

[文章编号] 1007-385X(2004)04-0285-06

哺乳动物细胞对丝裂霉素诱导的 DNA 链间交联的修复

郑胡镛^{1,2}, 王欣², Amy J. Warren², Randy J. Legerski², 胡亚美¹, 李磊²(1. 首都医科大学附属北京儿童医院, 北京 100045; 2. 德州大学 MD 安德森癌症中心, 休斯顿 77030)

[摘要] 目的: 探讨哺乳动物细胞能否修复 DNA 链间交联 (interstrand crosslink, ICL)。方法: 构建带有丝裂霉素 (mitomycin C, MMC) 交联的质粒 pCMV-Luc/ICL, 将该交联质粒转染无修复酶缺陷和有修复酶缺陷的哺乳动物细胞系, 观察细胞对 MMC 链间交联的修复能力。结果: (1) 无酶缺陷的哺乳动物细胞对 DNA 的修复能力很强, 即使缺乏同源序列, 也能有效地去除 DNA 链间交联; (2) 修复过程需要许多酶类参与, 其中与核苷酸切除修复 (nucleotide excision repair, NER) 相关的酶类起着关键性作用, 提示 NER 参与 MMC 链间交联的修复过程; (3) 序列分析表明, 非同源性重组修复为易错修复 (error-prone repair)。结论: 哺乳动物细胞能有效地修复 MMC 诱导的 DNA 链间交联, 核苷酸切除修复是重要的修复途径。

[关键词] DNA 链间交联; 丝裂霉素 C; 核苷酸切除修复

[中图分类号] R730.59 [文献标识码] A

Repair of Mitomycin-C Induced DNA Interstrand Cross-Link in Mammalian Cells

ZHENG Hu-yong^{1,2}, WANG Xin², Amy J. Warren², Randy J. Legerski², HU Ya-mei¹, LI Lei²(1. Beijing Children's Hospital affiliated to Capital University of Medical Science, Beijing 100045, China; 2. The University of Texas, M. D. Anderson Cancer Center, Houston, Texas 77030)

[Abstract] **Objective:** To study the repair mechanisms of ICLs in mammalian cells. **Methods:** A site-specific MMC cross-link was placed between the promoter and the coding region to inactivate the expression of luciferase genes from reporter plasmids. An *in vivo* reactivation assay was developed to examine the removal of ICLs in cultured cells. **Results:** MMC cross-link was removed in repair-proficient cells in the absence of undamaged homologous sequences, suggesting the existence of an ICL repair pathway that is independent of homologous recombination. Mutant cell lines deficient in the NER pathway were examined and found to be highly defective in the recombination independent repair of ICLs, while mutants deficient in homologous recombination were found to be proficient. Mutation analysis of plasmids recovered from transfected cells showed frequent base substitutions at or near the positions of MMC crosslinks. **Conclusion:** Recombination-independent ICL pathway exists in mammalian cells and NER involve in the repair with an error-prone mechanism.

[Key words] interstrand crosslink; mitomycin-C; nucleotide excision repair

* DNA 交联剂是一类非常重要的抗肿瘤化疗药物, 如丝裂霉素 (mitomycin C)、环磷酰胺 (cyclophosphamide)、顺氯氨铂 (cisplatin)、补骨脂素 (psoralen)、美法仑 (mephalan)、瘤可宁 (chlorambucil) 等已在临床上广泛使用。这类化疗药物的作用机理是在 DNA 双链之间形成链间交联, 使 DNA 双链无法分离, 从而阻断 DNA 的复制、转录和重组^[1]。临床研究表明, 细胞对 DNA 损伤的修复能力在很大程度上影响肿瘤细胞对化疗药物的反应——是否敏感或是否耐药。另一方面, 由于化疗药物同时也造成正常细胞的 DNA 损伤,

所以正常细胞对 DNA 损伤的修复能力也反映了药物的毒性程度^[2-4]。因此, 研究细胞修复 DNA 链间交联损伤的作用机理具有极其重要的理论价值和临床意义。

[基金项目] 北京市科技新星项目 (951874900)

[作者简介] 郑胡镛 (1963-), 女, 四川乐山人, 研究员, 主要从事儿童白血病发病机理方面的研究

E-mail: zhenghuyong@vip.sina.com

1 材料与方法

1.1 构建 MMC 交联的荧光素酶质粒 pCMV-Luc/ICL

用连接酶将 MMC 交联的寡核苷酸插入荧光素酶质粒 pCMV-Luc 的启动子和报告基因之间。具体步骤如下:首先,人工合成一段 19 bp 双链寡核苷酸:5'-TAGATATCATCGATATAGT, 5'-TAGACTAT ATCGATGATAT。将 MMC 与寡核苷酸中部的鸟嘌呤(黑体 G)相互连接,形成 MMC 交联的寡核苷酸。其纯度检测采用 γ -ATP 标记、尿素 PAGE 胶分离,保证交联的寡核苷酸占 97% 以上。交联部位含有 BspD I 酶切位点(下划线标记部分),因此如果细胞修复交联时该部位发生突变,则不能被 BspD I 切断。该寡核苷酸两端为 Nhe I 酶切位点的黏性末端,用于构建质粒时连接使用。用 Nhe I 酶切荧光素酶质粒 pCMV-Luc(Johns Hopkins 大学 M. Hedayati 和 L. Grossman 教授赠送),两侧末端用 Klenow 酶各补上一个 C 以防止自连,然后再与 MMC 交联的寡核苷酸连接。最后,形成连接的环型质粒用氯化铯密度梯度高速离心分离提纯,其纯度检测用限制性内切酶切出含有交联的核苷酸片段、 γ -ATP 标记和尿素 PAGE 胶分离(图 1)。对照质粒 pCMV-Luc/C 由荧光素酶质粒 pCMV-Luc 与非交联的寡核苷酸连接得到。

图 1 MMC 交联质粒的纯度测试

Fig. 1 Purity test of MMC crosslinked plasmid substrate

1: pCMV-LUC plasmid with a MMC cross-linked oligo inserted at the Nhe I site. 2: pCMV-LUC with an unmodified oligo inserted at the Nhe I site. 3: pCMV-LUC vector only. All three sample DNA were digested with Sca I and Hind III to release a 105 bp fragment (86 bp in the case of vector only) and resolved on 15% denaturing PAGE. End labeling was used to visualize the DNA.

1.2 细胞系和细胞培养

本实验所用细胞系(除特别注明外)均购自美国

细胞中心(American Type Culture Collection, Rockville, Md.)和人类基因突变细胞库(Human Genetic Mutant Cell Repository, Camden, N. J.)。人细胞系 HT 1080(纤维肉瘤细胞)、RKO(结肠癌上皮细胞)和中国仓鼠肺纤维母细胞系 V79 培养在 10% 胎牛血清的 MEM 中。中国仓鼠卵巢细胞(Chinese hamster ovary, CHO) AA8 细胞系和它的突变体 UV20(ERCC1)和 UV41(XPF)在 10% 胎牛血清的 DMEM 培养液中生长。E1KO7-5(ERCC1), ERCC1-KO, E1KO-47(ERCC1-OK), ERCC3, ERCC4 和 ERCC5 也属 CHO 细胞系;培养条件与 AA8 细胞系相同。着色性干皮病(Xeroderma pigmentosum, XP)纤维母细胞系 XP2OS(XPA), XP4PA(XPC), XP6BE(XPD), XP3BR(XPG)和 XP30RO(XPV)培养在 15% 胎牛血清的 MEM 中。XP30RO 细胞系由 James Cleaver 博士赠送(University of California at San Francisco)。irs1(XRCC2)和 irs1SF(XRCC3)突变细胞系分别由 Larry Thompson(Lawrence Livermore National Laboratory, Livermore, Calif.)和 Nigel Jones(The University of Liverpool, Liverpool, UK)赠送,生长在 10% 胎牛血清的 MEM 中。

上述细胞系中,HT1080, RKO, AA8, V79 为无 DNA 修复酶缺陷型细胞系;XP 系列是 NER 修复酶缺陷型细胞系;ERCC 系列也是 NER 修复酶缺陷型细胞系,但来源于中国仓鼠;XRCC 系列是同源重组(homologous recombination, HR)修复酶缺陷型细胞系。各细胞系的生物学特征见(表 1)。

1.3 细胞转染和荧光检测

细胞转染试剂为 FuGENE-6 Kit(Roche Molecular Biochemicals),转染步骤按照试剂说明书进行。简述如下:每 35 毫米培养皿接种 1.5×10^5 细胞,交联质粒或非交联质粒 0.5 ng,用载体 DNA 补足到总量 1 μ g。每项检测内容均设双皿,以求平均值。细胞在转染 30 h 后收获,荧光检测采用荧光素酶分析系统(Promega)和月光 3010 荧光仪(Pharmingen)。每个细胞系至少进行 3 次独立转染和荧光检测。细胞修复 MMC 链间交联损伤的能力(简称细胞修复能力,下同)由交联样本的荧光值占非交联样本荧光值的百分率表示。

1.4 突变序列分析

用 MMC 交联质粒 pCMV-Luc/ICL(150 ng)转染无修复酶缺陷的细胞系 RKO,细胞接种量为每 60 毫米培养皿 5×10^5 细胞。转染 30 h 后,用改良碱性裂解法^[5]回收质粒,然后用电击转化无重组修复功能的细菌株 AB2480(uvrA recA 突变体)^[6],以扩增由哺乳动物修复好的 pCMV-Luc/ICL(此时交联剂已除去)。再用 PCR 扩增出含交联区的 230 bp 片段,并用 BspD I 酶切

筛出突变体,最后富集突变体质粒进行 DNA 序列分析。

表 1 DNA 修复实验所用细胞系的生物学特征
Table 1 Characteristics of Cell lines used in DNA repair experiment

Cell lines	Source	Characteristics
HT1080	Human fibrosarcoma	DNA repair proficient
RKO	Human colon cancer	DNA repair proficient
AA8	CHO	DNA repair proficient
V79	Chinese hamster lung fibroblast	DNA repair proficient
XP2OS(XPA)	XPA fibroblast	XPA deficiency in NER
XP4PA (XPC)	XPC fibroblast	XPC deficiency in NER
XP6BE (XPD)	XPD fibroblast	XPD deficiency in NER
UV41(XPF)	XPF fibroblast	XPF deficiency in NER
XP3BR (XPG)	XPG fibroblast	XPG deficiency in NER
XP30RO(XPV)	XPV fibroblast	XPV deficiency in NER
E1KO7-5(ERCC1)	CHO	ERCC1 deficiency in NER
ERCC1-KO	CHO	ERCC1 Knock-out
ERCC1-OK	CHO	ERCC1 complementary
ERCC3	CHO	ERCC3 deficiency in NER
ERCC4	CHO	ERCC3 deficiency in NER
ERCC5	CHO	ERCC5 deficiency in NER
irs1 (XRCC2)	CHO	XRCC2 deficiency in HR
irs1SF (XRCC3)	CHO	XRCC3 deficiency in HR

2 结果

2.1 细胞对 MMC 链间交联的修复

为研究在非同源重组条件下哺乳动物细胞修复 MMC 诱导的 DNA 链间交联的能力,本课题观察了无 DNA 修复酶缺陷型细胞和有 DNA 修复酶缺陷型细胞系对含有 DNA 链间交联的质粒的修复情况,即(1)用无修复酶缺陷型细胞系做阳性对照;(2)用人或中国仓鼠的 NER 缺陷型细胞系检测哪些 NER 修复酶参与这种非同源重组的修复过程;(3)用同源重组修复酶缺陷型细胞系进一步证明同源重组修复酶类是否影响这种非同源重组的修复过程。

2.2 无修复酶缺陷型细胞对 MMC 链间交联的修复

本实验中使用的细胞系 HT-1080、RKO 和仓鼠细胞系 AA8、V79 均为无 NER 修复酶缺陷细胞系。将 0.5 ng MMC 交联质粒 pCMV-Luc/ICL 和非交联质粒 pCMV-Luc/C 同时转染上述细胞系。由于 MMC 交联

剂位于 CMV 启动子和荧光素酶报告基因之间,阻断了报告基因的转录。只有在细胞去除 MMC 交联剂后,才会有荧光素酶的表达,且荧光素酶表达的高低直接反映了 ICL 被去除的程度。而对照的非交联质粒被转入细胞后,即可表达荧光素酶。因此,细胞的修复能力可用 ICL 细胞荧光素酶的表达量与非 ICL 细胞荧光素酶的表达量之比来衡量。实验结果表明,HT-1080, RKO, AA8 和 V79 细胞系对 MMC 链间交联的修复能力为 35% ~ 60%(图 2),说明这些无 NER 修复酶缺陷细胞系能有效去除 MMC 链间交联,提示哺乳动物细胞在缺乏同源序列的情况下,还存在另一套修复机制。

2.3 NER 突变细胞系对 MMC 链间交联的修复

用相同方法检测 NER 突变细胞系对 MMC 链间交联的修复能力。ERCC1、ERCC3、ERCC4 和 ERCC5 系中国仓鼠突变细胞系,分别缺乏 NER 修复的基因 ERCC1、ERCC3、ERCC4 和 ERCC5。XP 突变细胞系(XPA, XPC, XPD, XPG)来自着色性干皮病患者的纤维

细胞。所有 NER 突变体细胞系(除 XPV 外)均显示细胞修复能力明显减低(~5%)(图 2)。由于本实验模式旨在观察无同源序列存在时的细胞修复能力,而 NER 突变体几乎不能修复 DNA 损伤,说明这些 NER 修复基因至关重要。XPV 是损伤包容性 DNA 聚合酶 η (lesion-bypass polymerase η) 突变体,XPV 的修复能力(~20%)比其他 NER 突变体高,但比非突变体低 50% 左右。提示在修复 MMC 链间交联的过程中,XPV/Pol η 可能不是一个必须基因,但也可能参与损伤包容性 DNA 聚合作用。

为进一步证明 ERCC1 基因在 MMC 链间交联修复过程中的作用,选用一对中国仓鼠细胞系 ERCC1-KO 和 ERCC1-OK 行荧光素酶表达检测。ERCC1-KO 是从野生型仓鼠细胞系 ATS-49 敲除 ERCC1 基因后得到^[7],与自然发生的 ERCC1 具有相同的表现型;而 ERCC1-OK 是将野生型 ERCC1-cDNA 稳定转染(stable transfection)ERCC1-KO 后得到,与野生型 ATS-49 一样具有抗紫外光和 MMC 的能力(R. S. Nairn, unpublished results)。ERCC1-KO 和 ERCC1-OK 的荧光素酶检测结果发现,ERCC1-KO 的修复能力很低,与自然型 ERCC1 相似;而 ERCC1-OK 的修复能力却达到与 HT-1080(无修复酶缺陷型)相应的修复能力(图 2)。

同样,为证明 XPA 基因缺陷是导致 XPA 突变体不能修复 ICL 的原因,将野生型 XPA-cDNA 协同转染 XPA 突变体,如图(2)所示,XPA 突变体的修复缺陷被野生型 XPA-cDNA 完全纠正,同样达到与 HT-1080(无修复酶缺陷型)相应的修复能力。

2.4 同源重组突变细胞系对 MMC 链间交联的修复

同源重组突变细胞株 irs1 (XRCC2) 和 irs1SF (XRCC3) 分别缺陷 XRCC2 和 XRCC3 基因。XRCC2 和 XRCC3 基因结构跟 hRad51 同源重组酶家族相似,功能是参与 ICLs 的同源重组修复^[8-10]。本课题设计为非同源重组修复模式,为证明同源重组基因不参与非同源重组修复途径,对 XRCC2 和 XRCC3 突变细胞系进行荧光素酶表达检测。两突变体的修复能力与它们父系 V79 和 AA8 相似(图 2),提示在非同源重组修复模式中,不需要于 XRCC2 和 XRCC3 同源重组基因参与。

2.5 非同源重组的 ICLs 修复为易错修复

由于链间交联累及 DNA 双链,在无正常同源序列条件下,非同源性重组修复 ICLs 极有可能产生突变位点。为明确突变位点是否容易发生在 DNA 交联区域,将 pCMV-Luc/ICL 转染无酶缺陷细胞系 RKO。转染后 30 h 回收质粒并转化到细菌株 AB2480 富集被 RKO 修复的质粒,然后用 BspD I 酶切,凡是修复正确的质粒均被切开,而修复突变的质粒均抗酶切,由此筛出突变质粒。本实验用 PCR 方法分析了 114 个回收质粒,其中 24 个抗 BspD I 酶切,由此推算易错修复率为 21%。进一步对这 24 个抗性质粒行 DNA 序列分析,有 3 个质粒序列扩增失败。对剩余 21 个质粒的 DNA 序列分析表明均为点突变,其中 19 个质粒的突变位点正位于交联剂附着的鸟嘌呤处。其中一质粒有两处突变位点,除了交联剂附着部位的突变外,在交联剂部位外 8 bp 处还有另一突变。有趣的是,21 个质粒的点突变的碱基绝大多数是 T 或 A,只有一个 C 突变。此外,没有发现交联剂部位 10 bp 外的碱基突变,也没有发现交链部位的碱基缺失。

为证明上述突变是在细胞修复过程中形成而非细菌 AB2480 扩增所致,将交联质粒 pCMV-Luc/ICL 和非交联质粒 pCMV-Luc/C 直接电击转化 AB2480。与非交联质粒相比,交联质粒 pCMV-Luc/ICL 的转化率仅为 3%,这些生长克隆是由于构建交联质粒时的本底即非交联质粒所致。因为对 106 个克隆的分析显示,60% 的克隆是 pCMV-Luc 空载体,40% 虽然含有插入的寡核苷酸,但均能被 BspD I 酶切,表明该部位没有突变发生。由此进一步证明前述 24 个突变质粒是由于哺乳动物细胞在修复其 DNA 链间交联损伤过程中

图 2 细胞系对 MMC 链间交联的修复能力

Fig. 2 Repair efficiency of cell lines to remove MMC crosslink

1: HT1080; 2: RKO; 3: AA8; 4: V79; 5: XRCC2; 6: XRCC3; 7: ERCC1; 8: ERCC1-KO; 9: ERCC1-OK; 10: ERCC3; 11: ERCC4; 12: ERCC5; 13: XPA; 14: c-XPA; 15: XPC; 16: XPD; 17: XPF; 18: XPG; 19: XPV; Repair-proficient cells (1-4) remove MMC cross-link effectively; Homologous recombination mutants XRCC2(5,6) are also repair proficient; NER mutants (7,8,10-13,15-19) are defective in repair of teh cross-links, the deficiency could be complemented by their perspective cDNAs (9,14)

形成。

3 讨论

MMC 是一种基因毒性的抗肿瘤药物,它特异性地与 DNA 鸟嘌呤氨基(N^2)结合,或通过两链间 CpG 形成链间交联,或通过链内 GpG 形成链内交联^[11-12]。与其它交联剂如补骨脂素、顺氯氨铂和紫外线等相比,MMC 形成的链间交联几乎不影响 DNA 双链的构型^[13]。本课题用 MMC 链间交联质粒分别转染无修复酶和有修复酶缺陷的 10 余种细胞系,发现哺乳动物细胞能通过非同源重组方式有效去除 DNA 的链间交联;核苷酸切除修复(NER)途径是主要的修复机制。

3.1 哺乳动物细胞中的非同源重组修复模式

本实验中设计的 MMC 链间交联质粒及细胞对此链间交联的修复是一种非同源重组性修复模式,因为哺乳动物细胞内不存在非损伤质粒的同源序列。非同源重组性修复途径可能是肿瘤细胞尤其是静止期肿瘤细胞抵抗化疗药物的重要方式。文献报道增殖活力低的肿瘤比增殖活力高的肿瘤预后差,如慢性淋巴细胞白血病(chronic lymphoblastic leukemia, CLL)比急性淋巴细胞白血病(acute lymphoblastic leukemia, ALL)预后差,因为 CLL 很容易产生对化疗药物的耐药^[14]。即使是同样的 ALL 患者,其肿瘤细胞增殖活力高的患者比肿瘤细胞增殖活力低的患者预后良好^[15]。成功地治疗肿瘤不仅需要有效地杀灭肿瘤细胞,也要保护机体的正常细胞。所以阐明细胞的 DNA 修复机制有助于保护正常细胞免受或少受化疗药物和放射治疗的损伤^[16-17]。在过去 10 年中 DNA 修复酶 ATase 已被深入研究,将 ATase 的基因或 cDNA 导入骨髓让其在骨髓细胞中高表达,促进骨髓细胞有效修复因化疗或放疗造成的 DNA 损伤^[18]。同样,若能将 DNA 损伤的修复酶基因导入正常细胞或激活正常细胞的 DNA 修复酶活性,也是一种具有前途的保护正常细胞的基因治疗方法。

3.2 NER 在非源性重组修复 DNA 链间交联中的作用

NER 修复途径是 DNA 受到紫外线照射损伤后最重要的修复方式,人类的一些遗传缺陷性疾病如着色性干皮病(XP)、Cockayne 综合征(CS)及毛发营养不良(Trichothio-dystrophy, TTD)就是由于缺乏 NER 修复酶基因所致^[19]。现已发现这些疾病有不同的互补型,如 XP 的互补型有 XPA 到 XPG 及 XPV

8 种,TTD 有 TTD1 到 TTD3 有 3 种,CS 有 CSA 和 CSB。目前已明确 11 种互补类型并克隆出人的 6 种 NER 基因。此外,对放射线敏感的鼠源性 NER 缺陷突变体也被克隆得到^[20],其缺陷基因被命名为切除修复互补基因(excision repair cross-complementing genes, ERCC)。每种基因和它们相应的编码蛋白都已在分子水平上详细研究并确定了它们在 NER 修复模式中的功能。本课题实验结果表明(图 2),几乎所有 NER 缺陷型细胞系均不能修复 MMC 诱导的 DNA 链间交联,但给予互补 cDNA 基因如 c-ERCC1 和 c-XPA 后,其缺陷细胞系则恢复对 DNA 链间交联的修复功能。由此证明 NER 是细胞非同源性重组修复 DNA 链间交联的主要修复途径。至于 XPV 突变体(缺乏 DNA 包容性聚合酶 Pol η),只显示轻度的修复能力减低,提示其它 DNA 包容性聚合酶可能参与 DNA 链间交联的修复。

3.3 非同源性重组修复产生的突变碱基分析

细胞修复 pCMV-Luc/ICL 产生的突变碱基绝大部分是 T 或 A 替换了原来的 G(20/21),只有一个 C 替换原来的 G(1/21)。原因可能是不止一个损伤包容性 DNA 聚合酶参与修复过程,除了选择正确碱基,这些聚合酶倾向于选择 A 或 T。

综上所述,本课题证实了哺乳动物细胞能在缺乏同源序列的条件下修复 MMC 诱导的 DNA 链间交联;NER 是修复的主要机制。未来的研究方向将探讨哺乳动物细胞对 MMC 诱导的 DNA 链间交联的同源重组修复,更广泛、全面地了解细胞对 DNA 损伤的修复系统。

[参考文献]

- [1] Warren AJ, Ihanat MA, Ogdon SE, *et al.* Binding of nuclear proteins associated with mammalian DNA repair to the mitomycin C-DNA interstrand crosslink[J]. *Environ Mol Mutagen*, 1998, 31(1): 70-81.
- [2] Rudd GN, Hartley JA, Souhami RL. Persistence of cisplatin-induced DNA interstrand cross-linking in peripheral blood mononuclear cells from elderly and young individuals[J]. *Cancer Chemother Pharmacol*, 1995, 35(4): 323-326.
- [3] Torres-Garcia SJ, Cousineau L, Caplan S, *et al.* Correlation of resistance to nitrogen mustards in chronic lymphocytic leukemia with enhanced removal of melphalan-induced DNA crosslinks[J]. *Biochem Pharmacol*, 1989, 38(18): 3122-3123.
- [4] Limp-Foster M, Kelley MR. DNA repair and gene therapy: Implications for translational uses[J]. *Environ Mol Mutagen*, 2000, 35(2): 71-81.
- [5] Faruqi AF, Datta HJ, Carroll D, *et al.* Triple-helix formation in-

duces recombination in mammalian cell via a nucleotide excision repair-dependent pathway[J]. *Mol Cell Biol*, 2000, 20(3): 990-1000.

[6] Gurzadyan GG, Gorner H, Schulte-Frohlinde D. Ultraviolet(193, 216 and 254 nm) photoinactivation of Escherichia colistrains with different repair deficiencies[J]. *Radiat Res*, 1995, 141(3): 244-251.

[7] Adair GM, Rolig RL, Moore-Faver D, *et al.* Role of ERCC1 in removal of long non-homologous tail during targeted homologous recombination[J]. *EMBO J*, 2000, 19(20): 5552-5561.

[8] Liu N, Lamerdin JE, Tebbs RS, *et al.* XRCC2 and XRCC3, new human Rad51-family members, promote chromosome stability and protect against DNA cross-links and other damages[J]. *Mol Cell*, 1998, 1(6): 783-793.

[9] Johnson RD, Liu N, Jasin M. Mammalian XRCC2 promotes the repair of DNA double-strand breaks by homologous recombination [J]. *Nature*, 1999, 401(6751): 397-399.

[10] Pierce AJ, Johnson RD, Thompson LH, *et al.* XRCC3 promotes homology-directed repair of DNA damage in mammalian cells[J]. *Genes Dev*, 1999, 13(20): 2633-2638.

[11] Tomasz M. DNA adducts of the mitomycins[J]. *IARC*, 1994 (125): 349-357.

[12] Tomasz M. The mitomycins: Natural cross-links of DNA[M]. In Neidle S, Waring M. *Molecular aspects of anticancer drug-DNA interactions*. Vol 2. Boca Raton FL, CRC Press, 1994: 313-349.

[13] Norman D, Live D, Sastry M, *et al.* NMR and computational characterization of mitomycin cross-linked to adjacent deoxyguanosines in the minor groove of the d(T-A-C-G-A-T). d(T-A-C-G-A-T) duplex[J]. *Biochemistry*, 1990, 29(11): 2861-2875.

[14] Torres-Garcia SJ, Cousineau L, Caplan S, *et al.* Correlation of resistance to nitrogen mustards in chronic lymphoblastic leukemia with enhanced removal of melphalan-induced DNA cross-links[J]. *Biochem Pharmacol*, 1989, 38(18): 3122-3123.

[15] Zheng H, Zhao X, Geng L, *et al.* Relationship between the bone marrow cell proliferation and the prognosis in childhood acute lymphoblastic leukemia[J]. *Chin J Hematol*, 1999, 20(1): 7-9.

[16] Kleibl K, Margison GP. Increase DNA repair capacity in bone marrow by gene transfer as a prospective tool in cancer therapy[J]. *Neoplasma*, 1998, 45(4): 181-186.

[17] Dahm-Daphi J, Dikomey E, Brammer I. DNA-repair, cell killing and normal tissue damage[J]. *Strahlenther Onkol*, 1998, 174 (suppl 3): 8-11.

[18] Jelinek J, Kleible K, Dexter TM, *et al.* Transfection of murine multipotent haemopoietic stem cells with an *E. coli* DNA-alkyltransferase gene confers resistance to the toxic effects of alkylating agents [J]. *Carcinogenesis*, 1988, 9(1): 81-87.

[19] Ma L, Hoeijmakers JH, van der EB AJ. Mammalian nucleotide excision repair[J]. *Biochim Biophys Acta*, 1995, 1242(2): 137-164.

[20] Collins AR. Mutant rodent cell lines sensitive to ultraviolet light, ionizing radiation and cross-linking agents: A comprehensive survey of genetic and biochemical characteristics[J]. *Mutat Res*. 1993, 293(2): 99-118

[收稿日期] 2004-07-09 [修回日期] 2004-10-13

中华现代医院管理杂志征稿

《中华现代医院管理杂志》是由中华临床医药学会主办的国际性医院管理专业期刊,具有 ISSN/CN 标准刊号,被收入中华首席医学网等国内多种学术期刊网,得到国内 1 000 多家权威医院及 2 000 多位管理专家的支持。

本刊积极倡导职业化医院管理理念,探讨有中国特色的医院发展之路。为医院院长、医院职业管理人员及从事医院管理的才学者提供一个学习、交流和展示成果的平台。栏目设有:医院管理论坛、经营管理、人力资源管理、信息管理、质量管理、医疗设备管理、护理管理、病案管理、医技科室管理、药事管理、门诊管理、医院文化、后勤管理、专题研究、医事法规、医疗事故与纠纷管理、危机管理、服务管理、文献综述、学术讲座、医疗事故与纠纷管理、危机管理、服务管理、国外医院管理、文献综述、学术讲座、医院介绍等。

关于本刊的详细介绍请登录 www.shouxi.net 免费查询。

投稿邮箱:北京 100035 - 47 信箱 医院管理编辑部 收

邮政编码:100035

电 话:010 - 62250990; 010 - 62252523

E-mail: hospital@chinamed.cn

网站: www.shouxi.net 网络实名: 医学杂志、中华首席医学网