

siRNA 沉默己糖激酶-2 基因 对 MDA-MB231 细胞放疗敏感性的影响

张丹 徐慧琴 汪会 余文静 薛杨央 赵学峰

摘要 目的 观察小干扰 RNA (siRNA) 沉默己糖激酶-2 (HK2) 对乳腺癌细胞 MDA-MB231 放疗敏感性的影响。方法 实验分为 3 组:空白 (Control) 组、阴性对照 (Negative) 组和转染 HK2 siRNA 的实验 (siRNA-HK2) 组。将 HK2 siRNA 瞬时转染于 MDA-MB231 细胞,用 Western blot 和 qRT-PCR 分别检测转染前后 HK2 蛋白和 mRNA 表达;CCK-8 实验观察不同剂量 (0.2、4、6、8 Gy) X 线照射下三组细胞增殖情况;流式细胞仪检测三组细胞在 4 Gy 照射下细胞凋亡率,观察 siRNA 干扰 HK2 对乳腺癌细胞 MDA-MB231 放疗敏感性的影响。结果 siRNA-HK2 组 HK2 的蛋白和 mRNA 表达量均降低。三组细胞分别给予不同剂量的 X 线照射后,细胞存活率呈剂量依赖性递减的趋势,且 siRNA-HK2 组的存活率较 Control 组和 Negative 组明显下降 ($P < 0.05$)。照射后,siRNA-HK2 组细胞凋亡率明显高于 Control 组和 Negative 组 ($P < 0.01$)。结论 沉默乳腺癌细胞 HK2 基因可增加其对放疗的敏感性。

关键词 己糖激酶-2; siRNA; 乳腺癌; 放疗敏感性

中图分类号 R 730.55

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2017)01-0095-05

doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2017.01.020

大多数恶性肿瘤细胞即使在有氧情况下也以糖酵解为主要产能方式,这种现象被称为 Warburg 效应^[1]。己糖激酶 (hexokinase, HK) 是肿瘤细胞糖酵解过程中的第一个限速酶,直接决定进入糖酵解的量。目前已知人类己糖激酶有 HK1、HK2、HK3、HK4 四种同工酶。正常情况下, HK4 仅在心脏、肌肉和脂肪组织中微量表达。在生长迅速的恶性肿瘤细胞中,以 HK2 高表达为主^[2]。研究^[3]显示, HK2 在肿瘤细胞中的高表达状态影响肿瘤的化疗效果,可作为肿瘤治疗的靶点。而 HK2 的表达是否对肿

瘤的放射敏感性有影响,尚未见报道。该实验利用小干扰 RNA (siRNA) 在乳腺癌 MDA-MB231 细胞中沉默 HK2 基因,观察 HK2 基因沉默对乳腺癌 MDA-MB231 细胞放射敏感性的影响,寻求提高肿瘤放射敏感性的新方法。

1 材料与方法

1.1 细胞株及主要试剂 人乳腺癌细胞株 MDA-MB231 购自中科院上海细胞库。DMEM 高糖培养基、胎牛血清 (FBS)、0.25% 胰酶购自美国 Gibco 公司;转染试剂脂质体 (Lipofectamine 2000)、TRIzol 试剂购自美国 Invitrogen 公司;HK2 基因编码序列购自上海吉玛公司;Annexin-V-FITC 细胞凋亡试剂盒购自上海贝博生物公司;Realtime PCR 试剂盒购自 TaKaRa 公司;Cell Counting Kit-8 (CCK-8) 试剂购自碧云天公司;小鼠抗人 HK2 单克隆抗体 (ab76959) 购自 Abcam 公司;兔抗小鼠二抗购自北京中杉金桥生物技术有限公司。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养和转染 MDA-MB231 细胞采用含 10% FBS 的 DMEM 培养液于含 5% CO₂ 的 37 °C 恒温培养箱 (MCO-15AC 型,日本 SANYO 公司) 中培养,待细胞贴满瓶底约 80% 进行传代培养。选择处于对数生长期的肿瘤细胞进行实验。

1.2.2 HK2-siRNA 的设计合成 由上海吉玛制药有限公司设计合成设计 3 个 siRNA 序列,根据靶序列对应的 cDNA 起始点位置命名为 siRNA/HK2-1、siRNA/HK2-2 和 siRNA/HK2-3。另外设计一条阴性对照 (negative control, NC) 序列,见表 1。

1.2.3 HK2-siRNA 转染 MDA-MB231 细胞 转染前 1 d 将 2×10^5 个细胞接种于 24 孔板中,每孔加入约 500 μ l 无抗生素培养基,使转染时的细胞密度能够达到 50%;取 1 μ l/孔 Lipofectamine 2000 与 50 μ l Opti-MEM 混匀后室温下孵育 5 min;取 2 μ l siRNA 与 50 μ l Opti-MEM 混匀后室温孵育 5 min;将以上 2 步所得溶液混匀,室温放置 20 min,即 siRNA 转

2016-09-09 接收

基金项目:国家自然科学基金 (编号:81371587)

作者单位:安徽医科大学第一附属医院核医学科,合肥 230022

作者简介:张丹,女,硕士研究生;

徐慧琴,女,主任医师,硕士生导师,责任作者, E-mail: hfx-

uhuiqin@163.com

表 1 siRNA 寡核苷酸序列

编号	正义链(5'-3')	反义链(5'-3')
NC	MMCMCCGAACGMGMCACGMMT	ACGMGACACGMMCGGAGAATT
siRNA/HK2-1	GCAGAAGGMMGACCAGMAMTT	AMACMGGMCAACMMCMCGCTT
siRNA/HK2-2	GGAGAMGGAGAAAGGGCMMTT	AAGCCMMCMCCAMCMCCTT
siRNA/HK2-3	GCCGAMCAAGGAGAAACAAATT	MMMGMCMCCMMGAMGCGCTT

染液。将 siRNA 转染液加入含有细胞及培养液(约含 400 μl)的孔中,轻轻摇晃孔板,使混和;在 37 °C 的 CO₂ 培养箱中培养 4 ~ 6 h 后可将培养基换成含血清的完全培养基。

1.2.4 Western blot 方法筛选有效沉默 HK2 的 siRNA 序列 按转染的 HK2-siRNA 序列不同,实验分 5 组,空白 (Control) 组、阴性 (Negative) 组、转染 HK2/siRNA-1 (siHK2-1) 组、转染 HK2/siRNA-2 (siHK2-2) 组和转染 HK2/siRNA-3 (siHK2-3) 组。收集瞬时转染 48 h 的细胞,用细胞裂解液冰上裂解,提取总蛋白,采用 BCA 法进行蛋白定量。取各组等量蛋白 SDS-PAGE 凝胶电泳分离,恒压 80 V 电转移至 PVDF 印迹膜,用含 5% 脱脂奶粉 TBST 室温封闭 2 h 后,分别加入小鼠抗人 HK2 抗体(1 : 1 000 稀释)和 GAPDH(1 : 1 000)内参抗体 4 °C 孵育过夜。次日 TBST 洗涤 3 次,每次 10 min,并在摇床上振摇,加入辣根酶标记山羊抗小鼠 IgG (H + L) (1 : 5 000 稀释)室温孵育 1 h;TBST 洗涤 3 次,每次 10 min。用化学发光法显色,凝胶成像系统采集成像,测量条带灰度值。实验重复 3 次。

1.2.5 实时定量聚合酶链反应 (qRT-PCR) 检测 HK2 mRNA 的表达 收集瞬时转染 24 h 的三组细胞,TRIzol 法提取细胞总 RNA,用反转录试剂盒反转录 mRNA 生成 cDNA,用 PCR 扩增试剂盒检测各组样本中 HK2 mRNA 的表达,选择 GAPDH 作为 mRNA 的内参。扩增条件:95 °C 30 s 预变性,95 °C 3 s,60 °C 34 s,循环 40 次,数据采用 2^{-ΔΔCt} 法进行分析。

1.2.6 细胞照射方法 采用 6 mv X 线(23EX 型,美国 VARIAN 公司)进行单次照射,细胞源距 100 cm,剂量率为 250 cGy/min,照射野 96 孔板为 14 cm × 9 cm,60 mm 培养皿为 10 cm × 10 cm,覆盖 1.5 cm 厚的胶体。

1.2.7 CCK-8 检测 X 线照射后对细胞增殖的影响 取处于指数生长期的 3 组细胞;采用 0、2、4、6、8 Gy X 线照射,照射后 PBS 清洗,胰酶消化后调整细胞浓度为 5 × 10³ 个/孔接种于 96 孔板中,每组设 4

个复孔,于 37 °C 的 CO₂ 培养箱中培养 2 d,在最后 4 h 每孔加 10 μl CCK8 溶液。继续培养 4 h 后于酶标仪 (EONTM 型 美国 BioTek 公司) 450 nm 波长处测量吸光度值,根据吸光度值计算出不同处理组的活细胞数目并计算细胞存活率。

1.2.8 流式细胞仪检测照射后细胞凋亡情况 取指数生长期的 3 组细胞,以每孔 2 × 10⁵ 个细胞密度接种于六孔板中,培养 12 h 贴壁后给予 4 Gy X 射线照射,继续培养 48 h;用不含 EDTA 的胰酶消化离心后收集悬浮细胞,预冷 PBS 洗涤细胞,调整每管细胞浓度为 1 × 10⁶ 个/ml,依次加入 Annexin V-FITC 和碘化丙啶 (PI) 试剂,室温避光 15 min,上机检测。

1.3 统计学处理 采用 SPSS 17.0 软件进行统计学分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示。组间差异采用单因素方差分析,两组之间比较用两独立样本的 *t* 检验,以 *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 HK2-siRNA 有效序列的筛选 Western blot 法检测结果显示,Control 组和 Negative 组之间无明显差异,与 Negative 组相比,siHK2-1 转染 48 h 后对 HK2 蛋白抑制作用最为明显。见图 1、2。

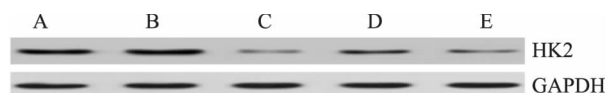


图 1 转染 3 条 siRNA/HK2 序列后 MDA-MB231 细胞中 HK2 蛋白的表达

A: Control 组; B: Negative 组; C: siRNA/HK2-1 组; D: siRNA/HK2-2 组; E: siRNA/HK2-3 组

2.2 qRT-PCR 检测 HK2 mRNA 表达 qRT-PCR 结果显示,siRNA-HK2 组 HK2 mRNA 表达量明显低于 Control 组和 Negative 组 (*P* < 0.001),进一步证实 siRNA/HK2-1 的沉默效果,后续试验以 siRNA/HK2-1 核酸序列进行转染。见图 2。

2.3 CCK8 检测细胞放射敏感性结果 随着照射剂量的增加,细胞存活率呈下降趋势,其中 siRNA-

HK2 组下降更为明显,且在不同剂量照射时均与 Control 组和 Negative 组差异有统计学意义 ($P < 0.05$); Control 组和 Negative 组之间差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 2。

2.4 流式细胞仪检测细胞凋亡结果 流式细胞仪检测结果显示, siRNA-HK2 组细胞照射后凋亡率明显升高,与 Control 组和 Negative 组细胞相比,差异有统计学意义 ($F = 49.16, P < 0.01; t = 7.76, P < 0.01$), Control 组和 Negative 组之间差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见图 3。

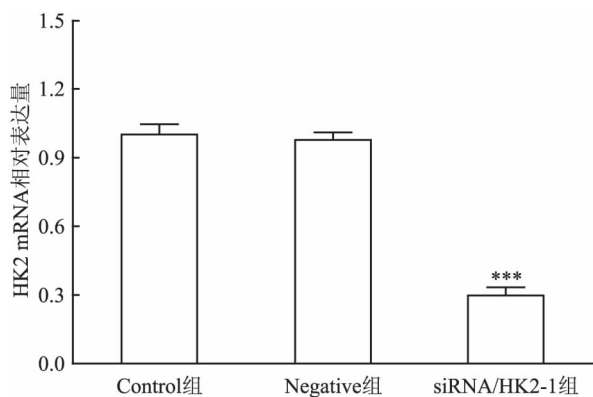


图2 转染 siRNA/HK2 后 MDA-MB231 细胞中 HK2 mRNA 相对表达量
与 Negative 组比较: *** $P < 0.001$

表2 不同剂量 X 线照射三组细胞的增殖率 (% $n = 3, \bar{x} \pm s$)

剂量 (Gy)	Control 组	Negative 组	siRNA-HK2 组	F 值	P 值
2	92.93 ± 1.57	91.53 ± 0.92	81.16 ± 0.97	88	< 0.05
4	79.72 ± 0.62	78.82 ± 0.36	60.17 ± 0.84	899	< 0.05
6	64.59 ± 0.62	64.30 ± 0.59	44.56 ± 0.56	1 127	< 0.05
8	48.40 ± 0.59	47.78 ± 0.65	28.96 ± 0.78	1 204	< 0.05

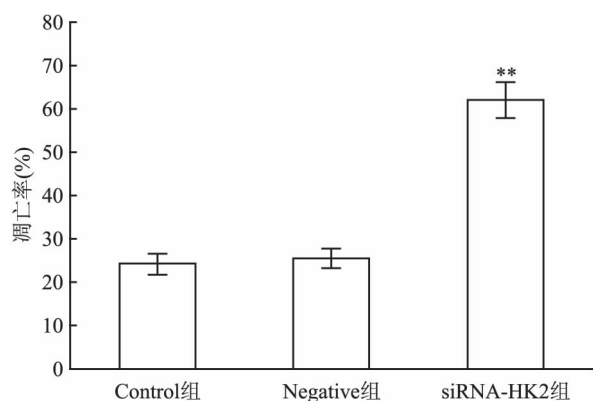


图3 siRNA-HK2 干扰对照后 MDA-MB231 细胞增殖的影响
与 Negative 组比较: ** $P < 0.01$

3 讨论

乳腺癌是女性发病率最高的恶性肿瘤,也是一种可以呈现多种生物学特性及临床表现的异质性疾病^[4]。可根据有无雌激素受体 (estrogen receptor, ER)、孕激素受体 (progesterone receptor, PR)、人表皮生长因子受体 2 (HER2) 以及 Ki67 等分子指标分为: luminal A 型 (ER+, PR+, HER2+/-, Ki67 < 14%); luminal B 型 (ER+, PR+, HER2+/-, Ki67 > 14%); HER2 过表达型 (ER-, PR-, HER2+) 和三阴性乳腺癌 (ER-, PR-, HER2-) 四种类型。约 60% 的乳腺癌都是 ER 阳性^[5], 20% 表现为三阴性乳腺癌, 人乳腺癌 MDA-MB231 细胞来源于三阴性乳腺癌患者, 目前临床上三阴性乳腺癌患者缺乏内分泌及抗 HER2 治疗靶点, 其治疗是临床医师的一大挑战, 且经临床积极治疗后患者的生存率仍然十分低^[6]。研究^[7]表明, 三阴性乳腺癌易向肺和脑转移, 且患者术后 1~2 年的复发率极高, 目前亟需寻求新的治疗手段。

放射治疗是乳腺癌治疗的重要组成部分, 是局部治疗手段之一^[8], 与手术、化疗相配合, 以期达到根治目的。放射治疗主要通过电离辐射直接或间接损伤细胞的 DNA, 使细胞的 DNA 双链断裂, 促使细胞死亡。而所有细胞都有 DNA 损伤修复系统, 此系统是细胞维持自身基因组稳定重要的保护和防御机制; 也是导致肿瘤细胞对放疗不敏感的重要机制之一^[9]。与正常细胞相比, 肿瘤细胞的能量代谢明显不同, 正常细胞主要通过有氧分解获得能量, 而肿瘤细胞即使在有氧条件下也以无氧糖酵解来获得能量^[1]。糖酵解作为肿瘤细胞获能的主要方式, 其产生的 ATP 对 DNA 的合成意义重大。同时研究^[10]表明当人类肾细胞癌细胞中的线粒体 DNA 表达下调或断裂而至功能受损时, 细胞会通过增加糖酵解所涉及的酶和其他因子来促进糖酵解的过程, 从而弥补 DNA 的缺失。HK2 作为糖酵解第一步的关键限速酶, 其可影响糖酵解的过程而与 DNA 的修复断裂息息相关。基因治疗是现阶段肿瘤治疗的一个新趋向, 将其与放射治疗结合, 可以在增强放射效果的同时减少放射引起的不良反应, 改善患者预后, 降低死亡率。

研究^[11]表明在肺、胃肠及乳腺的恶性肿瘤组织中, HK2 的含量是明显增高的, 并且在乳腺癌中, 当

病灶发生转移时, HK2 的活性会更高; 且 HK2 在三阴性乳腺癌 MDA-MB231 细胞中表达高于 ER 阳性的乳腺癌 MCF-7 细胞^[12]。HK2 在大部分恶性肿瘤细胞中的表达以线粒体结合型为主, 且在肿瘤中心部位的表达量明显高于周围部分, 与低氧条件下诱导其表达相关^[13], 且肿瘤的恶性程度越高, HK2 表达量越高^[14]。体内外实验表明 HK2 基因在三阴性乳腺癌的增殖、扩散以及放化疗的抵抗中起着至关重要的作用。

HK2 与线粒体结合可使得肿瘤细胞线粒体膜通透性降低, 从而抑制促凋亡因子诱导细胞凋亡。而沉默 HK2 可减少线粒体结合型 HK2 的表达, 从而使线粒体的结构发生变化、通透性增高, 使线粒体内的促凋亡因子释放到胞质, 激活包括 caspase-3 在内的线粒体介导的细胞凋亡信号通路, 从而诱导细胞凋亡^[15]。同时使得线粒体 DNA 表达下调或断裂, 增加 X 线的放射敏感性。

本研究结果表明, 较之于 Control 组及 Negative 组, 转染 HK2-siRNA 的实验组的 MDA-MB231 细胞的增殖明显受抑制、凋亡率明显升高, 且随照射剂量的增加细胞增殖率逐渐下降, 从分子生物学水平证实了 HK2 基因沉默能够提高乳腺癌细胞的放疗敏感性。

参考文献

- [1] Yang W, Zheng Y, Xia Y, et al. ERK1/2-dependent phosphorylation and nuclear translocation of PKM2 promotes the Warburg effect[J]. *Nat Cell Biol* 2012, 14(12):1295-304.
- [2] Hwang M H, Lee S W, Kim J E, et al. Enhanced anti-proliferative effects of combination hexokinase II shRNA and NIS gene therapy on vascular smooth muscle cells[J]. *Nucl Med Biol* 2012, 39(2):269-78.
- [3] Sandulache V C, Skinner H D, Wang Y, et al. Glycolytic inhibition alters anaplastic thyroid carcinoma tumor metabolism and improves response to conventional chemotherapy and radiation[J]. *Mol Cancer Ther* 2012, 11(6):1373-80.
- [4] Pelicano H, Zhang W, Liu J, et al. Mitochondrial dysfunction in some triple-negative breast cancer cell lines: role of mTOR pathway and therapeutic potential[J]. *Breast Cancer Res Ber* 2014, 16(5):1-16.
- [5] Harvey J M, Clark G M, Osborne C K, et al. Estrogen receptor status by immunohistochemistry is superior to the ligand-binding assay for predicting response to adjuvant endocrine therapy in breast cancer[J]. *J Clin Oncol* 1999, 17(5):1474-81.
- [6] Cleator S, Heller W, Coombes R C. Triple-negative breast cancer: therapeutic options[J]. *Lancet Oncol* 2007, 8(3):235-44.
- [7] Kaklamani V G, Jeruss J S, Hughes E, et al. Phase II neoadjuvant clinical trial of carboplatin and eribulin in women with triple-negative early-stage breast cancer (NCT01372579) [J]. *Breast Cancer Res Treat* 2015, 151(3):629-38.
- [8] Hagen K R, Zeng X, Lee M Y, et al. Silencing CDK4 radiosensitizes breast cancer cells by promoting apoptosis [J]. *Cell Div*, 2013, 8:10.
- [9] Ding J, Miao Z H, Meng L H, et al. Emerging cancer therapeutic opportunities target DNA-repair systems [J]. *Trends Pharmacol Sci*, 2006, 27(6):338-44.
- [10] Lin C S, Lee H T, Lee M H, et al. Role of mitochondrial DNA copy number alteration in human renal cell carcinoma [J]. *Int J Mol Sci* 2016, 17(6):E814.
- [11] 赵迎超, 伍钢. 己糖激酶与恶性肿瘤关系的研究进展[J]. *肿瘤防治研究* 2006, 33(9):694-6.
- [12] Geng C, Li J Y, Ding F, et al. Curcumin suppresses 4-hydroxytamoxifen resistance in breast cancer cells by targeting SLMG/Hexokinase 2 pathway[J]. *Biochem Biophys Res Commun* 2016, 473(1):147-53.
- [13] Jang M, Kim S S, Lee J. Cancer cell metabolism: implications for therapeutic targets[J]. *Exp Mol Med* 2013, 45:e45.
- [14] Kwee S A, Hernandez B, Chan O, et al. Choline kinase alpha and hexokinase-2 protein expression in hepatocellular carcinoma: association with survival [J]. *PLoS One* 2012, 7(10):e46591.
- [15] Majewski N, Nogueira V, Bhaskar P, et al. Hexokinase-mitochondria interaction mediated by Akt is required to inhibit apoptosis in the presence or absence of Bax and Bak [J]. *Mol Cell* 2004, 16(5):819-30.

Effects of silencing HK2 gene through siRNA on radiosensitivity of MDA-MB231 cell line

Zhang Dan, Xu Huiqin, Wang Hui, et al

(Dept of Nuclear Medicine, The First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230022)

Abstract Objective To investigate the radio sensitivity of silencing HK2 gene through siRNA interference in human breast cancer MDA-MB231 cells. **Methods** The cells were divided into three groups: the blank group

网络出版时间: 2017-1-20 11:13 网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/34.1065.R.20170120.1113.021.html>

蜕皮甾酮对同型半胱氨酸诱导人血管内皮细胞凋亡的影响

苏 华¹, 谢睿彬¹, 张小新¹, 罗高湖¹, 涂 铃²

摘要 目的 探讨蜕皮甾酮对同型半胱氨酸(Hcy)诱导人脐静脉内皮细胞株 CRL-1730 凋亡的影响。方法 体外常规培养人血管内皮细胞 CRL-1730, 细胞计数试剂盒法检测蜕皮甾酮对 CRL-1730 细胞增殖活力的影响; Hcy 处理人血管内皮细胞 CRL-1730 建立损伤模型, 分组为空白对照组、蜕皮甾酮高剂量组(Hcy + 1.5 μmol/L 蜕皮甾酮)、蜕皮甾酮中剂量组(Hcy + 1.0 μmol/L 蜕皮甾酮)、蜕皮甾酮低剂量组(Hcy + 0.5 μmol/L 蜕皮甾酮)、Hcy 组; 流式细胞术检测 CRL-1730 细胞凋亡率, 并利用荧光染色进行细胞凋亡形态学观察; RT-PCR 法检测 CRL-1730 细胞内 Bax、Bcl-2 及 Caspase-3 基因的表达; 采用 Western blot 法检测 CRL-1730 细胞内 Bax、Bcl-2、cleaved-Caspase-3 蛋白表达。结果 所选浓度蜕皮甾酮对 CRL-1730 细胞增殖活性无明显影响; 流式细胞术结果显示经 Hcy 处理后的 CRL-1730 细胞凋亡率明显增高, 但经过不同浓度的蜕皮甾酮处理后, Hcy 诱导的 CRL-1730 细胞凋亡率明显下降; 与空白对照组比较, Hcy 组 CRL-1730 细胞 Bax 和 cleaved-Caspase-3 的表达明显增高, Bcl-2 的表达明显降低, 差异有统计学意义。与 Hcy 组比较, 经过低、中、高剂量蜕皮甾酮处理后, Hcy 诱导的 CRL-1730 细胞

Bcl-2 表达上调, Bax 和 cleaved-Caspase-3 表达下调; 与空白对照组比较, Hcy 组 CRL-1730 细胞 Bax mRNA 和 Caspase-3 mRNA 的表达明显增高, Bcl-2 mRNA 的表达明显降低, 差异有统计学意义。与 Hcy 比较, 经过低、中、高剂量蜕皮甾酮处理后, CRL-1730 细胞 Bcl-2 mRNA 表达上调, Bax mRNA 和 Caspase-3 mRNA 表达下调。结论 蜕皮甾酮对 Hcy 诱导人脐静脉内皮细胞 CRL-1730 凋亡具有保护作用, 这为其治疗心血管疾病提供了依据。

关键词 蜕皮甾酮; 同型半胱氨酸; 人脐静脉内皮细胞; 凋亡

中图分类号 R 543.5
文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2017)01-0099-06
doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2017.01.021

动脉粥样硬化(atherosclerosis, AS)是一类严重危害人类健康的心血管疾病, 其发生发展与多种因素有关。同型半胱氨酸(Homocysteine, Hcy)属含硫氨基酸, Hcy 可损伤血管内皮促进动脉粥样斑块形成^[1]。研究^[2]证明, 血浆 Hcy 水平升高是冠心病、脑血管疾病以及外周阻塞性血管疾病等心脑血管疾病的一个重要独立危险因素。体外细胞培养显示 Hcy 能诱导内皮细胞凋亡^[3]。蜕皮甾酮是中药牛膝中甾酮类的主要成分^[4], 目前已证实其具有多种生物活性, 如清除自由基、抗氧化、缓解炎症反应等^[5-6]。研究^[7]表明蜕皮甾酮可以抑制 Hcy 诱导的炎症损伤, 抑制内皮细胞与白细胞、血小板等黏

2016-06-27 接收

基金项目: 湖北省卫生计生委员会西医一般项目(编号: WJ2015MB-006)

作者单位: ¹贺州市人民医院心血管内科, 贺州 542899

²华中科技大学附属同济医院综合科, 武汉 430000

作者简介: 苏 华, 男, 主治医师, 责任作者, E-mail: suhuahz@yeah.net

(Control) the negative control group (Negative) and the test group (HK2-siRNA). The HK2 siRNA was transfected into MDA-MB231 cells and the Western blot and qRT-PCR tests were used to detect expressions of HK2 protein and mRNA before and after silencing. Then proliferation of cells in three groups that were exposed to different doses of X-ray (0 2 4 6 8 Gy) was analyzed by CCK-8 experiment and the apoptosis rate of cells irradiated by 4 Gy X rays was determined by flow cytometry. **Results** After silencing HK2 gene, the expressions of protein and mRNA of HK2 in the test group cells were inhibited effectively. After three groups of cells being exposed to different doses of X-ray, the survival rate of cells displayed a decreased trend in a dose-dependent manner. And compared with the negative control group, the cell survival rate in the test group was significantly decreased and the cell apoptosis rate in the test group was higher than that in the negative control group and blank group ($P < 0.01$). **Conclusion** Silencing HK2 gene through siRNA can significantly sensitize MDA-MB231 breast carcinoma cells to X radiation.

Key words HK2; siRNA; breast cancer; radiation