1 and HMGB1-Beclin1 complex are increased in radioresistant oral squamous cell carcinoma[J]. Br J Oral Maxillofac Surg, 2019, 57(3): 219–225.

[12] Samnigrahi MK, Singh V, Sharma R, et al. Role of autophagy in head and neck cancer and therapeutic resistance[J]. Oral Dis, 2015, 21(3): 283–291.

[13] Zhang X, Shi H, Lin S, et al. MicroRNA-216a enhances the radiosensitivity of pancreatic cancer cells by inhibiting beclin-1-mediated autophagy[J]. Oncol Rep, 2015, 34(3): 1557–1564.

[14] Zou YM, Hu GY, Zhao XQ, et al. Hypoxia-induced autophagy contributes to radioresistance via c-Jun-mediated Beclin1 expression in lung cancer cells[J]. J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci, 2014, 34(5): 761–767.

[15] Chang SH, Minaei-Tehrani A, Shin JY, et al. Beclin1-induced autophagy abrogates radioresistance of lung cancer cells by suppressing osteopontin[J]. J Radiat Res, 2012, 53(3): 422–432.

[16] Ko A, Kanehisa A, Martins I, et al. Autophagy inhibition radiosensitizes in vitro, yet reduces radioresponses in vivo due to deficient immunogenic signalling[J]. Cell Death Differ, 2014, 21(1): 92–99.

[17] 周小娟,张叠阔,李果,等. MTDH 促进头颈鳞癌细胞放疗抵抗的实验研究[J]. 中国耳鼻咽喉颅底外科杂志, 2017, 23(3): 233–237, 242.

[18] Jing Q, Li G, Chen X, et al. Wnt3a promotes radioresistance via autophagy in squamous cell carcinoma of the head and neck[J]. J Cell Mol Med, 2019, 23(7): 4711–4722.

[19] Ruprecht N, Hungerbühler MN, Böhm IB, et al. Improved identification of DNA double strand breaks: gamma-H2AX-epitope visualization by confocal microscopy and 3D reconstructed images[J]. Radiat Environ Biophys, 2019, 58(2): 295–302.

(收稿日期:2019–12–26;网络首发:2020–06–30)

本文引用格式:敬前程,刘勇,李果,等. *Beclin1* 调控鼻咽癌细胞放疗抵抗的体外研究[J]. 中国耳鼻咽喉颅底外科杂志, 2020, 26(4): 400–404. DOI:10.11798/j.issn.1007-1520.202004010

Cite this article as: JING Qiancheng, LIU Yong, LI Guo, et al. *Beclin1* promotes radioresistance in nasopharyngeal carcinoma in vitro[J]. Chin J Otorhinolaryngol Skull Base Surg, 2020, 26(4): 400–404. DOI:10.11798/j.issn.1007-1520.202004010