

人剪切修复基因着色性干皮病基因 D 对人脐静脉内皮细胞的促凋亡作用

张南, 李菊香, 丁浩, 洪葵, 吴清华, 程晓曙

(南昌大学第二附属医院心内科 江西省分子医学重点实验室, 江西省南昌市 330006)

[关键词] 剪切修复基因 XPD; 人脐静脉内皮细胞; 细胞凋亡

[摘要] **目的** 探讨人剪切修复基因着色性干皮病基因 D (XPD) 对人脐静脉内皮细胞 (HUVEC) 的促凋亡作用。**方法** 用脂质体转染法瞬时转染 HUVEC, 转染重组质粒 pEGFP-N2/XPD 和空载质粒 pEGFP-N2, 并用未转染的与重组质粒 pEGFP-N2/XPD 和空载质粒 pEGFP-N2 具有相同遗传背景和代数的 HUVEC 作为空白对照。实验分为 3 组: 正常对照组、pEGFP-N2 组和 pEGFP-N2/XPD 组。用荧光显微镜观察绿色荧光蛋白报告基因表达情况, 用流式细胞仪检测细胞凋亡情况, 用 RT-PCR 和 Western Blot 检测 XPD、Bcl-2、Bax 和 wt-p53 表达量的变化, 用 MTT 法观察细胞增殖活力。**结果** 在荧光显微镜下, 可在转染了重组质粒 pEGFP-N2/XPD 或空载质粒 pEGFP-N2 的细胞中观察到绿色荧光, 即转染成功; 流式细胞仪结果显示, 重组质粒 pEGFP-N2/XPD 的转染引起细胞凋亡增加 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); RT-PCR 和 Western Blot 检测发现, 重组质粒 pEGFP-N2/XPD 的转染使得 XPD 表达增高 ($P < 0.05$), 同时使得 Bcl-2 表达降低, Bax 和 wt-p53 表达增高 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); MTT 结果显示, 重组质粒 pEGFP-N2/XPD 的转染抑制细胞增殖活力 ($P < 0.05$)。 **结论** XPD 能促进 HUVEC 凋亡, 下调 XPD 的表达, 有望成为治疗动脉粥样硬化的一个新靶点。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

The Promoting Effects of Xeroderma Pigmentosum D Gene on Proliferation of Human Umbilical Vein Endothelia Cells

ZHANG Nan, LI Ju-Xiang, DING Hao, HONG Kui, WU Qing-Hua, and CHENG Xiao-Shu

(Department of Cardiology, the Second Affiliated Hospital of Nanchang University & Jiangxi Provincial Key Laboratory of Molecular Medicine, Nanchang, Jiangxi 330006, China)

[KEY WORDS] Xeroderma Pigmentosum D; Human Umbilical Vein Endothelial Cell; Cell Apoptosis

[ABSTRACT] **Aim** To investigate pro-apoptosis effects of xeroderma pigmentosum D (XPD) gene on human umbilical vein endothelia cells (HUVEC). **Methods** Recombinant plasmid pEGFP-N2/XPD and vacant vector plasmid pEGFP-N2 were transiently transfected into HUVEC by liposome 2000 method, with the same genetic background and algebra HUVEC as blank controls. The experiments were divided into three groups: control group, pEGFP-N2 group and pEGFP-N2/XPD group. The expression of green fluorescent protein was observed through fluorescence microscopy; the cell apoptosis rate was examined by flow cytometry; through RT-PCR and Western Blot, the expression levels of XPD, Bcl-2 and Bax and wt-p53 were detected; the cell growth was detected by MTT. **Results** Green fluorescences were observed in the cells transfected with pEGFP-N2/XPD or pEGFP-N2, indicating that the plasmids were transfected successfully. Flow cytometry results showed that overexpression of XPD increased the apoptotic rate of HUVEC ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). RT-PCR results and Western Blot results showed that the transfection of pEGFP-N2/XPD increased the expression of XPD, Bax and wt-p53 ($P < 0.05$), decreased the expression of Bcl-2 ($P < 0.05$); MTT results showed that the transfection of pEGFP-N2/XPD inhibited the cell growth ($P < 0.05$). **Conclusions** XPD gene can promote HUVEC apoptosis. Therefore, down-regulating the expression of XPD gene is likely to be potential molecular target for treatment of atherosclerosis.

[收稿日期] 2011-05-06

[作者简介] 张南, 硕士研究生, 研究方向为内皮细胞凋亡与动脉粥样硬化, E-mail 为 397822478@qq.com。通讯作者李菊香, 博士, 主任医师, 教授, 硕士研究生导师, 研究方向为心律失常、腔内电生理等, E-mail 为 ljx912@126.com。丁浩, 博士研究生, 研究方向为信号通路与心血管疾病, E-mail 为 24055886@qq.com。

动脉粥样硬化(atherosclerosis, As)是心脑血管疾病的独立危险因素^[1],有着较高的致病率和致死率。近年来发现As斑块中存在着多种细胞的凋亡与坏死,如内皮细胞、平滑肌细胞、巨噬细胞,而凋亡占其主导地位^[2]。内皮细胞凋亡在As的发病中起着重要作用^[3]。内皮细胞凋亡可致内皮细胞数量减少而使单层内皮通透性增加,内皮完整性的破坏促进脂质迁移和沉积,单核细胞和平滑肌细胞迁移至内膜,进一步损伤血管和促进斑块形成^[4,5]。

人剪切修复基因着色性干皮病基因D(xeroderma pigmentosum D, XPD)位于19q13.2-3,包含23个外显子,编码一个具有ATP依赖的5'→3'DNA解螺旋酶活性的蛋白,是转录因子IIH(TFIIH)的一个组份,XPD的主要作用是维持TFIIH复合物的结构稳定,并促进转录活性的放大^[6,7]。大量研究发现,XPD除了在TFIIH介导的核苷酸切除修复和转录过程中发挥主要作用外,还参与细胞的增殖、凋亡、肿瘤的发生甚至化疗药物抗药性的产生等多种生理及病理机制^[8,9]。有研究表明,XPD基因不仅能抑制肝癌细胞生长,促进肝癌细胞凋亡^[10],对胆管癌细胞亦有促凋亡作用^[11]。

XPD基因可抑制肿瘤细胞的生长,促使其凋亡,对于血管内皮细胞的作用国内还未见相关的报道。通过预实验,发现XPD基因可以在血管内皮细胞中表达。为此,本研究将重组质粒pEGFP-N2/XPD转染人脐静脉内皮细胞(HUVEC)使得XPD高表达,然后观察HUVEC转染前后的生物学变化,探讨XPD对HUVEC生长的影响。

1 材料和方法

1.1 细胞株及重组质粒来源

HUVEC细胞株购自南京凯基生物科技发展有限公司(Cat. No.: KG-110);重组质粒pEGFP-N2/XPD和空载质粒pEGFP-N2由南昌大学第二附属医院消化疾病研究所张吉翔教授惠赠,pEGFP-N2/XPD已通过PCR反应、酶切及基因测序三重鉴定。

1.2 主要试剂

培养基RPMI1640和胎牛血清(FBS)购自Hyclone;脂质Lipofectamine™2000和Trizol™购自Invitrogen(Cat. No. 15596-026);MTT购自上海普飞生物技术有限公司;DMSO购自Amresco;Annexin V-FITC细胞凋亡检测试剂盒购自南京凯基生物科技公司;逆转录试剂盒购自Fermentas;2×Taq PCR MasterMix购自天根生物技术有限公司;引物由In-

vitrogen Biotech合成;单克隆抗体XPD(货号SC-20696)、Bcl-2(货号SC-492)、Bax(货号SC-526)、wt-p53(货号SC-6243)和β-actin(货号SC-47778)购自Santa Cruz;二抗辣根过氧化物酶IgG购自北京中杉金桥公司。

1.3 细胞培养

将HUVEC置于含10%胎牛血清的RPMI1640培养基中,37℃、5% CO₂的条件下孵箱(Forma Scientific Inc, USA)中培养,以0.25%胰蛋白酶消化,2~3天传代一次。

1.4 质粒转染

实验设3组,每组2孔,分别为无转染空白对照组(HUVEC)、空载质粒转染细胞组(HUVEC-pEGFP-N2)及重组质粒转染细胞组(HUVEC-pEGFP-N2/XPD)。以2×10⁵个/孔的密度将细胞铺于6孔板内,24h后细胞融合率约为90%,质粒每孔4.0 μg,脂质体每孔10 μL介导转染。转染6h后换有血清的培养基培养。40h后在荧光显微镜下观察,荧光显微镜激发光波长395 nm,观察pEGFP释放波长为508 nm的绿色荧光。

1.5 流式细胞仪检测细胞凋亡率

按试剂说明书进行,主要步骤为:用胰酶消化收集细胞,PBS洗涤细胞2次,再用500 μL Binding buffer悬浮细胞,分别加入Annexin V-FITC和PI各5 μL,室温,避光,反应5~15 min,在1h内进行流式细胞仪的观察和检测。

1.6 RT-PCR检测各基因mRNA表达水平

使用Trizol试剂提取各组细胞总RNA,按照Fermentas逆转录试剂盒说明合成cDNA。根据GenBank中公布的人类XPD mRNA序列、人类Bax mRNA序列、人类wt-p53 mRNA序列、人类Bcl-2 mRNA序列以及人类β-actin mRNA序列,应用Primer 5.0软件设计引物,由Invitrogen Biotech(上海)公司合成。各引物序列见表1。

PCR反应体系:cDNA 500 ng,上、下游引物各1 μL,2×Taq PCR MasterMix 12.5 μL,补去离子水至终体积25 μL。按下列条件进行扩增:预变性,1个循环,94℃ 5 min;PCR反应,35个循环,94℃ 40 s,退火40 s,72℃ 50 s;延伸,72℃ 8 min。退火温度:XPD 53℃,Bcl-2 57℃,Bax 54℃,wt-p53 57℃,β-actin 55℃。取5 μL PCR产物进行1.5%琼脂糖凝胶(含溴乙锭5 mg/L)电泳,用UV暗箱式紫外透射仪观察电泳结果并拍照。结果用BANDLEAD软件,以目的条带/β-actin的灰度值进行统计学分析。

表 1. 各引物序列情况

Table 1. Each primer sequences

基 因	引物序列	产物长度
XPD 正义	5'-TCTGCCTCTGCCCTATGAT-3'	363 bp
	5'-CGATTCCCTCGGACACTTT-3'	
Bcl-2 正义	5'-AAGCCGGCGACGACTTCT-3'	258 bp
	5'-GGTGCCGTTTCAGTACTCA-3'	
Bax 正义	5'-GGATGCGTCCACCAAGAA-3'	386 bp
	5'-GCACTCCCGCCACAAAGA-3'	
wt-p53 正义	5'-CTACAAGCAGTCACAGCACATGAC-3'	551 bp
	5'-TCATTCAGCTCTCGGAACATCTCG-3'	
β -actin 正义	5'-AGCGAGCATCCCCCAAAGTT-3'	285 bp
	5'-GGGCACGAAGGCTCATCATT-3'	

1.7 Western Blot 检测各基因蛋白表达水平

使用总蛋白抽提试剂盒内的相应试剂蛋白裂解液与蛋白抽提液提取三组细胞的总蛋白,使用全自动生化分析仪(Beckman, USA)测定蛋白质浓度,取相同量上样于 10% 聚丙烯酰胺凝胶进行电泳,继而转移蛋白于硝酸纤维素膜上,将膜置于含 5% 脱脂奶粉的 TBST 中室温下摇床上摇动封闭 2 h,膜分别用 XPD、Bcl-2、Bax、wt-p53 和 β -actin 的一抗(1:200 稀释)孵育,4℃ 过夜,用 TBST 洗膜 3 × 10 min,二抗以 1:2000 稀释于含 5% 脱脂奶粉的 TBST 中孵育 2 h,用 TBST 洗膜 3 × 10 min,用辣根过氧化物酶 HRP-ECL 发光法显色。结果用 LabWork3.0 UVP 软件,以目的条带/ β -actin 的灰度值进行分析。

1.8 MTT 检测细胞增殖活力

转染前 1 天胰酶消化收集细胞,接种于 96 孔板(每组 6 孔),细胞密度为每孔 1×10^4 个,并设置一调零孔(只加培养基),转染 6 h 后换液,48 h 后每孔加入 MTT 溶液 20 μ L(5 g/L 溶于 PBS 磷酸盐缓冲液),37℃ 孵育 4 h 后,弃上清液,再每孔加入 150 μ L

DMSO,避光振荡 10 min,酶标仪(Labstems, 芬兰)测定 492 nm 处各孔吸光度(A)值,间接反映各组活细胞数量。取每孔吸光度(A)值的平均值,计算细胞存活率,细胞存活率 = (A 实验组/A 对照组) × 100%。

1.9 统计学处理

实验均重复 3 次。数据采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,应用 SPSS 13.0 统计学软件建立数据库,采用单因素方差分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 质粒转染成功的鉴定

pEGFP-N2 载体在其多克隆位点后带有绿色荧光蛋白报告基因。因此,将重组质粒 pEGFP-N2/XPD 和空载质粒 pEGFP-N2 转染入 HUVEC 后,在荧光显微镜下可观察到细胞中绿色荧光蛋白的表达,而未转染质粒的细胞则未见绿色荧光(图 1)。这表明质粒均转染成功。

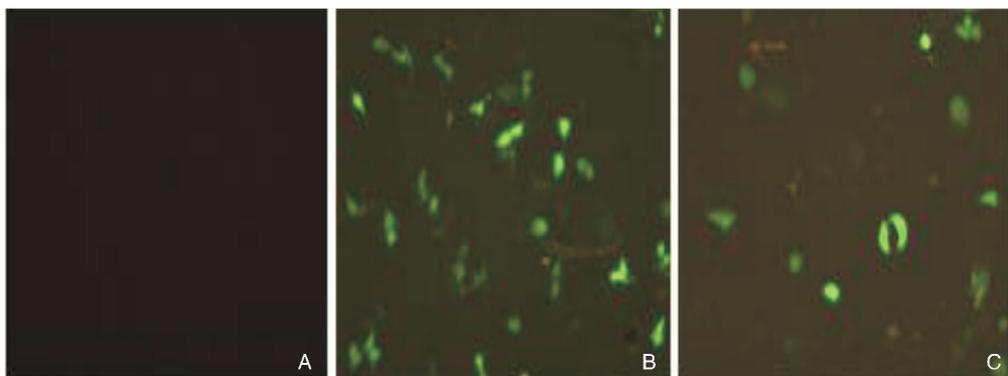


图 1. 质粒转染后荧光显微镜的检测结果 A 为空白对照组,B 为 pEGFP-N2 组,C 为 pEGFP-N2/XPD 组。

Figure 1. The result of fluorescence microscope after plasmid transfection

2.2 pEGFP-N2/XPD 转染对细胞凋亡率的影响

空白对照组凋亡细胞的比例为 0.24%, pEGFP-N2 组凋亡细胞的比例为 0.37%, pEGFP-N2/XPD 组凋亡细胞的比例为 16.43%, 与空白对照组及

pEGFP-N2 组相比, pEGFP-N2/XPD 组细胞凋亡率明显增多 ($P < 0.01$); 而空白对照组与 pEGFP-N2 组之间相比差异无统计学意义 ($P > 0.05$; 图 2)。

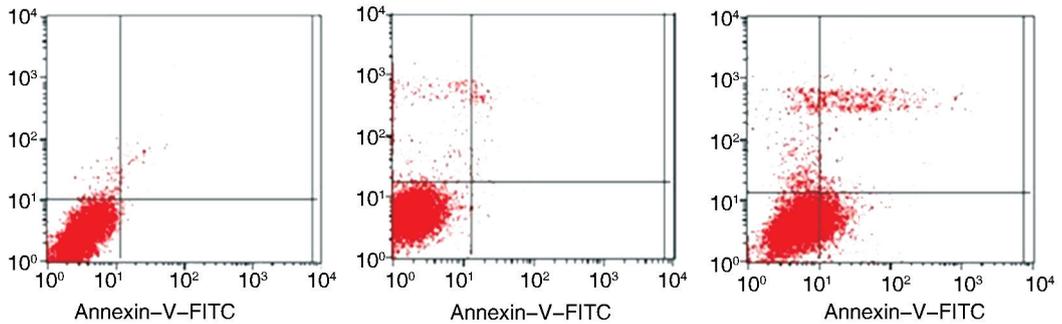


图 2. XPD 高表达促进 HUVEC 凋亡 左为空白对照组, 中为 pEGFP-N2 组, 右为 pEGFP-N2/XPD 组。

Figure 2. Overexpression of XPD increased the apoptotic rate of HUVEC

2.3 pEGFP-N2/XPD 转染 HUVEC 的 XPD、Bax、wt-p53 和 Bcl-2 mRNA 表达水平

pEGFP-N2/XPD 的转染明显增加了 XPD mRNA 的表达 ($P < 0.01$); 与空白对照组及 pEGFP-N2 组相比, pEGFP-N2/XPD 组 Bax、wt-p53 mRNA 的表达明显增多 ($P < 0.05$), Bcl-2 mRNA 的表达明显减少 ($P < 0.01$); 而空白对照组与 pEGFP-N2 组之间相比差异无统计学意义 ($P > 0.05$; 图 3)。

2.4 pEGFP-N2/XPD 转染 HUVEC 的 XPD、Bax、wt-p53 和 Bcl-2 蛋白表达水平

pEGFP-N2/XPD 的转染明显增加了 XPD 蛋白的表达 ($P < 0.05$); 与空白对照组及 pEGFP-N2 组相比, pEGFP-N2/XPD 组 Bax 和 wt-p53 蛋白的表达明显增多 ($P < 0.05$), Bcl-2 蛋白的表达明显减少 ($P < 0.01$); 而空白对照组与 pEGFP-N2 组之间相比差异无统计学意义 ($P > 0.05$; 图 4)。

2.5 pEGFP-N2/XPD 转染对 HUVEC 增殖活力的影响

空白对照组、pEGFP-N2 组及 pEGFP-N2/XPD 组 A 值分别为 0.682 ± 0.033 、 0.654 ± 0.030 和 0.357 ± 0.024 , pEGFP-N2 组及 pEGFP-N2/XPD 组的存活率分别为 95.89% 和 52.35%。这一结果表明 pEGFP-N2/XPD 组的细胞存活率明显低于 pEGFP-N2 组 ($P < 0.05$), 进一步说明 XPD 基因可促进内皮细胞凋亡。

3 讨论

内皮细胞 (endothelial cell, EC) 覆盖于全身的血管腔面, 在维持机体内环境稳定中发挥着重要作

用。各种危险因素引起内皮衰老和凋亡所致的内皮功能障碍是 As 疾病的标志^[12,13]。Banfi 等^[14]研究发现, 血管内皮细胞凋亡可引发血管调节功能失衡, 促进血管平滑肌细胞的增殖、迁移; 且认为血管内皮细胞凋亡是 As 发生的一个始动因素。内皮细胞的凋亡与 As 的发生与发展密切相关, 保护血管内皮对减缓 As 的进展至关重要。

TF II H 是一个由 9 个亚基 (XPB、XPD、p62、p52、p44、p34、cdk7、cyclinHT 和 MAT1) 组成的多酶复合物, XPD 作为一个支架, 介导着复合物内部的连接^[7]。XPD 基因的突变与三种人类遗传性疾病相关, 分别是着色性干皮病、Cockayne 综合症和毛发硫性营养不良^[15,16]。XPD 具有单链 DNA 解旋酶活性, 参与了核酸剪切修复, 它的功能缺陷可导致突变的基因不能得到有效的修复, 同时也会影响一些癌基因和抑癌基因的功能, 从而促使肿瘤的发生^[17]。目前有研究发现, XPD 基因能抑制肝癌细胞生长, 促进肝癌细胞凋亡^[9]。

XPD 是哺乳动物基本 TH II IH 核心成分之一, 参与基因转录、核苷酸切除修复 (NER) 及细胞周期调控, 并影响多种抑癌基因和癌基因的表达^[18]。有研究表明, XPD 基因还可以激活 p53, 并且影响其生物活性^[19]。p53 基因有野生型和突变型两种亚型, 其中野生型 p53 (wt-p53) 是公认的抑癌基因, 可诱导细胞凋亡。wt-p53 不仅具有转录和 DNA 修复的重要作用, 而且与 TFIIH 存在物理和功能上的相互联系^[20]。p53 通常依靠其下游因子的激活或抑制来调节细胞的生长与凋亡。在本研究中, 转染 XPD 后, wt-p53 的表达增高, 即 XPD 促凋亡作用是通过

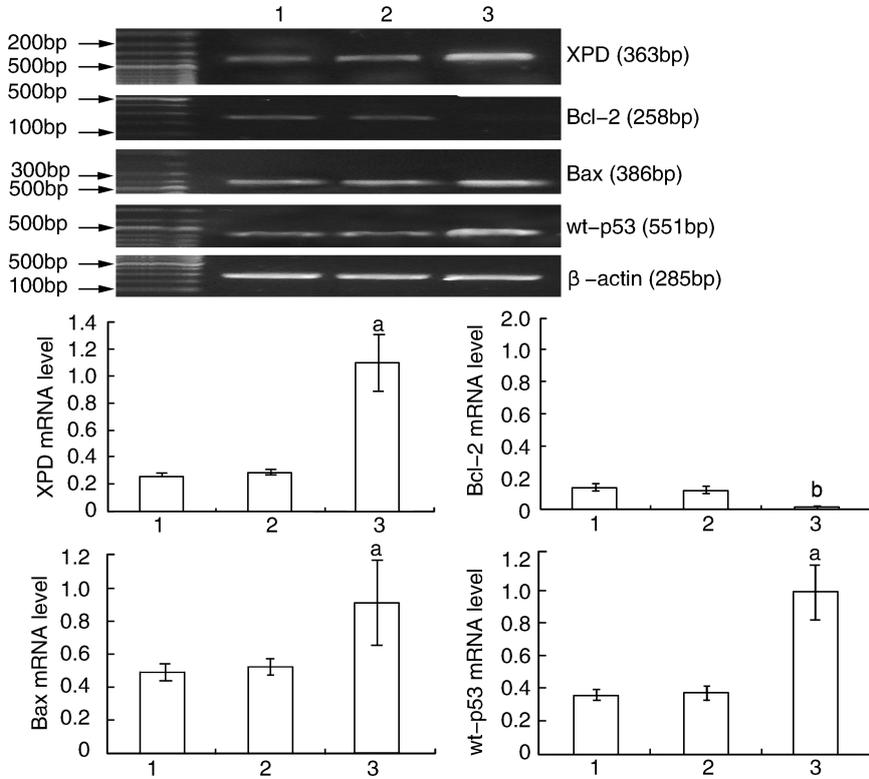


图 3. pEGFP-N2/XPD 转染 HUVEC 的 XPD、Bax、wt-p53 和 Bcl-2 mRNA 表达水平 1 为空白对照组,2 为 pEGFP-N2 组,3 为 pEGFP-N2/XPD 组。a 为 $P < 0.05$, b 为 $P < 0.01$, 与空白对照组或 pEGFP-N2 组比较。

Figure 3. The change of XPD, Bcl-2, Bax and wt-p53 mRNA level in HUVEC treated with pEGFP-N2/XPD transfection

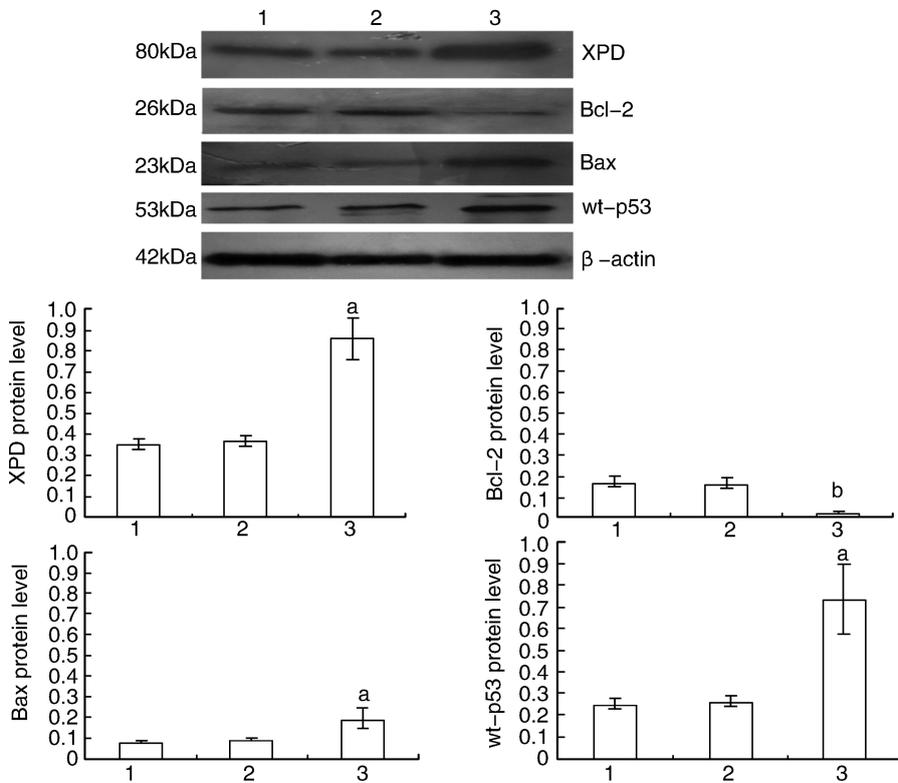


图 4. pEGFP-N2/XPD 转染 HUVEC 的 XPD、Bax、wt-p53 和 Bcl-2 蛋白表达水平 1 为空白对照组,2 为 pEGFP-N2 组,3 为 pEGFP-N2/XPD 组。a 为 $P < 0.05$, b 为 $P < 0.01$, 与空白对照组或 pEGFP-N2 组比较。

Figure 4. The change of XPD, Bcl-2, Bax and wt-p53 protein level in HUVEC treated with pEGFP-N2/XPD transfection

p53 这条途径来实现的,这与同为 TF II H 亚基的 XPB 通过 p53 凋亡途径产生促凋亡作用一致^[21]。Bcl-2 基因是抑凋亡基因, Bax 基因是促凋亡基因, Bcl-2 表达降低和 Bax 表达升高被认为是促进凋亡的发生^[22]。在本研究中, XPD 能降低的 Bcl-2 表达和升高 Bax 表达的作用,也进一步证明 XPD 能促进 EC 凋亡。

在 As 的发病机制中,内皮细胞凋亡在 As 的进展中起着重要作用。在本研究中,可以证实 EC 转染 XPD 高表达后,能增加 Bax 和 wt-p53 的表达,降低 Bcl-2 的表达,EC 凋亡增加。在正常 EC 中上调 XPD 有着显著的促凋亡作用,据此推测提示:在正常 EC 中下调 XPD 的表达后,其凋亡也将会受到抑制。XPD 对 EC 促凋亡的作用,提示也许可以通过基因靶向治疗,降低内皮细胞 XPD 的表达抑制其凋亡来控制 As 的进展,为治疗 As 提供了一条新的途径,有可能成为治疗 As 的一个新的靶点。但是 XPD 基因促进 EC 凋亡的具体机制还不清楚,还需进一步研究。当 EC 在受到损伤因子刺激时 XPD 的表达量是否也有变化,以及在 EC 中下调 XPD 的表达,其凋亡是否受抑制,有待进一步研究。

[参考文献]

- [1] 赵秀欣,张微微. 动脉粥样硬化诊治研究的若干进展[J]. 中国动脉硬化杂志, 2010, 18 (9): 751-753.
- [2] Kavurma MM, Bhindi R, Lowe HC, et al. Vessel wall apoptosis and atherosclerotic plaque instability [J]. *Thromb Haemost*, 2005, 3 (3): 465-472.
- [3] 王林,惠杰,袁国裕,等. C-反应蛋白对脐静脉内皮细胞凋亡和 P 选择素表达的影响[J]. 心脑血管病防治, 2010, 10 (1): 23-25.
- [4] Pasceri V, Willerson JT, Yeh ET. Modulation of C-reactive protein mediated monocyte chemoattractant protein-1 induction in human endothelial cells by anti-atherosclerosis drug[J]. *Circulation*, 2001, 103 (21): 2 531-534.
- [5] 谢彬,吕湛,苟连平,等. 阿托伐他汀通过调节 Bcl-2/Bax 蛋白表达抑制高糖诱导的人脐静脉内皮细胞凋亡[J]. 中国动脉硬化杂志, 2010, 18 (12): 943-945.
- [6] Coin F, Proietti De Santis L, Nardo T, et al. p8/TTD-A as a repair-specific TF II H subunit[J]. *Mol Cell*, 2006, 21 (2): 215-226.
- [7] Rudolf J, Rouillon C, Schwarz-Linek U, et al. The helicase XPD unwinds bubble structures and is not stalled by DNA lesions removed by the nucleotide excision repair pathway [J]. *Nucleic Acids Res*, 2010, 38 (3): 931-941.
- [8] Zhang L, Zhang Z, Yan W. Single nucleotide polymorphisms for DNA repair genes in breast cancer patients[J].

Clin Chim Acta, 2005, 359 (1-2): 150-155.

- [9] Gu Y, Patterson AV, Atwell GJ, et al. Roles of DNA repair and reductase activity in the cytotoxicity of the hypoxia-activated dinitrobenzamide mustard PR-104A [J]. *Mol Cancer Ther*, 2009, 8 (6): 1 714-723.
- [10] 黄神安,熊英,张吉翔,等. 人剪切修复基因 XPD 对肝癌细胞生长的抑制作用[J]. 肿瘤防治研究, 2009, 36(2): 81-85.
- [11] Wang HY, Xiong GF, Zhang JX, et al. The role of XPD in cell apoptosis and viability and its relationship with p53 and cdk2 in hepatoma cells[J]. *Med Oncol*, 2012, 29 (1): 161-167.
- [12] 周晓峰. 内皮祖细胞在动脉粥样硬化进展中的作用[J]. 中国动脉硬化杂志, 2007, 15(12): 940-942.
- [13] 肖坚,肖振军,彭军. 内脏脂肪素对内皮细胞血管形成能力[J]. 中国现代医学杂志, 2009, 19(10): 1 502-504.
- [14] Banfi C, Brioschi M, Wait R. Proteome of endothelial cell-derived procoagulant microparticles[J]. *Proteomics*, 2005, 5 (17): 4 443-455.
- [15] Yu HP, Wang XL, Sun X. Polymorphisms in the DNA repair gene XPD and susceptibility to oesophageal squamous cell carcinoma[J]. *Cancer Genet Cytogenet*, 2004, 154 (1): 10-15.
- [16] White MF. Structure, function and evolution of the XPD family of iron-sulfur-containing 5'->3' DNA helicases [J]. *Biochem Soc Trans*, 2009, 37 (Pt 3): 547-551.
- [17] Uhring M, Poterszman A. DNA helicases and human diseases[J]. *Med Sci (Paris)*, 2006, 22 (12): 1 087-094.
- [18] Li X, Urwyler O, Suter B. Drosophila XPD regulates Cdk7 localization, mitotic kinase activity, spindle dynamics, and chromosome segregation[J]. *PLoS Genet*, 2010, 6 (3): e1000 876.
- [19] Dumaz N, Drougard C, Quilliet X, et al. Recovery of the normal p53 response after UV treatment in DNA repair-deficient fibroblasts by retroviral-mediated correction with the XPD gene [J]. *Carcinogenesis*, 1998, 19 (9): 1 701-704.
- [20] Ford JM. Regulation of DNA damage recognition and nucleotide excision repair another role for p53 [J]. *Mutat Res*, 2005, 577 (1-2): 195-202.
- [21] Hu GM, Liu LM, Zhang JX, et al. The Role of XPB in cell apoptosis and viability and Its relationship with p53, p21waf1/cip1 and c-myc in hepatoma cells[J]. *Dig Liver Dis*, 2006, 38(10): 755-761.
- [22] 廖德荣,刘启功,程燕子,等. 血管内皮生长因子拮抗缺氧诱导的血管内皮细胞凋亡及其机制研究[J]. 中国现代医学杂志, 2007, 17(22): 2 732-735.

(此文编辑 李小玲)