

RAD54L 在肝硬化中的表达及临床意义

李宏达 凌翔宇 孙东跃 周 庆

摘要 **目的** 探讨 RAD54 样蛋白(RAD54-like protein,RAD54L)在肝硬化中的表达情况以及临床意义。**方法** 通过生物信息学分析 RAD54L 的表达情况,并通过临床标本和小鼠肝硬化模型验证了 RAD54L 的表达,与血清标本的肝功能指标进行相关性分析,探究 RAD54L 的临床意义。**结果** RAD54L 作为同源重组修复的关键基因,通过肝硬化的数据库中验证其存在表达差异($P < 0.05$)。RAD54L 在临床标本($P < 0.01$)和小鼠模型标本($P < 0.01$)中表达均升高,与肝功能指标(谷丙转氨酶、谷草转氨酶)呈正相关,在一定程度上反映了肝损伤的程度。**结论** RAD54L 可以作为判断肝损伤以及了解进展情况的分子标志物。

关键词 RAD54L 肝硬化 同源重组修复 肝损伤

中图分类号 R575.2

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2024.04.008

Expression and Clinical Significance of RAD54L in Liver Cirrhosis. LI Hongda, LING Xiangyu, SUN Dongyue, et al. Department of General Surgery, Affiliated Hospital of Jiangsu University, Jiangsu 212001, China

Abstract **Objective** To explore the expression of RAD54-like protein (RAD54L) in liver cirrhosis and its clinical significance. **Methods** The expression of RAD54L was analyzed by bioinformatics and verified by clinical specimens and mouse cirrhosis model. Correlation analysis was performed between RAD54L level and liver function of serum specimens to explore the clinical significance of RAD54L. **Results** As a key gene for homologous recombination repair, RAD54L expression difference was verified by liver cirrhosis database ($P < 0.05$). RAD54L was increased in both clinical specimens ($P < 0.01$) and mouse model specimens ($P < 0.01$). RAD54L was positively correlated with liver function indexes (alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase), which reflected the degree of liver injury to a certain extent. **Conclusion** RAD54L can be used as a molecular marker to determine liver injury and its progression.

Key words RAD54L; Cirrhosis; Homologous recombination repair; Liver injury

肝硬化是一种慢性损伤所致的肝脏病理变化。常见的刺激因素有乙醇、病毒、高脂饮食和部分损伤肝功能的药物^[1]。在长期的损伤刺激下,肝细胞失去代偿能力,代谢与增殖失去控制,进而出现肝硬化。如刺激因素没有及时消除,肝硬化将进一步演变为肝细胞癌^[2,3]。在这一过程中,肝细胞应对外界刺激时无法避免出现 DNA 的损伤。DNA 损伤可分为多种类型,包括碱基损伤、单链断裂(single-strand break, SSB)和双链断裂(double-strand break, DSB),其中以双链断裂最为严重^[4]。而对于双链断裂,机体有两种修复方式,即非同源末端连接(non-homologous end joining, NHEJ)和同源重组修复(homologous recombination repair, HRR)^[5]。HRR 被较多应用于乳腺癌、卵巢癌和前列腺癌的诊断与治疗,但在其他器官中研究较少^[6]。近年来研究人员发现,HRR 在肝细胞癌等非经典肿瘤中同样发挥作用^[7,8]。

笔者团队在前期研究中发现,相较于健康肝脏,肝癌组织中 HRR 通路部分相关基因明显上调,并且与疾病的预后相关。RAD54 样蛋白(RAD54-like protein,RAD54L)作为同源重组修复的关键基因,在 DSB 的 DNA 损伤中发挥重要作用。应将肝损伤-肝硬化-肝癌作为一个整体来研究 RAD54L 的作用。笔者团队通过前期的基础实验验证了 RAD54L 作为 HRR 通路中最明显的差异基因,与增殖标志物 ki-67 表达和肿瘤阶段呈正相关。笔者团队在免疫组化中注意到肝癌旁肝硬化区域 RAD54L 染色高于正常肝组织区域。根据这一现象推测,健康肝脏发展至肝硬化过程中的持续慢性损伤会导致肝细胞 DNA 损伤,同源重组修复通路被激活,关键基因 RAD54L 表达升高。近年来,国内外已有较多 RAD54L 的相关研究,但多关注于肿瘤阶段,如肝癌、早期肺癌和膀胱癌等,而癌前阶段的研究仍处于空缺。本研究主要探讨 RAD54L 在肝硬化中的表达情况并通过分析与肝功能指标的相关性来探究 RAD54L 的临床意义,为肝硬化的诊断提供新的标志物。

基金项目:国家重点研发计划项目(2018YFA0107500)

作者单位:212001 镇江,江苏大学附属医院普外科

通信作者:周庆,电子信箱:zhouqingzy@163.com

材料与方法

1. 材料: TRIzol 试剂购自北京普利莱基因技术有限公司; 组织匀浆器购自天根生化科技(北京)有限公司; Spin Column RNA 浓缩纯化试剂盒购自生工生物工程(上海)股份有限公司; HiScript® II SuperMix 试剂盒、AceQ Universal SYBR qPCR Master Mix 试剂盒均购自南京诺唯赞生物科技股份有限公司; 抗 RAD54L 抗体购自美国 ImmunoWay 公司; 抗 GAPDH 抗体购自英国 Abcam 公司; 蛋白免疫印迹二抗购自美国 Affinity Biosciences 公司; 增强化学发光试剂盒购自亚科因生物技术(武汉)有限公司。

2. 数据检索与差异表达: 从 GEO (Gene Expression Omnibus) 数据库中检索出肝硬化相关数据集 GSE89377, 包括 13 例健康肝组织、8 例慢性肝炎低纤维化组织、12 例慢性肝炎高度纤维化组织、12 例肝硬化组织、11 例低度异型增生结节、11 例高度异型增生结节、5 例早期肝癌和 35 例进展期肝细胞癌。该数据集由健康肝脏发展至肝细胞癌共 9 个阶段组成。选取其中 13 例健康肝组织与 12 例肝硬化组织使用 GEO2R 工具进行表达差异分析。

3. 临床标本收集: 收集 2020 年 9 月 ~ 2022 年 9 月江苏大学附属医院肝胆胰脾外科收治的 39 例肝细胞癌患者的手术标本, 并单独保留其癌旁组织标本。入组患者在术前均未接受过放疗或化疗, 所有人体样本均征得患者书面知情同意后获得。样本采集得到江苏大学附属医院医学伦理学委员会批准(伦理学审批号: KY2022K0912)。

4. 免疫组化检测: 将对照组与肝硬化组肝脏标本进行免疫组化检测, 免疫组化使用 RAD54L 一抗孵育, 具体操作按照说明书进行。正置光学显微镜采集图像, 并使用 Image J 软件处理定量。

5. 小鼠肝硬化模型建立: 采用腹腔注射四氯化碳(CCl_4)方式诱导建立小鼠肝硬化模型。出生后 6 周的 BALB/c 小鼠 20 只购自于江苏大学动物实验中心, 分为对照组和肝硬化组, 每组各 10 只。对照组小鼠腹腔注射橄榄油每周 2 次, 按照 5ml/kg 给药; 肝硬化组腹腔注射 10% CCl_4 溶液每周 2 次, 按照 5ml/kg 给药。两组小鼠注射 8 周后获取标本。经江苏大学实验动物管理和使用委员会审查, 认为该项目符合实验动物伦理要求。

6. RAD54L 在 mRNA 和蛋白水平定量检测: 使用实时荧光定量聚合酶链反应(real-time quantitative polymerase chain reaction, RT-qPCR)检测小鼠肝

脏组织中 RAD54L 的 mRNA 水平。小鼠肝脏加入 TRIzol 试剂后使用组织匀浆器进行匀浆。离心(12000r/min, 离心半径为 10cm, 离心 10min)后 RNA 上清液由 Spin Column RNA 浓缩纯化试剂盒纯化。使用 HiScript® II SuperMix 进行反转录。cDNA 的定量使用 AceQ Universal SYBR qPCR Master Mix 试剂盒, 在 20 μl 反应体系中进行。RAD54L 引物序列: 上游引物: 5' - GAGCCCAGAGGACCTTGATA - 3', 下游引物: 5' - AACCACCTTGTCTGGACAGC - 3'; β -actin 引物序列: 上游引物: 5' - AGAGCTACGAGCTGCCTGAC - 3', 下游引物: 5' - AGCACTGTGTTGGCGTACA - 3'。最后使用 $2^{-\Delta\Delta\text{CT}}$ 方法分析两组 RAD54L 的 mRNA 水平。使用 Western blot 法检测肝脏临床标本和小鼠肝脏组织中 RAD54L 的蛋白水平。向肝脏组织中加入含有蛋白酶抑制剂的 RIPA (radio immunoprecipitation assay) 后使用组织匀浆器匀浆。蛋白质样品使用 12.5% 的聚丙烯酰胺凝胶 (SDS - polyacrylamide gel electrophoresis, SDS - PAGE) 进行电泳。在 300mA 的恒定电流下转膜 2h。一抗孵育抗 RAD54L, 抗甘油醛 - 3 - 磷酸脱氢酶 (glyceraldehyde - 3 - phosphate dehydrogenase, GAPDH) 低温过夜。二抗常温孵育 1h。曝光使用增强化学发光试剂盒。

7. 血清学指标检测: 肝硬化小鼠模型建立完成, 小鼠麻醉后摘除眼球取血至离心管。所取血液待凝固后离心 (3000r/min, 10min), 得到血清。血清标本使用生化分析仪检测谷丙转氨酶 (alanine aminotransferase, ALT)、谷草转氨酶 (aspartate aminotransferase, AST) 和碱性磷酸酶 (alkaline phosphatase, ALP) 等肝功能生化指标。

8. 统计学方法: 应用 SPSS 13.0 统计学软件对数据进行统计分析。计量资料以均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 组间比较采用 t 检验; RAD54L 与血清学指标统计采用 Pearson 相关性分析, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. 生物信息学分析验证 RAD54L 在肝硬化组织中的表达: 前期在肝癌研究中发现, RAD54L 在肝硬化区域表达高于正常肝组织, 为进一步证实这一结果, 本研究通过生物信息学方法分析 RAD54L 在肝硬化组织(肝硬化组)与正常肝组织(对照组)中表达是否存在差异。通过检索 GEO 数据库找到数据集 GSE89377, 由于该数据集分组较多, 所选取的两组样本基因差异倍数普遍较小, 故选取 $P < 0.05$, $\log_2$ (差

异倍数) > 1.1 的基因作为差异表达基因。如图 1A 所示,队列中可见表达升高与降低最显著的 20 个差

异基因。如图 1B 所示,RAD54L 在肝硬化组表达升高,这一结果符合本研究预期。

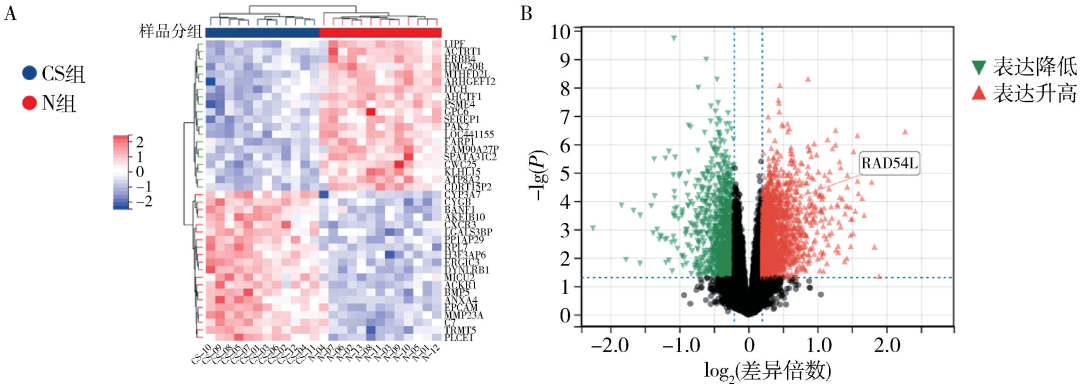


图 1 基于 GSE89377 肝硬化组与正常组的差异表达基因分析
A. 显著差异基因热图;B. 差异基因火山图

2. 验证肝硬化临床标本中 RAD54L 蛋白水平:手术中收集的肝脏标本经过 HE 染色,并根据病理科专家评估后分为对照组与肝硬化组。使用免疫组化染色检测 RAD54L 的表达与分布情况。免疫组化检测结果显示,对照组肝细胞的细胞核内 RAD54L 表达较少;肝硬化组可见已有纤维间隔、假小叶结构形成,RAD54L 在肝细胞的细胞核内呈阳性(图 2A)。每组随机选取 5 个视野使用 Image J 软件检测阳性区域的

平均光密度(累计光密度/面积),结果提示两组存在显著差异(图 2B)。使用 Western blot 法检测对照组与肝硬化组的 RAD54L 蛋白水平,结果同样提示两组存在显著差异(图 2 中 C、D)。由此可见,RAD54L 在肝硬化阶段已经开始升高,推测其升高与肝炎病毒或其他外界因素对肝细胞损伤所致的同源重组修复机制有关。但这种损伤程度不及肝癌阶段。肝癌阶段由于细胞快速增殖、放疗和化疗,基因组不稳定,相

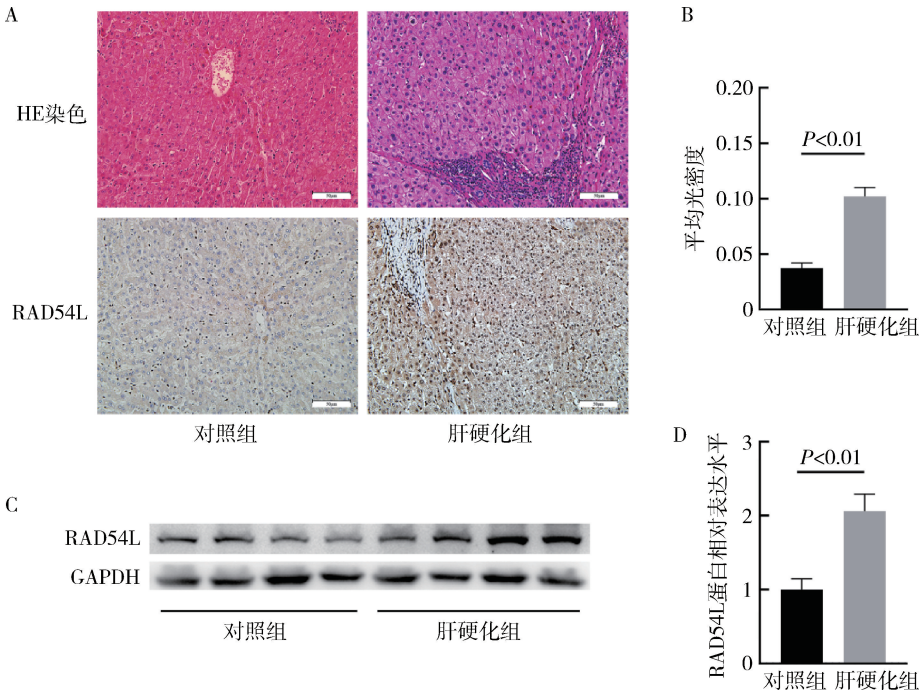


图 2 免疫组化分析 RAD54L 在临床标本中的表达情况

A. 临床标本中对照组与肝硬化组的 HE 染色与 RAD54L 蛋白免疫组化结果($\times 200$);B. 平均光密度比较;
C. Western blot 法检测临床标本中对照组与肝硬化组中 RAD54L 蛋白水平;D. RAD54L 蛋白相对表达水平的比较

对容易发生严重的 DNA 双链断裂。而肝硬化阶段主要由于长期的外界刺激导致肝细胞损伤与肝功能受损。这种损伤往往严重程度不一,损伤较轻可不引起断裂,损伤严重可直接引起双链断裂或单链断裂后无法及时修复所致双链断裂。

3. 肝硬化小鼠模型中 RAD54L 表达水平的测定:本研究建立了 BALB/c 小鼠 CCl_4 肝硬化模型为了进一步证实 RAD54L 在肝硬化中的表达情况。造模过程结束后,对照组存活 9 只,死亡 1 只;对照组死亡 4 只,存活 6 只。动物模型建立完成并收集动物血液标本以及肝脏标本,对照组小鼠肝脏表面光滑、边缘锐利、质地中等,肝硬化组肉眼可见肝脏组织表面

呈颗粒状,质地较硬(图 3A)。对两组蛋白样品进行 Western blot 法检测,检测结果与预期结果相似,肝硬化组 RAD54L 基本高于对照组(图 3 中 B、C)。总 RNA 通过 RT-qPCR 检测,表达量以 $2^{-\Delta\Delta\text{CT}}$ 计算,结果提示,肝硬化组 RAD54L 水平较对照组升高(图 3D)。以上结果说明在肝硬化小鼠中 RAD54L 在 mRNA 和蛋白水平均有上升。 CCl_4 在代谢过程中产生的活性氧会导致 DNA 单链或双链断裂,模拟肝细胞受到外界刺激后的损伤反应并激活相应的修复过程。RAD54L 在动物模型中有效反映了这一过程的增强。

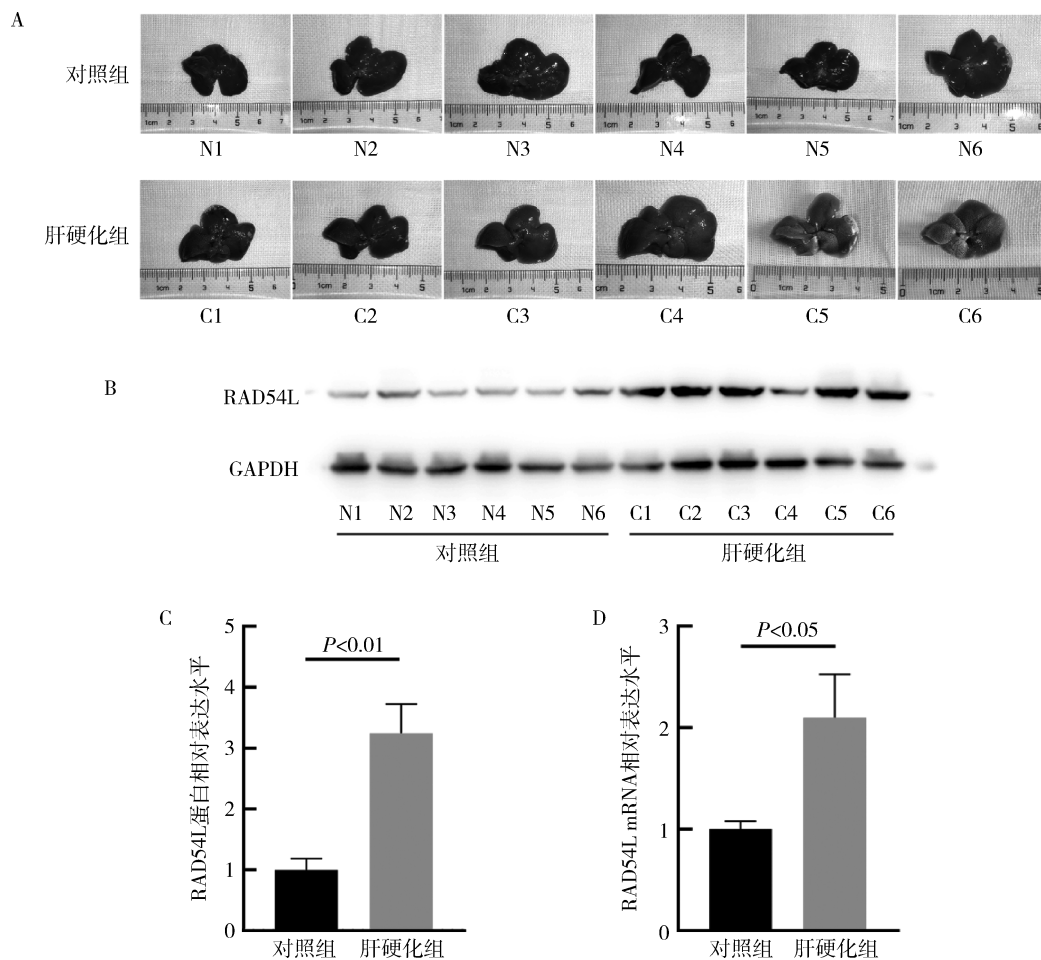


图 3 RAD54L 在小鼠肝硬化模型中的表达情况

A. 小鼠肝硬化模型对照组(N1~N6)与肝硬化组(C1~C6)肝脏标本图片;B. Western blot 法检测小鼠模型的 RAD54L 表达水平;C. 两组 RAD54L 蛋白相对表达水平的比较;D. 两组 RAD54L mRNA 相对表达水平的比较

4. RAD54L 与血清学指标的联系:为探究 RAD54L 的临床意义,本研究收集小鼠血清样本,并检测 ALT、AST、ALP 等血清学指标。检测结果分别与对应小鼠的 RAD54L 蛋白表达水平进行 Pearson 相

关性分析,详见表 1。结果显示,RAD54L 表达与 ALT ($r = 0.6133$, $P = 0.0339$) 和 AST ($r = 0.7998$, $P = 0.0018$) 呈正相关,而与 ALP ($r = 0.4892$, $P = 0.1065$) 无明显相关性。

表 1 RAD54L 蛋白与血清中生化指标的 *Pearson* 相关性分析 ($\bar{x} \pm s$, U/L)

组别	ALT	AST	ALP
对照组	32.75 ± 3.62	57.53 ± 3.98	10.47 ± 0.38
肝硬化组	45.28 ± 7.96	79.35 ± 12.21	11.28 ± 1.90
<i>r</i>	0.613	0.800	0.489
<i>P</i>	0.034	0.002	0.107

讨 论

肝脏是一个以代谢为主的器官,并且无时无刻地参与人的生命活动。正因如此,人体接触到的一些毒物、药物以及病毒都会对肝脏产生危害^[9]。但肝脏在应对这些外界刺激时症状并不明显,很少引起患者重视。当患者注意到肝功能受损时可能已经到肝硬化甚至肝癌阶段,所以肝脏疾病的早期诊断是预防肝癌发生的重点^[10-12]。

现阶段研究人员普遍认为,肝病的发展过程是由慢性炎症开始,随着机体的修复出现肝纤维化,当纤维化加重到难以逆转时进入肝硬化阶段,最后导致肝细胞的癌变^[13-15]。肝功能也随着这个过程不断损伤直至衰竭。为此研究人员希望能够找到早期提示肝细胞损伤的分子标志物,及时应对持续加重的肝脏疾病。

许多致病因素如乙肝病毒、CCl₄ 和肝毒性药物等均会引起 DNA 损伤^[16]。DNA 损伤方式包括碱基修饰、DNA 链的交联、单链断裂和双链断裂^[17]。双链断裂被认为是最严重的损伤类型,其发生原因有药物或辐射引起的基因组不稳定,R 环和拓扑异构酶诱导的转录激活,以及单链断裂的转化^[18-20]。为了防止双链断裂引起的严重后果,HRR 使用损伤链的姐妹染色体作为模板进行修复^[21]。同源重组修复在各种肿瘤中研究较多,现阶段比较常见的 HRR 关键基因有 BRCA1 和 BRCA2,其作为乳腺癌和卵巢癌中最经典的生物学标志物为疾病的诊断和治疗提供了帮助^[22-24]。但近年来有研究人员通过泛癌分析发现,仍有 15% 的同源重组修复缺陷出现在除乳腺癌和卵巢癌以外的非经典肿瘤的病例^[25,26]。

笔者团队前期研究中也发现肝癌中以 RAD54L 为首的 HRR 关键基因表达明显升高,而且在免疫组化中观察到肝硬化组织 RAD54L 高于正常肝组织。所以猜测 RAD54L 的升高不仅影响肝脏疾病的预后,而且对早期肝损伤也有提示意义。为此笔者团队设计了以上实验,通过生物信息学分析了观察到的结果,并通过临床标本和小鼠肝硬化模型验证 RAD54L

的表达,探究 RAD54L 的临床意义。

综上所述,RAD54L 作为同源重组修复的关键基因,在一定程度上反映了肝损伤的程度,而且对于肝癌发生后的预后情况也有提示意义。RAD54L 可以作为判断肝脏损伤以及了解进展情况的分子标志物。本研究结果也存在一定的局限性:仅通过 CCl₄ 建立的小鼠肝硬化模型无法模拟出临床中各种因素导致的肝硬化,不同的损伤方式引起 DNA 损伤也不尽相同。RAD54L 能否应用于多种类型导致的肝硬化的早期诊断还需要进一步探索。

参考文献

- 1 Kanda T, Goto T, Hirotsu Y, *et al.* Molecular mechanisms driving progression of liver cirrhosis towards hepatocellular carcinoma in chronic hepatitis B and C infections; a review[J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(6): 1358
- 2 Parola M, Pinzani M. Liver fibrosis: pathophysiology, pathogenetic targets and clinical issues[J]. *Mol Aspects Med*, 2019, 65: 37-55
- 3 Garrido A, Djouder N. Cirrhosis: a questioned risk factor for hepatocellular carcinoma[J]. *Trends Cancer*, 2021, 7(1): 29-36
- 4 Shimizu I, Yoshida Y, Suda M, *et al.* DNA damage response and metabolic disease[J]. *Cell Metab*, 2014, 20(6): 967-977
- 5 Li JB, Sun HZ, Huang YL, *et al.* Pathways and assays for DNA double-strand break repair by homologous recombination[J]. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)*, 2019, 51(9): 879-889
- 6 余倩云, 张瑞娟, 陈奇, 等. 合成致死策略在 DNA 损伤修复缺陷肿瘤中的研究进展[J]. *医学研究杂志*, 2014, 43(6): 4-7
- 7 虞豪骋, 张嘉凯, 张水军, 等. RAD54L 在肝细胞癌中的表达及临床意义[J]. *河南医学研究*, 2022, 31(5): 773-777
- 8 Zheng SP, Yao LT, Li FS, *et al.* Homologous recombination repair pathway and RAD54L in early-stage lung adenocarcinoma[J]. *PeerJ*, 2021, 9: e10680
- 9 Dawood RM, El-meguid MA, Salum GM, *et al.* Key players of hepatic fibrosis[J]. *J Interferon Cytokine Res*, 2020, 40(10): 472-489
- 10 杨琴, 刘怀鄂, 游晶, 等. 慢性乙型肝炎肝纤维化的无创诊断模型[J]. *临床肝胆病杂志*, 2021, 37(10): 2420-2424
- 11 Kulkarni AV, Premkumar M, Arab JP, *et al.* Early diagnosis and prevention of infections in cirrhosis[J]. *Semin Liver Dis*, 2022, 42(3): 293-312
- 12 Ginès P, Castera L, Lammert F, *et al.* Population screening for liver fibrosis: toward early diagnosis and intervention for chronic liver diseases[J]. *Hepatology*, 2022, 75(1): 219-228
- 13 Bessone F, Razori MV, Roma MG. Molecular pathways of nonalcoholic fatty liver disease development and progression[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2019, 76(1): 99-128
- 14 Ozaki K, Matsui O, Kobayashi S, *et al.* Morphometric changes in liver cirrhosis: aetiological differences correlated with progression[J]. *Br J Radiol*, 2016, 89(1059): 20150896

tis and risk of incident disease[J]. *Ann Rheum Dis*, 2020, 79(3): 400–407

8 Ma CA, Rajandran SN, Liu J, *et al.* The association of plasma IL-1ra and related cytokines with radiographic severity of early knee osteoarthritis[J]. *Osteoarthr Cartil Open*, 2020, 2(2): 100046

9 Xu B, Shi XQ, Xing RL, *et al.* Meta-analysis of the association of IL1-rn variable number of tandem repeats polymorphism with osteoarthritis risk[J]. *Acta Orthop Traumatol Turc*, 2019, 53(6): 497–501

10 Robinson T, Martin RM, Yarmolinsky J. Mendelian randomization analysis of circulating adipokines and C-reactive protein on breast cancer risk[J]. *Int J Cancer*, 2020, 147(6): 1597–1603

11 Nazarzadeh M, Pinho-Gomes AC, Bidel Z, *et al.* Plasma lipids and risk of aortic valve stenosis: a mendelian randomization study[J]. *Eur Heart J*, 2020, 41(40): 3913–3920

12 Oort S, Beulens JW, Ballegoijen AJ, *et al.* Modifiable lifestyle factors and heart failure: a mendelian randomization study[J]. *Am Heart J*, 2020, 227: 64–73

13 Burgess S, Davey SG, Davies NM, *et al.* Guidelines for performing Mendelian randomization investigations[J]. *Wellcome Open Res*, 2020, 4: 186

14 Skrivankova VW, Richmond RC, Woolf BA, *et al.* Strengthening the reporting of observational studies in epidemiology using mendelian randomization: the STROBE-MR Statement[J]. *JAMA*, 2021, 326(16): 1614

15 arcOGEN Consortium, Tachmazidou I, Hatzikotoulas K, *et al.* Identification of new therapeutic targets for osteoarthritis through genome-wide analyses of UK Biobank data[J]. *Nat Genet*, 2019, 51(2): 230–236

16 Schwager JL, Nevitt MC, Torner J, *et al.* Association of serum low-density lipoprotein, high-density lipoprotein, and total cholesterol with development of knee osteoarthritis[J]. *Arthritis Care Res*, 2022, 74(2): 274–280

17 Pacifici M. Osteoarthritis and chronic pain: interleukin-6 as a com-

mon denominator and therapeutic target[J]. *Science Signaling*, 2022, 15(744): eadd3702

18 Schadler P, Lohberger B, Thauerer B, *et al.* The association of blood biomarkers and body mass index in knee osteoarthritis: a cross-sectional study[J]. *Cartilage*, 2022, 13(1): 194760352110692

19 Chen L, Jia C, Yang H. Causal Effect of higher glycated hemoglobin (hba1c) levels on knee osteoarthritis risk: a mendelian randomization study[J]. *Rheumatol Ther*, 2023, 10(1): 239–247

20 Huang ZY, Huang Q, Wang LY, *et al.* Normal trajectory of Interleukin-6 and C-reactive protein in the perioperative period of total knee arthroplasty under an enhanced recovery after surgery scenario[J]. *BMC Musculoskelet Disord*, 2020, 21(1): 264

21 Han Y, Zhang Y, Zeng X. Assessment of causal associations between uric acid and 25-hydroxyvitamin D levels[J]. *Frontiers in Endocrinology*, 2022, 13: 1024675

22 Zhou F, Li S, Xu H. Insomnia, sleep duration, and risk of anxiety: a two-sample Mendelian randomization study[J]. *J Psychiatr Res*, 2022, 155: 219–225

23 Hannum CH, Wilcox CJ, Arend WP, *et al.* Interleukin-1 receptor antagonist activity of a human interleukin-1 inhibitor[J]. *Nat*, 1990, 343(6256): 336–340

24 Wakayama T, Saita Y, Kobayashi Y, *et al.* Quality comparison between two different types of platelet-rich plasma for knee osteoarthritis[J]. *Regen Med Res*, 2020, 8: 3

25 Deng RH, Qiu B, Zhou PH. Chitosan/hyaluronic acid/plasmid-DNA nanoparticles encoding interleukin-1 receptor antagonist attenuate inflammation in synoviocytes induced by interleukin-1 beta[J]. *J Mater Sci Mater Med*, 2018, 29(10): 155

26 Ajrawat P, Dwyer T, Chahal J. Autologous interleukin 1 receptor antagonist blood-derived products for knee osteoarthritis: a systematic review[J]. *Arthroscopy*, 2019, 35(7): 2211–2221

(收稿日期: 2023-03-28)

(修回日期: 2023-04-27)

(上接第 39 页)

15 Jalan R, Szabo G. New concepts and perspectives in decompensated cirrhosis[J]. *J Hepatol*, 2021, 75 Suppl 1(Suppl 1): S1–S2

16 Olave MC, Gurung A, Mistry PK, *et al.* Etiology of cirrhosis in the young[J]. *Hum Pathol*, 2020, 96: 96–103

17 Ma AQ, Dai XH. The relationship between DNA single-stranded damage response and double-stranded damage response[J]. *Cell Cycle*, 2018, 17(1): 73–79

18 Waterman DP, Haber JE, Smolka MB. Checkpoint responses to DNA double-strand breaks[J]. *Annu Rev Biochem*, 2020, 89(1): 103–133

19 Marnef A, Legube G. R-loops as Janus-faced modulators of DNA repair[J]. *Nature Cell Biol*, 2021, 23(4): 305–313

20 Ui A, Chiba N, Yasui A. Relationship among DNA double-strand break (DSB), DSB repair, and transcription prevents genome instability and cancer[J]. *Cancer Sci*, 2020, 111(5): 1443–1451

21 Gonzalez D, Stenzinger A. Homologous recombination repair deficiency (HRD): from biology to clinical exploitation[J]. *Genes Chromo-*

somes Cancer, 2021, 60(5): 299–302

22 Creeden JF, Nanavaty NS, Einloth KR, *et al.* Homologous recombination proficiency in ovarian and breast cancer patients[J]. *BMC cancer*, 2021, 21(1): 1154

23 Paik HJ, Jung YJ, Kim DI, *et al.* Clinicopathological features of BRCA1/2 mutation-positive breast cancer[J]. *Oncology*, 2021, 99(8): 499–506

24 金奕滋, 林明曦, 张剑. DNA 损伤应答缺陷作为乳腺癌治疗靶点的研究进展[J]. *中国癌症杂志*, 2022, 32(1): 61–67

25 Toh M, Ngeow J. Homologous recombination deficiency: cancer predispositions and treatment implications[J]. *Oncologist*, 2021, 26(9): e1526–e1537

26 Westphalen CB, Fine AD, André F, *et al.* Pan-cancer analysis of homologous recombination repair-associated gene alterations and genome-wide loss-of-heterozygosity score[J]. *Clin Cancer Res*, 2022, 28(7): 1412–1421

(收稿日期: 2023-12-11)

(修回日期: 2023-12-24)