

◇中医现代研究◇

针灸对骨髓抑制小鼠 DNA 修复基因 XPD 蛋白表达的影响

路 玫¹, 宋晓琳¹, 曹大明^{1*}, 赵喜新², 李建伟³, 张 丽², 于冬冬⁴

(1. 河南中医学院, 河南 郑州 450008; 2. 河南中医学院针灸推拿学院, 河南 郑州 450008;

3. 河南中医学院第一附属医院, 河南 郑州 450000; 4. 湖北中医药大学, 湖北 武汉 430067)

摘要:目的 通过观察针刺和艾灸前后, 骨髓抑制小鼠 DNA 修复基因 XPD 蛋白表达量的改变, 探讨针灸减轻骨髓抑制、增加外周血白细胞数的分子生物学机制。方法 取清洁级、雄性昆明种小鼠 324 只, 分成正常组、模型组、针刺组、艾灸组、模型组、针刺组、艾灸组。模型组小鼠腹腔注射环磷酰胺 (CTX), 造成 CTX 骨髓抑制小鼠模型, 正常组小鼠腹腔注入等量的 0.9% 氯化钠溶液。针刺组、艾灸组分别进行针刺、艾灸。正常组、模型组同时固定, 不治疗。各组均在 2~6d 用免疫组化染色法 (Elvison 二步法)、Western Blot 法检测和分析骨髓细胞 XPD 蛋白表达量的变化。结果 针灸可以上调 CTX 模型小鼠骨髓细胞中 XPD 的蛋白表达, 促进骨髓细胞受损 DNA 的核苷酸切除修复, 减轻因 CTX 化疗引起的骨髓抑制。结论 上调骨髓细胞 DNA 修复基因 XPD 的表达, 促进细胞受损 DNA 核苷酸切除修复, 是针灸减轻骨髓抑制、保护造血功能、增加外周血白细胞数的重要机制之一。

关键词: 针灸; 骨髓抑制; DNA 修复; XPD

DOI 标识: doi:10.3969/j.issn.1008-0805.2016.04.084

中图分类号: R285.5 文献标识码: A 文章编号: 1008-0805(2016)04-0986-03

Effects on DNA repair gene XPD protein expression in bone marrow inhibition mice with acupuncture and moxibustion

LU Mei¹, SONG Xiao-lin¹, CAO Da-ming^{1*}, ZHAO Xi-xin², LI Jian-wei³, ZHANG Li², YU Dong-dong⁴

(1. Henan University of TCM, Zhengzhou 450008, China; 2. School of Acupuncture and Moxibustion, Henan University of TCM, Zhengzhou 450008, China; 3. The First Affiliated Hospital of Henan University of TCM, Zhengzhou 450000, China; 4. Hubei University of Chinese Medicine, Wuhan 430067, China)

Abstract: Objective By observing the effects of acupuncture and moxibustion on expression of protein of DNA repair Gene XPD in the bone marrow inhibition mice, to explore the molecular biological mechanisms that acupuncture and moxibustion can relieve myelosuppression and increase peripheral blood leukocytes. Methods Dividing the 224 clean male Kun-ming mice into control, model, acupuncture and moxibustion groups randomly. The later three groups were made the model with cyclophosphamide (CTX) intraperitoneal injection, while the control with equal injection of 0.9% of the saline solution. The acupuncture and moxibustion groups were respectively used for treatment with acupuncture and moxibustion, while the control and model group were caught and fixed without treatment. Between groups in 2nd to 6th day with the immunohistochemical staining method (Elvison on two steps), Western Blot method to detect and analyze the quantity of bone marrow cells XPD protein expression. Results Acupuncture and moxibustion can increase XPD protein expression in bone marrow cells in model of CTX mice, promote the nucleotide excision repair and antagonism alkylating agent toxicity caused by CTX. Conclusion Acupuncture and moxibustion can relieve bone marrow suppression, protect hematopoietic function, increase the one of the important mechanism of the peripheral blood leukocytes. One of its main mechanisms is increasing the expression of DNA repair gene XPD of bone marrow cells, promoting cells damaged DNA nucleotide excision repair.

Key words: Acupuncture and Moxibustion; Bone marrow inhibition; DNA Repair; XPD

收稿日期: 2015-08-12; 修回日期: 2015-12-30

基金项目: 国家自然科学基金重大计划 (No. 90790035)

作者简介: 路 玫 (1958-), 女 (汉族), 河南新乡人, 河南中医学院教授, 博士研究生导师, 博士学历, 主要从事针灸对放化疗毒副作用的研究及针灸理论的研究工作。

* 通讯作者简介: 曹大明 (1957-), 男 (汉族), 河南郑州人, 河南中医学院教授, 博士学位, 主要从事中医针灸基础理论研究及针灸对放化疗毒副作用研究工作。

环磷酰胺 (cyclophosphamide, CTX) 是一类常用的烷化剂类的化疗药物^[1], 具有非常明显的免疫抑制及细胞毒作用^[2], 其主要通过破坏 DNA 的结构, 达到阻断 DNA 复制, 进而引起细胞死亡的作用, 多用作恶性肿瘤和多种自身免疫性疾病治疗药物。然由于其缺乏特异性, 在杀伤肿瘤细胞的同时, 也破坏机体的正常细胞, 尤其对增殖活跃的骨髓细胞的损伤严重, 可导致骨髓抑制, 白细胞减少, 并由此给机体带来一系列不良反应。

CTX 所致细胞 DNA 烷化损伤后, 除了直接修复外, DNA 切除修复中的核苷酸切除修复 (nucleotide excision repair, NER) 和

碱基切除修复 (base excision repair, BER) 也起着举足轻重的作用。其中, NER 能够修复遗传物质上多个不连续的 DNA 损伤, 包括烷化剂引起的小的碱基损伤。在其修复烷化剂所致光损伤的过程中, 肿瘤抑制着色性干皮病基因 (xeroderma pigmentosum group D, XPD) 起着关键作用。基于此, 并结合以往课题组所做的针灸升白机理的相关研究, 本实验旨在通过测定针刺和艾灸前后, 骨髓抑制小鼠 DNA 修复基因 XPD 蛋白表达的变化, 探讨针刺灸减轻骨髓抑制、增加外周血白细胞数的分子生物学机制。

1 材料

实验动物及分组: 郑州大学医学院实验动物中心购买清洁级雌性昆明种 (KM) 小鼠 [批号: SCXK (豫) 2005-0001] 224 只, 体重 (22±2) g。购回后, 在 20~25℃, 相对湿度 60% 左右实验环境中饲养 3 天, 后随机分为正常组、针刺组、艾灸组、模型组, 56 只/组 (每组 7 笼, 每笼 8 只)。并以苦味酸溶液标记。

2 方法与结果

2.1 模型制作方法 依据徐果安等^[1] CTX 制备骨髓抑制小鼠模型的方法造模。除正常组外, 均给予浓度为 $5\text{mg} \cdot \text{ml}^{-1}$ 的 CTX ($100\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$, 即按照小鼠体重 $0.02\text{ml} \cdot \text{g}^{-1}$ 用剂量) 腹腔注射, 且均于 24、48h 再行注射, 停药 4h 处死取脾^[2]。正常组给予等量 0.9% NaCl 溶液。

2.2 取穴及治疗方法 依据《中国针灸学》定位小鼠穴位^[3]。“大椎”穴位于背部正中, 第七颈椎与第一胸椎; “命门”(XU) 穴位于第七胸椎下左右两旁; “肾俞”(BL) 穴位于第二腰椎下左右两旁; “足三里”位于第四腰椎关节下外侧, 距胫骨小头下方约 5mm 处^[4]。

在造模完成后 4h 进行如下治疗: 针刺组: 选美容毫针 (规格: $0.19\text{mm} \times 10\text{mm}$, 华佗牌), 进针深度为 3mm, 穴位均取双侧法, 留针 6min, 每日治疗 1 次, 共 7 d。艾灸组: 点燃艾条 (规格: $0.4\text{cm} \times 25\text{cm}$) 后, 在距离小鼠穴位皮肤 2cm 高处固定灸灸 3 min, 每日治疗 1 次, 共 7 d。正常组、模型组: 每日仅饲养观察, 固定, 不治疗。

2.3 针灸对 CTX 小鼠外周血白细胞数的影响

2.3.1 小鼠尾静脉取血查外周血白细胞数 小鼠造模前, 于的每天上午 7:30 进行尾静脉取血。方法是根据编号将小鼠侧颈静脉取血 ($10\mu\text{L}/\text{只}$), 依次加入事先准备好的 3% 冰乙酸稀释液 390 μL 的试管中, 搅拌均匀, 抽取 $10\mu\text{L}$ 的血细胞悬液放入细胞计数板, 后用光学显微镜进行计数。

2.3.2 统计方法 采用 SPSS13.0 for Windows 进行统计分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 首先进行组间比较, 样本是否符合正态分布, 再进行方差齐性检验。方差齐, 则采用单因素方差分析; 方差不齐, 先进行方差校正, 再进行单因素方差分析; 检验标准 α 取 0.05。若不服从正态分布, 采用非参数检验。

2.3.3 结果 表 1 结果显示, 除正常组外, 各小鼠腹腔注射 CTX 的第 2 天外周血白细胞计数即开始下降, 且与正常组比, 均有差异 ($P < 0.05$), 表明 CTX 能够有效抑制外周血白细胞数。表 2 结果显示, 与模型组比, 经针刺、艾灸后, 小鼠白细胞数提前且回升幅度大, 在 4~6 天升高尤为明显, 表明针灸确有明显改善化疗药物所致骨髓抑制, 提升外周血白细胞数的疗效。

2.4 免疫组化法检测 CTX 小鼠骨髓细胞 XPD 蛋白的表达

2.4.1 骨髓提取方法 从造模后第 2 天开始, 每天治疗完, 饲养 4 h 后, 选取 8 只小鼠腹股取时, 在无菌工作台上取左侧的股骨和股骨, 除净肌肉和疏松结缔组织, 备用。

2.4.2 骨髓处理方法 用无菌眼科剪沿股骨骨髓腔将股骨大转子剪

掉 (截骨沿其内、外上髁的连线剪掉)。用一次性 7 号穿刺针穿入骨髓腔内, 直至穿透到骨下洞, 取出穿刺针, 将穿出的骨髓细胞组织放入吸水纸, 装入盛有 4% 多聚甲醛的 1ml 冻存管内固定后, 石蜡包埋待用。造模后 3~6 天均按此方法处理。

2.4.3 检测与分析方法

2.4.3.1 检测方法 免疫组化染色法: 取冻包埋的标本, $4\mu\text{m}$ 厚切片脱蜡后, 水化, 以 PBS (pH 7.4) 洗 3 min $\times$ 3 次, XPD 抗原修复, 室温冷却, 加 3% H_2O_2 阻断液阻断, 湿盒孵育 10min; 再用 PBS 液冲洗 3 次, 转移切片以去除切片上的 PBS 液, 并在每片加适量山羊抗兔性马血清, 室温下孵育; 第二天在活, 每片加 XPD 抗体 (一抗), 4°C 冰箱过夜; 第二天, 室温静置 40min 再以 PBS 冲洗 3 min $\times$ 3 次, 用 PBS 液每片滴加适量 HRP 标记过氧化酶 (二抗), 室温下孵育 30 min 后 PBS 冲洗 3 次; 用去 PBS, DAB 染色后在显微镜下观察并对其进行染色程度进行控制, 适时终止反应。后用自来水冲洗, 用苏木素复染, 切片以梯度酒精脱水并干燥后二甲苯透明, 中性树脂封片。

表 1 造模前 CTX 小鼠外周血白细胞计数动态变化 ($\bar{x} \pm s$)

组别	正常组	模型组	针刺组	艾灸组
造模前 (天)	17.88 $\pm$ 1.508	17.41 $\pm$ 1.780	17.58 $\pm$ 1.600	17.93 $\pm$ 1.475
造模第 1 天	18.75 $\pm$ 1.581	6.35 $\pm$ 1.780 [*]	7.45 $\pm$ 0.920 [*]	6.74 $\pm$ 1.872 [*]
造模第 2 天	18.78 $\pm$ 1.538	4.55 $\pm$ 1.407 [*]	4.94 $\pm$ 0.621 [*]	4.39 $\pm$ 0.930 [*]
造模第 3 天	18.60 $\pm$ 1.537	1.80 $\pm$ 0.632 [*]	2.34 $\pm$ 1.177 [*]	2.31 $\pm$ 0.603 [*]

与正常组比较, ^{*} $P < 0.05$, $n = 8$

表 2 针灸对 CTX 小鼠骨髓血细胞计数动态变化的影响 ($\bar{x} \pm s$)

天数	正常组	模型组	针刺组	艾灸组
1	14.61 $\pm$ 1.532	1.86 $\pm$ 0.637 [*]	7.11 $\pm$ 1.177 [*]	7.11 $\pm$ 0.603 [*]
2	13.81 $\pm$ 2.371	0.71 $\pm$ 0.780 [*]	1.06 $\pm$ 1.081 [*]	7.11 $\pm$ 1.089 [*]
3	12.36 $\pm$ 1.530	1.05 $\pm$ 1.760 [*]	5.75 $\pm$ 1.787 [*]	4.87 $\pm$ 1.194 [*]
4	13.35 $\pm$ 2.336	10.18 $\pm$ 1.078 [*]	14.06 $\pm$ 1.617 [*]	15.75 $\pm$ 1.331 [*]
5	12.18 $\pm$ 1.130	11.94 $\pm$ 1.760	11.95 $\pm$ 1.943 [*]	17.41 $\pm$ 1.996 [*]
6	14.25 $\pm$ 4.232	16.05 $\pm$ 2.498	18.11 $\pm$ 6.137 [*]	19.70 $\pm$ 10.406 [*]

与正常组比较, ^{*} $P < 0.05$, 与模型组比较, ^{*} $P < 0.05$, $n = 8$

2.4.3.2 分析方法 用 EnVision 法, 400 倍视野下每个片子随机采 5 个视野, 以 Image-Pro Plus 6.0 专业图像采集与分析系统采集阳性元素。由于 XPD 主要位于细胞核和细胞浆内, 因此本实验将细胞核、细胞质同时或仅有细胞核呈棕黄色或褐色颗粒判为阳性, 无着色为阴性。计算 5 个视野中阳性细胞数百分比的平均值, 以其平均值及染色强度综合记分作半定量分析判定代表 XPD 蛋白的表达水平。

2.4.4 统计方法 同“2.3.2”项。

2.4.5 结果 表 3 结果显示, 针灸可以大幅上调 XPD 蛋白的表达。其中针刺组、艾灸组第 3 天开始 XPD 蛋白的表达呈显著上升趋势, 第 5 天升高最高, 与模型组比均有显著性差异 ($P < 0.05$), 第 6 天才开始降低, 但相比于模型组增高显著 ($P < 0.05$); 模型组 XPD 蛋白表达变化不明显, 至第 4 天升至相对高点 (低于针刺组艾灸组), 然后逐渐回落。至第 6 天, 细胞修复基本完成, XPD 蛋白表达水平逐渐降低。针刺组、艾灸组比模型组提前 2 天开始, 延迟一天降低。

2.5 Western blot 检测 CTX 小鼠骨髓细胞 XPD 蛋白量

2.5.1 骨髓提取方法 同“2.4.1”项 (股骨和股骨取右侧)。

表 3 针灸对 CTX 小鼠骨髓细胞 XPD 蛋白表达(%)的动态影响(x $\pm$ s)

天数	正常组	模型组	针刺组	艾灸组
2	19.00 $\pm$ 3.011	12.78 $\pm$ 3.938	13.32 $\pm$ 3.746	8.90 $\pm$ 1.688 ^{***}
3	19.00 $\pm$ 3.378	12.77 $\pm$ 4.516	24.13 $\pm$ 7.319 ^{**}	21.08 $\pm$ 4.873 ^{**}
4	11.02 $\pm$ 9.136	14.56 $\pm$ 7.989	32.80 $\pm$ 12.981 ^{**}	26.81 $\pm$ 16.058 ^{**}
5	12.80 $\pm$ 2.000	12.63 $\pm$ 3.883	41.38 $\pm$ 15.334 ^{**}	40.73 $\pm$ 15.935 ^{**}
6	11.49 $\pm$ 4.089	12.31 $\pm$ 2.116	15.13 $\pm$ 1.884	26.794 $\pm$ 5.142 ^{**}
7	19.02 $\pm$ 2.800	6.41 $\pm$ 2.736 [†]	12.46 $\pm$ 3.378 [†]	12.27 $\pm$ 2.605 [†]

与正常组比较,[†]P<0.05,与模型组比较,[†]P<0.05,与针刺组比较,[†]P<0.05,a $\pm$ b

2.5.2 骨髓处理方法 用 0.9% 氯化钠溶液冲洗后在 75% 乙醇中浸泡 2min,再用 0.9% 氯化钠溶液冲洗,后用无菌眼科小剪刀在上端剪口,用一次性 7 号穿刺针穿入骨髓腔内,直至穿透到骨下端,用 5ml 注射器抽取 3.6ml 的 0.9% 氯化钠溶液注入骨髓腔,经 3 遍冲洗后收集冲洗液至 15ml 离心管内,吹打离散成单细胞悬液,注入冻存管内离心,再放入 -70℃ 冰箱保存,待测。后依此方法至第 6 天。

2.5.3 检测与分析方法

2.5.3.1 检测方法 Western blot 法:将 -70℃ 保存的组织取出,根据试剂盒进行操作,检测标本浓度。用 12% SDS-PAGE 凝胶电泳分离 90 min,转之用半干转膜 90 min,在含 5% 脱脂牛奶的 PBST 中,室温孵育 1h;加封闭液稀释的一抗(1:5000,4℃),室温 90 min;PBST 洗涤 5 min $\times$ 3 次,加封闭液稀释抗鼠 HRP 标记二抗(1:5000,室温)2h;PBST 洗涤 5 min $\times$ 3 次,加发光剂,经 X 胶片曝光,压片的 3min,显影。用凝胶图像分析系统进行胶片扫描并分析。

2.5.3.2 分析方法 将扫描图片后,保存到电脑文件中,用 ImageJ 分析图片条带的灰度值。首先计算目的蛋白的灰度值,并用其除以内参 GAPDH 的灰度值,进行误差校正,最后所得数值即代表了 XPD 蛋白的相对含量。

2.5.4 统计方法 同 2.3.2 项。

2.5.5 结果 表 4 结果显示,小鼠化疗后,XPD 蛋白高表达。从趋势上看,针刺组、艾灸组在第 3~6 天 XPD 蛋白表达量始终高于模型组,这与免疫组化的 XPD 蛋白表达趋势相一致,但无统计学意义,须进一步寻找原因,研究其规律性。艾灸组在第 2~5 天一直高于针刺组,但无统计学意义。

表 4 针灸对 CTX 小鼠骨髓细胞 XPD 蛋白量的影响(x $\pm$ s)

天数	正常组	模型组	针刺组	艾灸组
2	0.37 $\pm$ 0.248	0.34 $\pm$ 0.280 [†]	0.83 $\pm$ 0.340 [†]	0.67 $\pm$ 0.131
3	0.52 $\pm$ 0.315	0.32 $\pm$ 0.396	0.94 $\pm$ 0.4763	0.84 $\pm$ 0.206
4	0.58 $\pm$ 0.178	0.36 $\pm$ 0.429	0.81 $\pm$ 0.342	0.59 $\pm$ 0.408
5	0.65 $\pm$ 0.296	0.86 $\pm$ 0.295	1.39 $\pm$ 0.379 [†]	0.95 $\pm$ 0.247
6	0.97 $\pm$ 0.431	0.963 $\pm$ 0.202	1.031 $\pm$ 0.19	1.227 $\pm$ 0.356

与正常组比较,[†]P<0.05,a $\pm$ b

3 讨论

祖国医学尚无“骨髓抑制”的病名,根据疾病的前因、发病机制和临床表现,可归属于中医“虚劳”“虚损”范畴。本病多因正气虚损,复受化学药物“毒邪”所伤,最终导致脾胃不足,气血亏虚,生化乏源。喻·李中梓《医宗必读·虚劳》提到“夫人之虚,不属于气,即属于血,五脏六腑,莫能外焉。而最易虚者,水为万物之元,土为万物之母,二脏安和,一身皆治,百疾不生。”古人云:后天之治在于调补气血,先天之治在于调理阴阳,故治其本病应重视先后天同补同调。又根据“虚则补之”“劳则温之”的治疗

原则,可取大椎、膻俞、肾俞,足三里等穴行针刺及艾灸,以达到健脾益胃,补益气血,培精益髓,驱邪阳气的^[7]作用。

环磷酰胺的代谢产物烷化剂作用于 DNA 后,能够造成 DNA 分子间的链间交联而致扭曲,进而使 DNA 分子损伤^[8]。DNA 损伤修复基因可修复不同原因导致的 DNA 损伤,重塑 DNA 的正带双螺旋结构以维持遗传信息的相对稳定和完整性^[9]。其中与烷化剂所导致的 DNA 损伤紧密相关的有碱基切除修复(BER)和核苷酸切除修复(NER)途径^[10]。而 NER 的 DNA 修复途径最为多见^[11]。NER 途径可以解决多种 DNA 损伤,尤其能通过碱基修复,改善 DNA 扭曲状态,恢复正常螺旋结构^[12]。在 NER 修复损伤 DNA 片段的过程中,TFIIH(RNA 聚合酶的一种亚因子)起着至关重要的作用^[13],TFIIH 主要由 DNA 损伤修复基因 XPD、XPB 以及八个其它的蛋白质亚基一起组成^[14],真核细胞的 XPD 解旋酶是 TFIIH 的重要亚基,参与转录和核苷酸切除修复(NER)^[15]。其中 XPD 位于染色体 19q13.2~19q13.3^[16]上,是人类基础转录因子 TFIIH 复合物的组成部分,它依靠 ATP 按照 5'→3'的方向开启受损部位的 DNA 序列,是 NER 过程中不可或缺的一步^[17]。因此在 DNA 损伤修复中起着至关重要的中间桥梁的作用。

本研究结果证实,针灸减轻化疗后不良反应,改善 CTX 小鼠的骨髓抑制,增加外周血白细胞,与针灸增进骨髓细胞 DNA 修复有密切关系。本研究通过免疫组化法定性(半定量)、Western Blot 法定量,观察了针灸对环磷酰胺模型小鼠骨髓细胞 DNA 修复基因 XPD 蛋白表达的影响。结果显示,针灸可以上调化疗机体的 XPD 蛋白表达,启动核苷酸切除修复机制,促进损伤细胞 DNA 互补链的修复,较大程度的修复受损细胞 DNA,发挥其抗化疗药物损伤,改善骨髓抑制的作用。揭示了针灸保护骨髓造血功能,减轻骨髓抑制新的分子生物学机制。目前,肿瘤治疗过程中亟待解决的难题之一就是既要提高烷化剂对肿瘤的疗效,又要保护和增强正常细胞修复 DNA 烷化损伤的能力,提高对烷化剂的耐受,减少对正常组织的毒性,以帮助患者顺利完成化疗,提高生活质量,延长生存期,具有非常重要的意义。本项目研究为肿瘤临床化疗方案的制定提出了一个新的思路,即化疗的同时配合针灸疗法,会收到减毒增效的双重作用。

参考文献:

- [1] 孙德利,陈汉平,吴焕论,等. 针灸对小鼠造血功能的影响及其机制的探讨[J]. 针刺研究,1999,24(1):1206.
- [2] 张敬德,于 斌,陈 佳,等. 针刺治疗对卵巢早衰大鼠 P3K/Akt/mTOR 信号通路的影响[J]. 中国针灸,2015,35(1):53.
- [3] 徐定贵,方进峰,黄绍良,等. 环磷酰胺对小鼠骨髓造血干/祖细胞作用及机制研究[J]. 中国小儿血液与肿瘤杂志,2007-12(3):106.
- [4] 马培春,董洪玲,芮成来,等. 环磷酰胺损伤小鼠骨髓造血的机制[J]. 畜牧兽医学报,2007,21(4):352.
- [5] 于 彪. 中国兽医针灸学[M]. 北京:农业出版社出版,1984:209.
- [6] 毕兴邦. 大鼠穴位留针的研究[J]. 实验动物与动物实验,1990,(1):11.
- [7] 薛 斌,曹大明,赵立新,等. 针灸对环磷酰胺所致骨髓抑制小鼠骨髓细胞周期调节蛋白 Cyclin D1 表达及细胞周期的动态影响[J]. 中国中西医结合杂志,2011,31(2):238.
- [8] 周 雯,shC-CSP 对环磷酰胺致细胞减少促中小鼠脾脏基因转录组的影响[D]. 吉林大学博士学位论文,2014.
- [9] 赵欣楠,崔敬杰,赵 琳. DNA 损伤修复调控因子与肿瘤耐药的研究进展[J]. 现代肿瘤医学,2013,21(11):2608.

- [10] 陈一秋, 曹大明, 李益明, 等. 5-氟尿嘧啶 C1X 小鼠骨髓细胞 DNA 切除修复相关蛋白的调节 [J]. 中国药学, 2009, 29(14): 1821.
- [11] Kuper J, Bressan C, Elias A, et al. In T7H21, XPD helicase is exclusively devoted to DNA repair [J]. *PLoS Biol*, 2014, 12(9): e1001934.
- [12] Iwama T, Wilson DM 3rd. DNA repair mechanisms in dividing and non-dividing cells [J]. *DNA Repair (Amst)*, 2013, 12(10): 820.
- [13] Liu HT, Barloff J, Johnson KA, et al. Structure of the DNA repair helicase XPD [J]. *Cell*, 2008, 133(3): 601.
- [14] 曹一秋, 周平永, 吴晓明, 等. 核苷酸切除修复基因 XPD 及其 RNA 表达载体的构建及功能研究 [J]. 华中科技大学学报(医学版), 2010, 32(3): 343.
- [15] Vural P, Doganmircioglu S, Dogan - Akdemir S, et al. Genetic polymorphisms in DNA repair gene APE1, XRCC1 and XPD and the risk of paraneoplasia [J]. *Eur J Obstetric Gynecol Reprod Biol*, 2009, 146(2): 160.