论著

文章编号:1000-5404(2011)13-1318-05

电离辐射诱导小鼠小肠隐窝和绒毛的基因表达分析

程 晋[1*],王锋超[2*],孙慧勤[2],赵吉清[1],粟永萍[2],陈俊杰[3],邹仲敏[1] (400038 重庆,第三军医大学军事预防医学院:防化医学教研室[1],防原医学教研室,全军复合伤研究所,创伤、烧伤与复合伤国家重点实验室[2];Department of Experimental Radiation Oncology, Division of Radiation Oncology, The University of Texas MD Anderson Cancer Center,Houston 77030,TX,USA[3])

【摘要】 **目的** 通过基因表达的芯片分析方法,观察电离辐射引起的小鼠小肠上皮隐窝和绒毛基因表达的改变,探讨隐窝细胞的DNA损伤和修复、细胞周期调控的特点。**方法** 20只5周龄C57/BL6小鼠雄性20~22 g,随机分组,对照组不经电离辐照,处理组经12 Gy电离辐射全身照射后,于4、8、24 h分离小肠隐窝和绒毛上皮细胞,用cDNA表达谱芯片分别检测隐窝和绒毛基因表达的动态变化,对上调或下调的基因进行聚类分析,并重点对DNA损伤修复相关和细胞周期相关基因进行分析。**结果** 与对照组相比上调或下调2倍以上的基因($P<0.01$)经聚类分析被归属为各细胞信号通路,其中主要涉及p53通路、MAPK通路、凋亡、细胞周期以及免疫反应($P<0.05$),将P值排序发现p53通路、MAPK通路对隐窝的调控更为明显。各DNA修复途径代表基因在隐窝和绒毛中均有不同程度的上调表达,且与细胞周期的变化相一致。基因表达特点提示隐窝细胞以准确性高的方式(核苷酸外切修复、同源重组)进行DNA损伤修复,而绒毛细胞则以快速但易发生错误修复的方式(错配修复)恢复基因的完整性。**结论** 电离辐射诱导的DNA损伤反应与细胞分化程度相关,隐窝细胞对损伤更敏感。

【关键词】 电离辐射;小肠上皮;DNA损伤;细胞周期;信号通路

【中图法分类号】 R339.57;R322.45;R394.2 **【文献标志码】** A

Gene expression profiles in intestinal crypt and villus of mice after ionizing radiation injury

Cheng Jin[1], Wang Fengchao[2], Sun Huiqin[2], Zhao Jiqing[1], Su Yongping[2], Chen Junjie[3], Zou Zhongmin[1] ([1]Department of Chemical Defense, [2]Department of Radiation Medicine, College of Military Preventive Medicine, Third Military Medical University, Chongqing, 400038 China; [3]Department of Experimental Radiation Oncology, Division of Radiation Oncology, The University of Texas MD Anderson Cancer Center, Houston 77030, TX, USA)

【Abstract】 **Objective** To investigate ionizing irradiation (IR)-induced overall changes of gene expressions in small intestinal crypt and villus of mice by gene expression chip analysis, and the characteristics of genes relative to DNA damage repair and cell cycle regulation. **Methods** Twenty male C57/BL6 mice, 5-week-old and 20 to 22 g body weight, were randomly grouped. Experimental groups were sacrificed at 4, 8, and 24 h after a single dose of 12 Gy cobalt total body irradiation (TBI), followed by the separation of crypt and villus cells from small intestinal epithelium. Normal mice were taken as control. Dynamic changes of gene expressions were elucidated by cDNA expression microarray analysis. Upregulated and downregulated genes were subjected to cluster analysis, and the genes related with DNA damage repair and cell cycle were also analyzed. **Results** After IR treatment, the genes that were upregulated or downregulated for more than 2-folds ($P<0.01$) compared with control were grouped into different cell signal pathways by cluster analysis. These pathways were mainly related with p53, MAPK, apoptosis, cell cycle and immune response ($P<0.05$). Ranking by P value, we found that p53 and MAPK pathways exhibited more significant up-regulation in the crypt than those in the villus. Representative genes of different DNA repair pathways were up-regulated to

【基金项目】 国家自然科学基金(30828007),全军医学科研"十一五"计划国际合作项目(06H030)

*:同等贡献者

【通信作者】 邹仲敏,E-mail:zouzhmin@yahoo.com

陈俊杰,E-mail:jchen8@mdanderson.org

certain extent, which was coincident with the change of cell cycle. The characteristics of gene expression indicated high accurate homologous recombination, nonhomologous end joining, as well as nucleotide excision repair were the main DNA repair ways in crypt repair, however, rapid but error prone repair, mismatch repair was predominant in the villus for gene integrity maintenance. **Conclusion** IR-induced DNA damage response is related to cell differentiation status, and crypt cells are more sensitive to DNA damage.

[Key words] ionizing radiation; small intestinal epithelium; DNA damage; cell cycle; signaling pathway

Supported by the National Natural Science Foundation of China (30828007) and the Project of 'Eleventh Five-year Plan' of Medical Research Program of PLA (06H030). Corresponding authors: Zou Zhongmin, E-mail: zouzhmin@yahoo.com; Chen Junjie, E-mail: jchen8@mdanderson.org

内源性(如代谢毒物、DNA复制错误)或外源性伤害(如紫外线、电离辐射、致癌物等)会引起细胞DNA损伤,其中,电离辐射(ionizing irradiation,IR)作为一种基因损伤剂,主要造成DNA双链断裂(double-strand break,DSB)。DNA修复是细胞避免基因突变,维持基因组稳定的重要活动,其及时程度和准确性关系着细胞的存亡。成体干细胞对组织或器官的功能起着决定性作用,如若受损的成体干细胞未能进行有效的DNA修复或凋亡,其子代细胞可能发生突变癌变甚至死亡。

小肠干细胞是成体干细胞的代表,位于肠上皮隐窝下部,可逐渐增殖分化并向上移行,至绒毛处形成具有完整生物学功能的绒毛上皮细胞并最终在绒毛顶端生理性脱落。小鼠肠上皮细胞更新仅3~4 d,且分化线路清晰,因而成为研究成体干细胞分化、分化依赖的细胞和分子活动(包括DNA损伤修复)的理想模型[1]。因此,本实验以小鼠小肠为模型,研究成体干细胞的DNA损伤修复机制特点及其与细胞分化状态的关系。

1 材料与方法

1.1 主要试剂及仪器

用于消化肠上皮黏膜细胞的螯合剂[(mmol/L) KCl 1.5, NaCl 96, KH_2PO_4 8, Na_2HPO_4 5, 蔗糖44, 山梨糖醇55, EDTA 5, EGTA 5, pH=7.4。TRIzol试剂,牛血清白蛋白(Invitrogen公司),RNA纯化试剂盒(Qiagen公司),Poly-A RNA对照试剂盒,杂交对照试剂盒(Affymetrix公司),RNA酶抑制剂,DNA酶抑制剂,EDTA,山羊IgG,生物素化山羊抗链菌素抗体(Vector Laboratories),吐温-20,小鼠基因组430 2.0芯片、杂交炉640、质控站450、基因芯片扫描仪3000型(Affymetrix公司)。

1.2 实验方法

1.2.1 小肠隐窝和绒毛的洗脱分离 20只雄性5周龄C57/BL6小鼠体质量20~22 g(第三军医大学实验动物中心提供)随机分组。以正常未经辐照小鼠为对照,处理组经12 Gy(0.77 Gy/min)全身辐射后,于照后4、8、24 h颈椎脱臼处死($n=5$),剖腹取全段空肠分离隐窝和绒毛[2]。用4 ℃ PBS冲洗肠内容物,翻转小肠使黏膜面向外,切成2~3 cm的小段,浸于50 ml冰浴螯合剂离心管中,100 r/min振摇30 min。在低温条件(2~8 ℃)下翻转(≈50次/min)2 min,则悬液中含有绒毛和隐窝。吸出悬液,于新离心管中静置,约1.5 min后绒毛沉淀至管底而隐窝仍处悬浮状态,将悬浮液吸入另一离心管中,静置约5 min使隐窝沉淀。重复上述过程直至小肠上皮无洗脱物,得到隐窝和绒毛富集物。将富集的细胞团用10 ml 4 ℃ PBS重悬,50 μl悬液滴在载玻片上,光学显微镜观察。观察4倍视野下隐窝、绒毛细胞团的形态和数目。要求一个4倍视野条件下,富集的隐窝细胞团内绒毛细胞团碎片数目小于3个,富集的绒毛细胞团隐窝细胞团的数目小于3个。富集物用4 ℃ PBS洗涤2遍,300×g 4 ℃离心2.5 min收集细胞。

1.2.2 RNA的制备及质量鉴定 用TRIzol常规方法提取总RNA,测定RNA在$D(260)/D(280)$和$D(260)/D(230)$比值及样品浓度。经甲醛变性胶电泳检测RNA纯度及完整性好,$D(260)/D(280)\geq1.80$,总量≥15 μg,28 S∶18 S rRNA条带亮度大于或接近1∶1的样品经纯化后用于后续实验。

1.2.3 双链cDNA的合成及纯化 按照Affymetrix公司cDNA合成试剂盒说明书将纯化后的RNA反转录成cDNA并纯化。

1.2.4 合成生物素标记cRNA、纯化及片段化 按照Affymetrix公司提供的说明书用纯化后的cDNA合成生物素标记的cRNA并进行纯化,于cRNA中加入5×片段化缓冲液、RNAase-free水,将反应体系于94 ℃中温育35 min,使cRNA断裂为35-200 nt片段。

1.2.5 芯片杂交及扫描 平衡芯片至室温,向芯片中加入预杂交混合液,45 ℃、60 r/min旋转预杂交10 min。根据Affymetrix公司的说明书配制杂交液,99 ℃温育5 min,45 ℃温育5 min。吸出预杂交混合液,加入相应体积杂交液,将芯片水平放置于杂交炉中,45 ℃,60 r/min旋转杂交16 h。一个基因转录产物的探针为一个探针组,每个探针组由一系列探针对构成,每个探针对包括2条探针∶1条Perfect Match (PM),1条MisMatch (MM),MM和PM序列的区别为∶在MM的中央位置有一个单点突变,以扣除影响PM探针信号的交叉杂交等非特异性信号。每条探针长25 mer。PM和MM信号值由Affymetrix3000型基因芯片扫描仪进行扫描。

1.3 数据分析

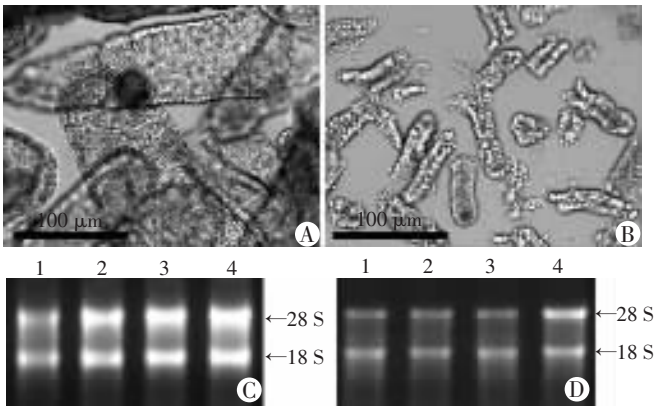
根据Affymetrix数据分析说明书用Wilcoxon's rank检验判断单张芯片上PM和MM值是否有差异进行检验。当0.06>P>

0.04认为该基因可能表达或不表达,即表达处于临界状态;当$P<0.04$认为该基因表达,$P>0.06$认为该基因不表达。计算各探针的信号值。利用Affymetrix® GeneChip® Operating SoftwareVersion1.4,筛选PM、MM值均未达到饱和(<46 000)的探针进入后续分析。于各辐照组中筛选较对照组基因表达上调或下调2倍以上的基因,采用Wilcoxon Signed Rank检验进行统计分析,仅当$P<0.01$时认为该基因表达上调,$P>0.99$时表达下调。上下调表达基因利用Cluster 3.0进行聚类分析。

2 结果

2.1 RNA提取和质量鉴定

本实验采用低温螯合消化和自然沉降的方法分离小肠隐窝和绒毛细胞,富集的绒毛结构显微镜照片,视野中均为保存完整的"指套"样绒毛结构,少见隐窝结构的存在;隐窝结构富集物的显微镜照片视野中多为保存完整的"毛虫"样的隐窝结构,混杂有少量破损的绒毛结构碎片,表明富集物结构完整,纯度满意。用TRIzol裂解方法提取总RNA,经甲醛变性胶电泳检测RNA纯度高、完整性好,$D(260)/D(280)\geq1.80$,28 S∶18 S rRNA条带亮度大于1∶1,满足后续实验要求。见图1。



A:分离的小肠上皮绒毛细胞;B:分离的小肠上皮隐窝细胞;C:提取自分离后的绒毛细胞RNA鉴定;D:提取自分离后的隐窝细胞RNA鉴定 1:4 h;2:8 h;3:24 h;4:对照组

图1 低温螯合法分离的隐窝和绒毛细胞及其来源的RNA的质量鉴定

2.2 电离辐射损伤后隐窝和绒毛细胞的反应特点及差异

2.2.1 总体数据描述 对隐窝和绒毛进行基因表达谱芯片分析,隐窝中共有约1200个表达序列标签(expressed sequence tags,ESTs)在至少一个时相点中出现了差异表达,表现为该基因上调或下调程度是对照组的2倍,与之相对应,绒毛中有约820个ESTs出现差异表达。

2.2.2 聚类分析结果 聚类分析将所有差异表达基因归为150条信号通路,一些基因由于在多条通路中均发挥作用而多次涉及。将各信号通路按P值由小至大排序,P53、MAPK、抗原加工及呈递等通路在各组中的排名均处前100位,且大多集中于前20位(表1)。其中,在隐窝部位,P53通路损伤4 h、24 h后排名第1位;而在绒毛部位,P53的调控是逐渐增强,由4 h时第8位上升至24 h时第1位。MAPK通路在各时间点中对隐窝的调控作用均强于绒毛,并且随损伤时间延长排名逐渐上升。

表1 小鼠小肠上皮电离辐射反应的主要相关通路

信号通路	P值排序					
	隐窝			绒毛		
	4 h	8 h	24 h	4 h	8 h	24 h
P53信号通路	1	11	1	8	3	1
MAPK信号通路	8	7	3	11	20	11
抗原加工及呈递	13	1	4	4	10	3
细胞黏附分子	4	2	5	9	15	6
细胞周期	9	61	6	7	1	28
细胞凋亡	49	15	82	18	82	99

2.2.3 基因本体的生物学归类分析 对差异表达基因进行基因本体(gene ontology, GO)的生物学归类,发现细胞饥饿应答和炎性创伤愈合是所有肠上皮细胞最主要的生物学表现($P<0.01$)。除此之外,隐窝细胞在IR后的表现以免疫应答、炎症应答为主,其次为细胞分化,各时间点间变化不明显。绒毛细胞的应激反应则更为多样。不同时间点均表现出炎症应答,4 h组的免疫应答较为明显,8 h组的细胞活动则主要与细胞周期、DNA复制相关,24 h组的细胞活动则涉及细胞分化调节、生化代谢等多个方面。

2.2.4 基因本体的分子学归类分析 对差异表达基因进行基因本体的分子学归类,可以看出除绒毛24 h组外,差异表达基因所编码的蛋白主要用于结合蛋白、ATP、DNA及核苷酸、锌离子。隐窝细胞中与免疫相关的基因有较强的差异表达,其次为编码蛋白酶的基因。绒毛细胞差异表达基因同样具有编码蛋白酶的功能,但免疫功能未涉及,4、8 h组有差异基因表现出DNA聚合酶活性。

2.2.5 差异表达基因的基因本体细胞学归类分析 对差异表达基因进行基因本体的细胞学归类,发现除绒毛24 h组外,其余组基因功能均与细胞核关系最为密切,隐窝组、绒毛4 h组中与免疫功能相关基因排名第二。绒毛8 h组中有基因与染色体复制相关。

2.2.6 DNA损伤修复相关基因的表达分析 DNA损伤修复相关的差异表达基因分以下两类:①凋亡相关:Trp53inp1在隐窝和绒毛各辐照组中的表达较对照均显著增强($P<0.01$),且4、8 h组强于24 h组,说明p53对核的调控主要发生在IR损伤早期。O-6甲基鸟嘌呤-DNA甲基转移酶(O-6-methylguanine-DNA methyltransferase, Mgmt)在隐窝各时相点中表达显著上调($P<0.01$)。②修复相关:辐射敏感基因51(radiation sensitive 51,Rad51)在隐窝24 h和绒毛8h表达上调($P<0.01$)。切除修复交叉互补基因1(excision repair cross2comp lementation group 1, Ercc1)在隐窝4、8 h表达显著上调($P<0.01$)。多聚(ADP-核糖)聚合酶3(poly (ADP-ribose) polymerase 3, Parp3)在绒毛各时相点中显著上调($P<0.01$),DNA指导的聚合酶[polymerase (DNA-directed) 3, Pold3]、错配修复msh6(mutS homolog 6,Msh6)、减数分裂后分离增强蛋白(postmeiotic

segregation increased, Pms)在绒毛4、8 h时上调明显($P<0.01$)。X线修复交叉互补5(X-ray repair crossing complementing 5, Xrcc5)在检测结果中并未表现出显著差异,但在隐窝和绒毛部位损伤后4~24 h呈逐渐上调的趋势;且相比之下,隐窝在受损伤后Xrcc5的上调程度更强,尤其在8 h和24 h时,表达水平升高已接近2倍。此外,另一与DNA修复相关的基因Polk在除绒毛24 h组外均显著上调($P<0.01$)。

3 讨论

电离辐射可导致细胞DNA等生物大分子的损伤,尤其是DNA双链断裂,这可能是机体细胞在IR损伤后凋亡的机制之一。肠上皮细胞有着明确的分化路径,隐窝中含有干细胞和处于分化早期的细胞,以及潘氏细胞和分泌细胞等;绒毛中则富含具有成熟生物学功能的吸收细胞及杯状细胞。隐窝和绒毛两部分既有细胞增殖分化的连续过渡,也有形态学和功能上易于分辨的各自特点,是研究IR对不同分化阶段细胞作用的理想模型。

聚类分析结果显示,受IR辐射后,与对照组相比,差异表达的基因被归属为以下几大类信号通路:①凋亡相关,包括P53、MAPK,凋亡等通路;②细胞相关,包括细胞周期、Wnt等通路;③免疫反应相关,包括抗原加工和呈递、细胞黏附、T细胞、B细胞受体等通路;④生化代谢与分子生物学相关,包括脂肪酸代谢、糖代谢、氨基酸代谢、三羧酸循环、药物代谢、RNA多聚酶等通路;⑤肿瘤相关,包括急性髓性白血病、膀胱癌、小细胞肺癌等通路;⑥DNA损伤修复相关,如核苷酸外切修复等通路。各信号通路P值排序结果说明在受IR损伤后,肠上皮细胞的主要活动涉及凋亡、细胞周期改变和免疫反应。

p53的促凋亡作用已被大量研究所证实,而最近研究发现,p53能在质量上保证DNA复制的忠实度,数量上避免多倍体生成,进而维持基因组稳定[3],这被看作p53抑癌的新机制。p53还参与细胞周期调节。DNA受损细胞若进入细胞周期,可能由于细胞分裂时染色体向两极移动不同步、染色体断裂、染色体桥接等阻断胞质分裂,而在p53缺失情况下,p53依赖的有丝分裂后期细胞周期检控点通路无法激活,导致胞质分裂失败的细胞成为多倍体[4]。在小肠中,p53的作用更倾向于作为细胞存活因子,通过阻断细胞周期使细胞存活[5]。MAPK通路也与细胞凋亡密切相关。本研究发现,IR损伤发生后,p53通路相关基因表达迅速发生变化,说明p53通路是肠上皮对IR损伤最主要的应答方式。而与绒毛细胞相比,隐窝细胞p53、MAPK依赖的调控更为明显,说明隐窝细胞在受损伤的情况下更易发生凋亡或细胞周期停滞。

DNA损伤修复相关基因的作用主要涉及凋亡、结合损伤DNA、各种修复途径等。Trp53inp1、Mgmt基因均参与细胞凋亡[6]。Trp53inp1的表达受p53介导,具有凋亡感应、细胞周期停滞、应激反应的作用[7-8]。作为p53通路的代表基因之一,Trp53inp1在隐窝和绒毛中的广泛表达,说明该基因是影响p53通路发挥DNA损伤调节作用的主要因素之一,且调控作用主要体现在早期。Mgmt基因编码的MGMT蛋白主要参与DNA碱基烷基化损伤的修复,包括碱基外切修复(Base Excision Repair, BER)、错配修复(Mismatch Repair, MMR),同时也在修复DNA交联中发挥作用,有抵御突变、抑癌、抗凋亡等作用[9],其在隐窝中表达上调,说明在隐窝中,多种调节方式相互诱导或制约,共同决定隐窝细胞的存活、凋亡或癌变。

DNA损伤修复途径包括以下几类:①BER,以Parp3为代表;②核苷酸外切修复(Nucleotide Excision Repair, NER),以Ercc1为代表;③MMR,以Pold3、Msh6、Pms为代表;④同源重组修复(homologous recombination, HR),以Rad51为代表;⑤非同源末端连接(non-homologous end joining, NHEJ),以Xrcc5为代表;其中前三者主要针对单链断裂或小的损伤,而HR和NHEJ是双链DNA修复的主要途径,可同时参与损伤修复,但在不同时间及不同因素引起的修复过程中存在差异[10]。HR是一种以同源DNA为模版的无误修复,NHEJ则是一种快速修复,发生突变的概率也较大,常称为易错修复。Rad51已被证实可通过HR途径增强哺乳细胞对IR损伤的抵抗力,但也有研究发现,Rad51的过表达会造成非整倍体和多倍体染色质重排,诱发肿瘤[11-12],沉默Rad51的肿瘤细胞对辐照和化学物的敏感性增高[13],因此,Rad51基因在隐窝和绒毛损伤中后期的显著上调可能是一把双刃剑[14],说明HR在损伤中后期参与DNA修复,但在修复的同时也有癌变的可能。P53蛋白可通过结合rad51基因启动子抑制Rad51的转录[15],而胞外信号调节蛋白激酶(extra cellular-signal regulation protein kinase, ERK)的激活可以促进Rad51的表达[16]。DNA损伤后,我们观察到p53和ERK蛋白都有显著激活,两者可能精细调控Rad51的表达水平,决定DNA受损的细胞或凋亡或进行DNA修复。Xrcc5可编码Ku80蛋白,后者作为DNA依赖的蛋白激酶的调节亚单位在NHEJ修复中发挥重要作用,其缺失和活性的改变可能使未修复的DNA继续复制,进而引起肿瘤发生[17]。Xrcc5的

变化说明,损伤中后期,NHEJ 与 HR 同时作用,但 NHEJ 更可能作为 HR 的辅助方式参与修复。这两种 DSB 的修复方式在隐窝中表现更为显著,而绒毛的修复则相对缓和。在隐窝损伤前中期(4、8 h),Ercc1 的表达显著上调,但上调程度较 Rad51 低。由于 NER 不特异识别碱基损伤,而是识别双螺旋形状的改变,修复阻断基因转录的含损伤碱基的那段 DNA[18],是一种非特异性的修复方式。所观察到Ercc1 在 IR 损伤后早期的上调提示隐窝细胞在进行全面的 HR 之前,可在前期先通过 NER 进行快速修复。与 MMR 途径的相关基因 Pold3、Msh6、Pms,除 Pold3 在绒毛损伤 8 h 时上调不显著外,其余在绒毛损伤前期和中期均显著上调,提示绒毛的修复不准确,易发生错配,但这种修复能够尽可能地维持细胞的生命活动,使绒毛细胞存活。Parp3 基因主要参与 BER 修复,调节细胞增生、分化和从 DNA 损伤中恢复。该基因除在隐窝 4 h 组中无显著差异外,其余组表达均下调,且隐窝 8 h 下调明显,24 h 时下调幅度明显缩小,说明 BER 不是小肠上皮,尤其不是隐窝的主要修复途径,随时间推移,隐窝 DNA 从损伤中逐渐恢复,而绒毛在整个修复过程中均不敏感。以上修复方式和时间的不同可能与隐窝和绒毛细胞各自特点有关,因为隐窝中包含小肠干细胞,HR 是保证子代细胞基因组稳定的前提;而绒毛细胞的主要作用则是维持粘膜上皮的完整性及其它生理功能,对子代细胞基因组稳定性要求并不高,因而决定了绒毛细胞需要更快而非准确修复 DNA。

综上所述,本研究对小肠上皮在 IR 损伤后,隐窝和绒毛细胞基因表达的整体变化进行了研究,发现隐窝和绒毛细胞在凋亡、细胞周期、生化代谢、免疫、DNA 修复等方面均作出应答,隐窝较绒毛更敏感、应答更迅速,p53 通路在隐窝的应答中起主要作用。隐窝和绒毛在 DNA 修复方式及发生时间上也存在差异,隐窝在损伤 4 ~ 8 h 快速启动 NER 途径,24 h 时进行 HR 和 NHEJ 修复;绒毛 4 ~ 8 h 主要是 MMR 途径,24 h 也有 HR 途径,但程度较弱。隐窝细胞要求 DNA 损伤修复的准确性,而绒毛细胞则要求快速恢复基因的完整性,即使以错误修复为代价。

参考文献:

[1] Wei B, Chen L, Li R, *et al*. Stem cells in gastrointestinal cancers: a matter of choice in cell fate determination[J]. Expert Rev Anticancer Ther, 2010, 10(10): 1621 - 1633.

[2] Wang F, Wang F, Zou Z, *et al*. Active deformation of apoptotic intestinal epithelial cells with adhesion-restricted polarity contributes to apoptotic clearance[J]. Lab Invest, 2011, 91(3): 462 - 471.

[3] Talos F, Moll U M. Role of the p53 family in stabilizing the genome and preventing polyploidization[J]. Adv Exp Med Biol, 2010, 676: 73 - 91.

[4] Chow J, Poon R Y. DNA damage and polyploidization[J]. Adv Exp Med Biol, 2010, 676: 57 - 71.

[5] Gudkov A V, Komarova E A. Pathologies associated with the p53 response[J]. Cold Spring Harb Perspect Biol, 2010, 2(7): a001180.

[6] Lavon I, Fuchs D, Zrihan D, *et al*. Novel mechanism whereby nuclear factor kappaB mediates DNA damage repair through regulation of O(6)-methylguanine-DNA-methyltransferase[J]. Cancer Res, 2007, 67(18): 8952 - 8959.

[7] Tomasini R, Samir A A, Carrier A, *et al*. TP53INP1s and homeodomain-interacting protein kinase-2 (HIPK2) are partners in regulating p53 activity[J]. J Biol Chem, 2003, 278(39): 37722 - 37729.

[8] Gommeaux J, Cano C, Garcia S, *et al*. Colitis and colitis-associated cancer are exacerbated in mice deficient for tumor protein 53-induced nuclear protein 1[J]. Mol Cell Biol, 2007, 27(6): 2215 - 2228.

[9] Kaina B, Christmann M, Naumann S, *et al*. MGMT: key node in the battle against genotoxicity, carcinogenicity and apoptosis induced by alkylating agents[J]. DNA Repair (Amst), 2007, 6(8): 1079 - 1099.

[10] Schonn I, Hennesen J, Dartsch D C. Ku70 and Rad51 vary in their importance for the repair of doxorubicin-versus etoposide-induced DNA damage[J]. Apoptosis, 2011, 16(4): 359 - 369.

[11] Richardson C, Stark J M, Ommundsen M, *et al*. Rad51 overexpression promotes alternative double-strand break repair pathways and genome instability[J]. Oncogene, 2004, 23(2): 546 - 553.

[12] Schild D, Wiese C. Overexpression of RAD51 suppresses recombination defects: a possible mechanism to reverse genomic instability[J]. Nucleic Acids Res, 2010, 38(4): 1061 - 1070.

[13] Du L Q, Wang Y, Wang H, *et al*. Knockdown of Rad51 expression induces radiation- and chemo-sensitivity in osteosarcoma cells[J]. Med Oncol, 2010, doi: 10.1007/s12032 - 010 - 9605 - 1.

[14] Klein H L. The consequences of Rad51 overexpression for normal and tumor cells[J]. DNA Repair (Amst), 2008, 7(5): 686 - 693.

[15] Arias- Lopez C, Lazaro - Trueba I, Kerr P, *et al*. p53 modulates homologous recombination by transcriptional regulation of the RAD51 gene[J]. EMBO Rep, 2006, 7(2): 219 - 224.

[16] Ko J C, Su Y J, Lin S T, *et al*. Suppression of ERCC1 and Rad51 expression through ERK1/2 inactivation is essential in emodin- mediated cytotoxicity in human non- small cell lung cancer cells[J]. Biochem Pharmacol, 2010, 79(4): 655 - 664.

[17] Freitas A A, Vasieva O, de- Magalhaes J P. A data mining approach for classifying DNA repair genes into ageing- related or non- ageing-related[J]. BMC Genomics, 2011, 12: 27.

[18] 郝萍, 赵伟鹏, 刁鑫伟, 等. 人非小细胞肺癌与外周血淋巴细胞表达 ERCC1 的相关性研究[J]. 第三军医大学学报, 2009, 31(12): 1201 - 1204.

(收稿:2010-12-25 修回:2011-04-06)

(编辑 栾 嘉)