

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2020.08.005

· 基础研究 ·

## miR-339-5p 通过抑制 NUDT5 增强肺癌 A549 细胞的放射敏感性

王柏霖<sup>1</sup>, 云天洋<sup>1</sup>, 王发鹏<sup>1</sup>, 林吉兴<sup>1</sup>, 李一民<sup>2</sup>, 梁朝阳<sup>3</sup> (1. 解放军总医院海南医院 胸外科, 海南 三亚 572000; 2. 招远市人民医院 胸外科, 山东 招远 265400; 3. 解放军总医院第一医学中心 胸外科, 北京 100089)

**[摘要]** **目的:** 探讨 miR-339-5p 通过调控 Nudix 结构水解酶 5 (Nudix hydrolase 5, NUDT5) 的表达对肺癌 A549 细胞放射敏感性的影响。**方法:** 体外低浓度梯度递增结合大剂量间断冲击方法诱导产生耐 X 射线的肺癌 A549 细胞株 (RA549), qPCR 检测 miR-339-5p 在人正常肺上皮细胞 (BEAS-2B)、肺癌细胞系 (A549、L78、H1299、H460 和 RA549 细胞) 中的表达水平。根据对 RA549 细胞的处理, 实验分为 NC 组、5 Gy 组 (5 Gy X 射线处理 RA549 细胞)、5 Gy+miR-339-5p mimic 组、5 Gy+si-NUDT5 组和 5 Gy+si-NUDT5+miR-339-5p inhibitor 组, CCK-8 法、Annexin V-FITC/PI 双染流式术和 WB 分别检测各组细胞增殖、凋亡以及 NUDT5、 $\gamma$ -H2AX 和 H2AX 蛋白表达的变化, 双荧光素酶报告基因系统验证 miR-339-5p 和 NUDT5 的靶向关系。**结果:** miR-339-5p 在各肺癌细胞系中表达显著低于 BEAS-2B 细胞 (均  $P < 0.05$ ), 其中 RA549 细胞表达水平最低。验证显示 NUDT5 是 miR-339-5p 的靶基因。与 NC 组相比, 5 Gy 组 RA549 细胞增殖活力和 NUDT5 表达显著降低 (均  $P < 0.01$ ), 凋亡率显著升高 ( $P < 0.01$ ); 与 5 Gy 组相比, 5 Gy+miR-339-5p mimic 组 RA549 细胞的增殖活力显著降低 ( $P < 0.05$ )、凋亡率 [(12.97 $\pm$ 1.48)% vs (5.21 $\pm$ 0.62)%],  $P < 0.01$ ] 和  $\gamma$ -H2AX 的表达水平 ( $P < 0.05$ ) 显著升高, 5 Gy+si-NUDT5 组 RA549 细胞中 NUDT5 的表达水平 ( $P < 0.01$ ) 和细胞增殖活力 ( $P < 0.01$ ) 均显著降低, 凋亡率 [(11.21 $\pm$ 1.06)% vs (5.54 $\pm$ 0.44)%],  $P < 0.01$ ] 和  $\gamma$ -H2AX 表达水平 ( $P < 0.01$ ) 均显著升高, 而 5 Gy+si-NUDT5+miR-339-5p inhibitor 组细胞中上述指标均回复至 5 Gy 组水平。**结论:** 过表达 miR-339-5p 通过靶向下调 NUDT5 表达肺癌 A549 细胞的放射敏感性。

**[关键词]** 肺癌; miR-339-5p; Nudix 结构水解酶 5; 放射敏感性

**[中图分类号]** R734.2; R730.55; R730.54 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2020)08-0867-07

## miR-339-5p inhibits NUDT5 and enhances radiosensitivity of lung cancer A549 cells

WANG Bailin<sup>1</sup>, YUN Tianyang<sup>1</sup>, WANG Fapeng<sup>1</sup>, LIN Jixing<sup>1</sup>, LI Yimin<sup>2</sup>, LIANG Chaoyang<sup>3</sup> (1. Department of Thoracic Surgery, Hainan Branch of Chinese PLA General Hospital, Sanya 572000, Hainan, China; 2. Department of Thoracic Surgery, People's Hospital of Zhaoyuan City, Zhaoyuan 265400, Shandong, China; 3. Department of Thoracic Surgery, the First Medical Center of Chinese PLA General Hospital, Beijing 100089, China)

**[Abstract]** **Objective:** To explore the influence of miR-339-5p on the radio-sensitivity of lung cancer A549 cells by regulating the expression of Nudix hydrolase 5 (NUDT5). **Methods:** X-ray-resistant lung cancer A549 cells (RA549) were induced by treatment with low concentration gradient increment combined with large dose intermittent shock *in vitro*. The expression level of miR-339-5p in human normal lung epithelial cells (BEAS-2B) and lung cancer cell lines (A549, L78, H1299, H460 and RA549 cells) was detected by qPCR. According to the treatment, RA549 cells were divided into NC group, 5Gy group (treatment with 5Gy X-ray), 5Gy+miR-339-5p mimic group, 5Gy+si-NUDT5 group and 5Gy+si-NUDT5+miR-339-5p inhibitor group. CCK-8 assay, Annexin V-FITC/PI double staining flow cytometry and WB were used to detect the proliferation, apoptosis and the protein expressions of NUDT5,  $\gamma$ -H2AX and H2AX in each group. The targeting relationship between miR-339-5p and NUDT5 was detected by Dual-luciferase reporter gene system. **Results:** The expression of miR-339-5p in lung cancer cell lines was significantly lower than that in BEAS-2B cells, with the lowest ex-

**[基金项目]** 国家重点基础研究发展(973 计划)计划资助项目(No. 2014CB542102); 国家自然科学基金资助项目(No. 31570869; 31170844)。Project supported by the Major State Basic Research Development Program (973 Program) of China (No. 2014CB542102), and the National Natural Science Foundation of China Grants (No. 31570869; 31170844)

**[作者简介]** 王柏霖(1989-),男,硕士生,住院医师,主要从事肺癌的微创手术治疗、精准治疗及个体化治疗,E-mail:qaz74766@163.com

**[通信作者]** 梁朝阳(LIANG Chaoyang, corresponding author),博士,主任医师,主要从事肺部结节诊治及肺癌治疗相关的基础与临床研究,E-mail:chaoyangliang301@sina.com

pression level in RA549 cells (all  $P < 0.05$ ). NUDT5 was the target gene of miR-339-5p. Compared with the NC group, the proliferation activity and NUDT5 expression of RA549 cells in the 5 Gy group were significantly reduced (all  $P < 0.01$ ), and the apoptosis rate was significantly increased ( $P < 0.01$ ). Compared with the 5 Gy group, the proliferation activity of RA549 cells in the 5 Gy+miR-339-5p mimic group was significantly reduced ( $P < 0.05$ ), the apoptosis rate ( $[12.97 \pm 1.48]\%$  vs  $[5.21 \pm 0.62]\%$ ,  $P < 0.01$ ) and the expression level of  $\gamma$ -H2AX ( $P < 0.05$ ) were significantly increased; the expression of NUDT5 ( $t = 7.58$ ,  $P < 0.01$ ) and cell proliferation activity ( $t = 6.58$ ,  $P < 0.01$ ) of RA549 cells in the 5 Gy+si-NUDT5 group were significantly reduced, while the apoptosis rate ( $[11.21 \pm 1.06]\%$  vs  $[5.54 \pm 0.44]\%$ ,  $P < 0.01$ ) and the expression of  $\gamma$ -H2AX ( $P < 0.01$ ) were significantly increased; and the above indicators in 5 Gy+si-NUDT5+miR-339-5p inhibitor group showed insignificant difference from the 5 Gy group. **Conclusion:** Overexpression of miR-339-5p enhances the radio-sensitivity of X-ray-resistant lung cancer A549 cells by targetedly down-regulating NUDT5 expression.

**[Key words]** lung cancer; miR-339-5p; Nudix hydrolase 5 (NUDT5); radio-sensitivity

[Chin J Cancer Biother, 2020, 27(8): 867-873. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2020.08.005]

肺癌是世界范围内癌症相关因素致成人死亡的主要原因<sup>[1]</sup>,每年诊断的新病例超过200万例,具有复发率高、耐药率高的特点,5年生存率约为15%~20%<sup>[2]</sup>,严重威胁人类的生命健康。放射治疗是治疗肺癌的常用方法<sup>[3]</sup>,初治缓解率高,但治疗后期极易发生放疗抵抗,从而降低了放射治疗的预期效果,因此有必要探索影响肺癌细胞放射敏感性的分子机制。研究<sup>[4-6]</sup>证实,miR-339-5p可通过靶向下调 $\alpha$ -1,2-海藻糖苷转移酶1促进小细胞肺癌紫杉醇的化疗敏感性,其过表达可降低食管鳞癌细胞生存活力,促进DNA损伤以及诱导细胞凋亡,从而增强食管鳞癌的放射敏感性,但关于miR-339-5p调控肺癌细胞放射敏感性的机制研究较少。Nudix结构水解酶5(nudix hydrolase 5, NUDT5)参与核苷酸代谢和癌症发生发展的关键过程,其表达水平与肾透明细胞癌预后呈正相关<sup>[7]</sup>;同时,在NUDT5低表达的成纤维细胞IMR-90中RNA氧化水平显著升高,细胞衰老和细胞凋亡率显著增加,细胞活力显著降低<sup>[8-9]</sup>。但目前尚少研究证实NUDT5调控肺癌细胞放射敏感性的机制。此外,根据生物学信息库StarBase预测发现,miR-339-5p与NUDT5有结合位点。因此,本研究旨在探讨miR-339-5p通过调控NUDT5影响肺癌细胞放射敏感性的可能机制。

## 1 材料与方法

### 1.1 细胞株及主要试剂

人肺癌细胞A549、L78、H1299、H460以及人肺上皮细胞BEAS-2B均购自北京北纳创联生物技术研究院,常规培养;胎牛血清(FBS)、青霉素、链霉素、DMEM培养基和Lipofectamine 2000转染试剂均购自Thermo Fisher Scientific公司,一步法逆转录试剂盒购自上海翊圣生物科技有限公司,TRIzol试剂盒购自武汉默沙克生物科技有限公司,Annexin V-FITC/PI购自厦门慧嘉生物科技有限公司,双荧光素酶报告基因试剂盒购自北京拜尔迪生物技术有限公司,CCK-8、RIPA裂解液购自上海恒斐生物科技有限公

司,NUDT5一抗、HRP标记的二抗均购自武汉益普生物科技有限公司,BCA试剂盒和SDS-PAGE凝胶制备试剂盒均购自Solarbio公司,miR-339-5p mimic、miR-339-5p inhibitor、阴性对照NC及si-NUDT5均由上海吉玛制药技术有限公司设计并合成。

### 1.2 X射线照射构建放疗抵抗的肺癌A549细胞株

将对数期的A549细胞接种于6孔板中,使用Xstragl小动物辐射研究平台(SARRR)2000给予浓度持续增加的X射线(0.1~3 Gy)处理后,置于培养箱中培养,淘汰亚致死细胞,剩下的细胞同法继续照射、培养、传代多次,直至3 Gy X线照射后A549细胞稳定增殖且无明显死亡,即为肺癌X射线抵抗株,命名为RA549。

### 1.3 RA549细胞转染

选取对数生长期的RA549细胞,接种于6孔板中,置37 °C、5% CO<sub>2</sub>培养箱中培养,待细胞汇合60%~70%时接Lipofectamine 2000转染试剂说明书将miR-339-5p mimic、miR-339-5p inhibitor、阴性对照NC及si-NUDT5转染RA549细胞,继续培养48 h后进行后续实验。

### 1.4 qPCR检测A549和RA549细胞中miR-339-5p的表达水平

使用TRIzol试剂盒提取细胞中的总RNA,采用逆转录试剂盒将RNA逆转录成cDNA,以U6为内参,进行PCR扩增,扩增程序为95 °C预变性5 min后,94 °C变性30 s、60 °C退火30 s、72 °C延伸15 s,共50个循环。引物序列见表1。采用2<sup>- $\Delta\Delta$ Ct</sup>法计算目的基因相对表达量。实验重复3次。

### 1.5 CCK-8检测A549和RA549细胞增殖活力

取待测细胞,调整细胞密度为 $5 \times 10^4$ 个/ml,将细胞悬浮液接种至96孔板中,每孔100  $\mu$ l,各组均设置3个复孔,置于37 °C,5%CO<sub>2</sub>培养箱中培养,分别在培养0、24、48、72、96 h时加入15  $\mu$ l CCK-8培养液,继续培养2 h,用酶标仪测定在450 nm处的光密度(D)值。细胞增殖率= $[D(4 \text{ Gy})/D(0 \text{ Gy})] \times 100\%$ 。用GraphPad 8.0软件计算X射线对A549和RA549细胞

的半数抑制剂量( $IC_{50}$ )。

表1 qPCR引物序列  
Tab.1 Primer sequences for qPCR

Target	Primer sequence
miR-339-5p	F: 5'-GGTCCCTGTCCTCCCA-3' R: 5'-TGCGTGTGCGGAGTC-3'
U6	F: 5'-CTCGCTTCGGCAGCACATATACT-3' R: 5'-ACGCTTACGAATTTGCGTGC-3'

### 1.6 Annexin V-FITC/PI双染检测RA549细胞凋亡水平

收集各组待测细胞, PBS清洗两次, 加入500  $\mu$ l结合缓冲液和5  $\mu$ l Annexin V-FITC, 充分混匀后室温避光孵育15 min, 再加入5  $\mu$ l PI染色液, 混合均匀后孵育5 min, 使用流式细胞仪检测RA549细胞凋亡水平。实验重复3次。

### 1.7 双荧光素酶验证miR-339-5p和NUDT5的靶向关系

StarBase数据库预测miR-339-5p和NUDT5的结合位点, 扩增NUDT5基因3'片段, 插入双荧光素酶报告基因pmirGLO中, 构建NUDT5野生型质粒(pmirGLO-NUDT5-WT); 应用基因突变技术改变miR-339-5p和NUDT5的结合位点, 用同样的方法构建NUDT5突变型质粒(pmirGLO-NUDT5-MUT)。将pmirGLO-NUDT5-WT、pmirGLO-NUDT5-MUT分别和miR-339-5p mimics或miR-NC转染到HEK-293T细胞内, 培养48 h, 用双荧光素酶报告基因试剂盒检测各组荧光素酶活性。

### 1.8 WB检测RA549中蛋白表达水平

收集各组待测细胞, PBS清洗3次, 加入200  $\mu$ l RIPA裂解液, 冰上静置30 min, 4  $^{\circ}$ C、12 000 $\times$ g, 离心15 min, 收集上清液。BCA法测定蛋白浓度。每组取50  $\mu$ g总蛋白样本进行SDS-PAGE分离蛋白条带, 用电转移法将蛋白转移至PVDF膜上, 5%脱脂奶粉封闭1 h, 加入一抗(1:1 500), 4  $^{\circ}$ C孵育过夜; 次日, TBST洗涤3次, 加入HRP标记的二抗, 室温孵育2 h, TBST洗涤3次后加入ECL化学发光液进行显影, 在凝胶成像仪上观察并拍照, 采用Image J灰度分析软件分析灰度值, 计算相对表达量。实验重复3次。

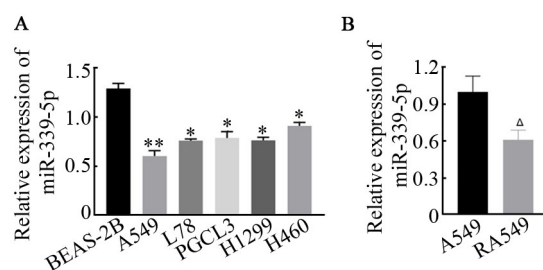
### 1.9 统计学处理

采用GraphPad 8.0软件分析, 呈正态分布的计量数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示。两组间比较采用 $t$ 检验, 多组间比较采用单因素方差分析, 以 $P<0.05$ 或 $P<0.01$ 表示差异具有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 miR-339-5p在RA549细胞中呈低表达

qPCR检测人正常肺上皮细胞(BEAS-2B)和其他常见肺癌细胞系中miR-339-5p的表达水平, 结果(图1)显示, miR-339-5p在肺癌细胞系中表达水平显著低于BEAS-2B细胞, 且在A549细胞中表达最低( $t=5.68, P<0.01$ ); 在RA549细胞中, miR-339-5p表达水平较亲本细胞A549更低( $t=4.43, P<0.05$ )。



\* $P<0.05$ , \*\* $P<0.01$  vs BEAS-2B cells;  $^{\Delta}P<0.05$  vs A549 cells

The expression of miR-339-5p in lung cancer cell lines and human normal lung epithelial BEAS-2B cells; B: The expression of miR-339-5p in A549 and RA549 cells

图1 miR-339-5p在肺癌细胞系和RA549细胞中呈低表达

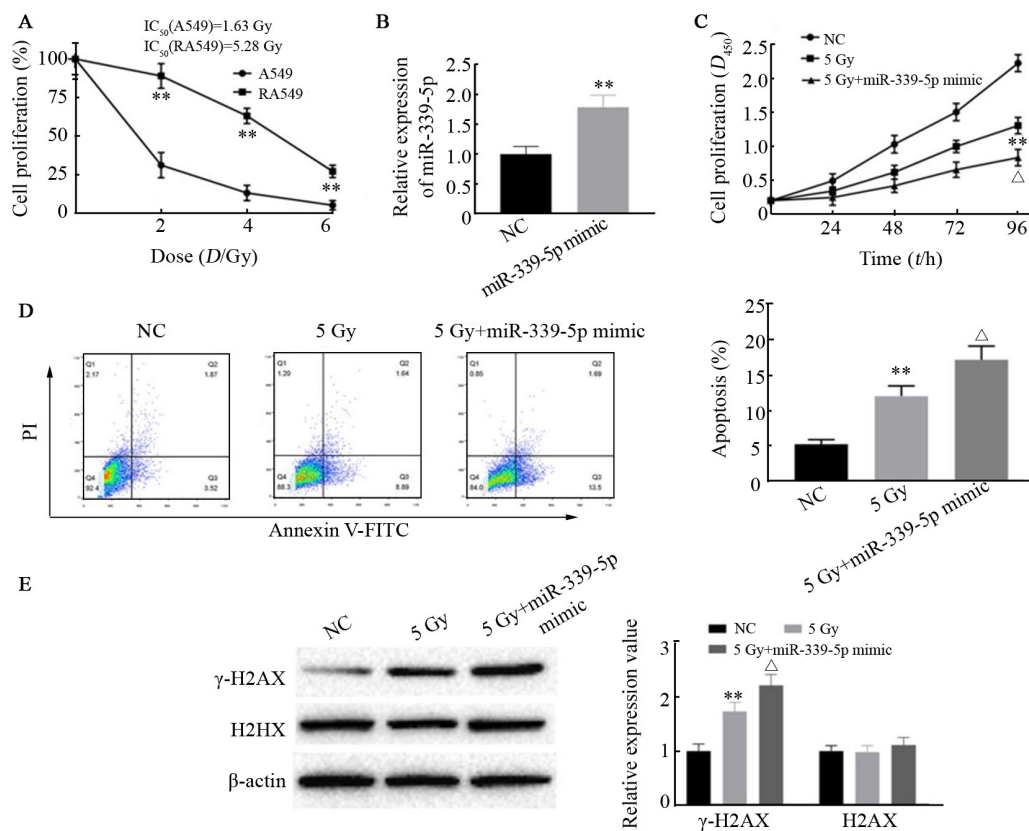
Fig.1 Low expression of miR-339-5p in lung cancer cell lines and RA549 cells

### 2.2 过表达miR-339-5p增强RA549细胞放射敏感性

CCK-8检测结果(图2A)显示, 不同剂量X线(2、4、6 Gy)作用下, 其杀伤RA549细胞的 $IC_{50}$ 均显著高于杀伤A549细胞的 $IC_{50}$ (2 Gy:  $t=8.9178, P<0.01$ ; 4 Gy:  $t=12.25, P<0.01$ ; 6 Gy:  $t=7.62, P<0.01$ ), 表明耐药细胞株构建成功。

qPCR检测结果(图2B)显示, miR-339-5p mimics组RA549细胞中miR-339-5p的表达水平显著高于NC组( $t=5.91, P<0.05$ )。CCK-8检测结果(图2C)显示, 5 Gy组RA549细胞增殖活力显著低于NC组( $t=6.21, P<0.01$ ), 同时显著高于5 Gy+miR-339-5p mimic组( $t=4.33, P<0.05$ )。Annexin V-FITC/PI双染流式术检测结果(图2D)显示, 5 Gy组RA549细胞的凋亡率明显高于NC组[(12.97 $\pm$ 1.48)% vs (5.21 $\pm$ 0.62)%],  $t=8.38, P<0.01$ ], 同时显著低于5 Gy+miR-339-5p mimic组[(19.25 $\pm$ 1.97)% vs (12.97 $\pm$ 1.48)%],  $t=4.41, P<0.05$ ]。WB检测结果(图2E)显示, 5 Gy组中 $\gamma$ -H2AX的表达水平显著高于NC组( $t=5.91, P<0.01$ ), 同时显著低于5 Gy+miR-339-5p mimic组( $t=3.17, P<0.05$ )。





\* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$  vs NC group; <sup>^</sup> $P < 0.05$  vs 5 Gy group

A: IC<sub>50</sub> of RA549 cells and A549 cells were measured by CCK-8 assay; B: qPCR was used to detect the expression of miR-339-5p in RA549 cells; C: CCK-8 was used to detect the proliferation activity of RA549 cell; D: The apoptosis rate of A549 was detected by Annexin V-FITC/PI double staining; E: The expression levels of  $\gamma$ -H2AX and H2AX were detected by WB

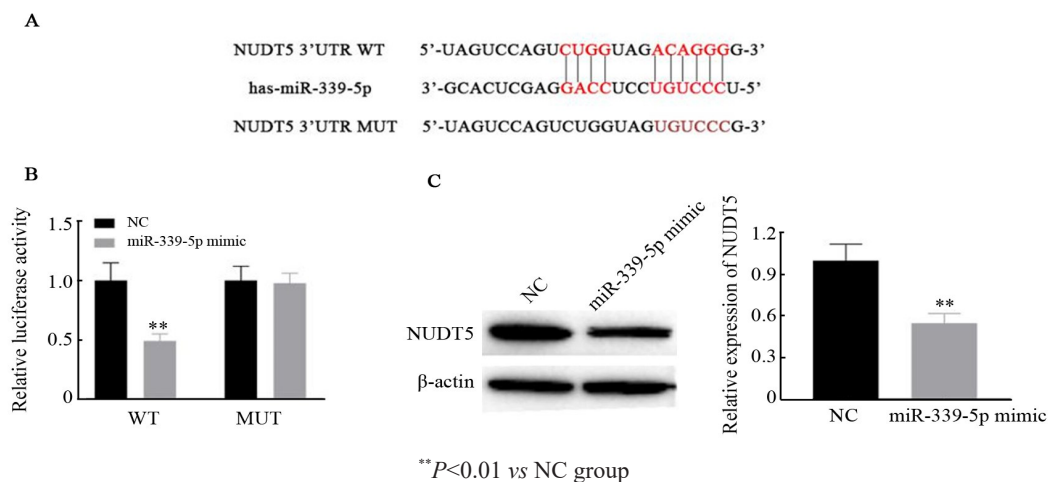
图2 过表达 miR-339-5p 增强 A549 细胞放射敏感性

Fig.2 Overexpression of miR-339-5p enhanced the radio-sensitivity of A549 cells

### 2.3 miR-339-5p 靶向下调 NUDT5 表达水平

生物学信息库 StarBase 预测结果(图 3A)显示, NUDT5 是 miR-339-5p 的候选靶基因。双荧光素酶报告基因实验检测结果(图 3B)显示,过表达的 miR-339-5p 显著降低 NUDT5/WT 质粒荧光素酶活性

( $t=5.47, P < 0.01$ ),而对 NUDT5/MUT 质粒荧光素酶无显著影响。WB 检测结果(图 3C)显示,过表达 miR-339-5p 组 RA549 细胞中 NUDT5 的表达显著低于对照组( $0.55 \pm 0.07$  vs  $1.00 \pm 0.12, t=5.61, P < 0.01$ )。



\*\* $P < 0.01$  vs NC group

A: StarBase V2.0 database was used to predict the interaction between miR-339-5p with NUDT5; B: Dual-luciferase reporter gene assay was carried out to verify the relationship between miR-339-5p and NUDT5; C: WB was used to measure the expression of NUDT5

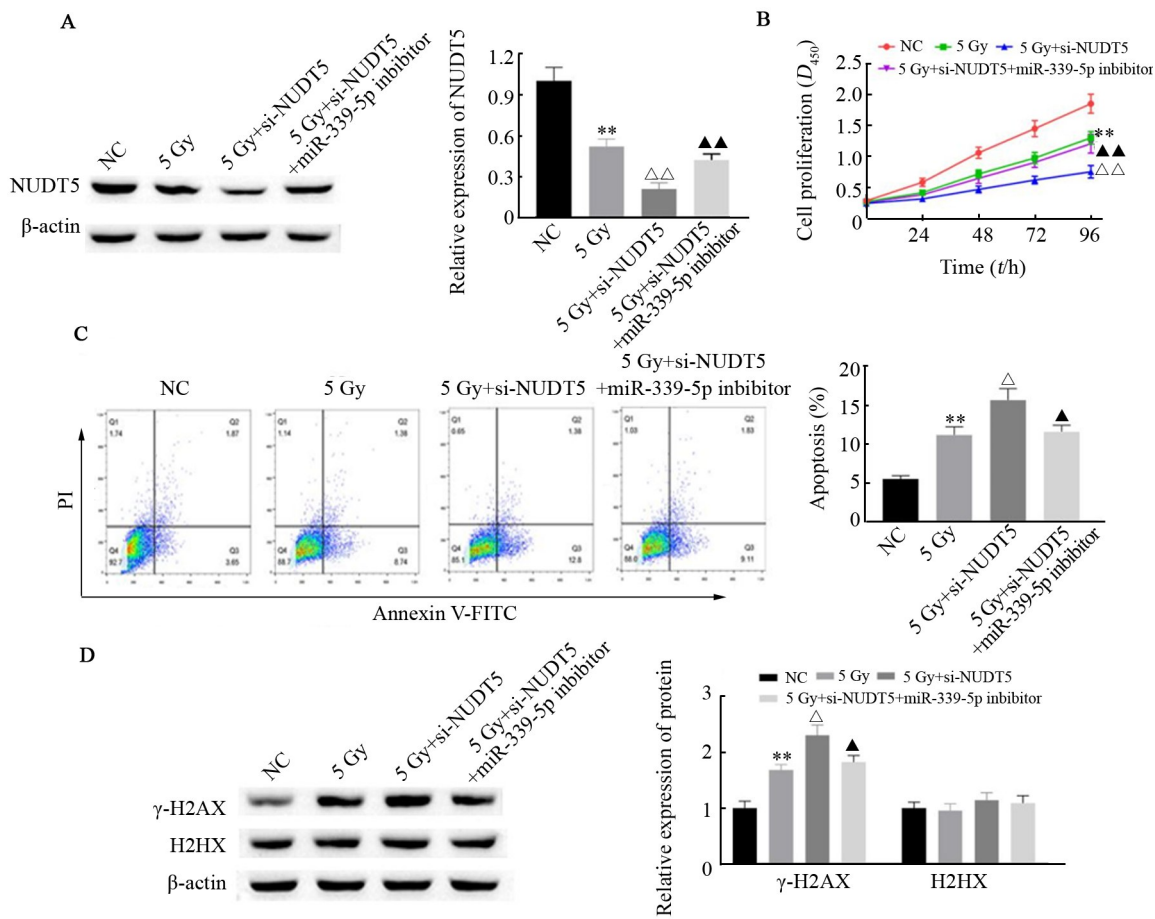
图3 miR-339-5p 靶向下调 NUDT5 的表达

Fig.3 miR-339-5p targetedly down-regulated NUDT5 expression

2.4 miR-339-5p 通过下调NUDT5 增强 RA549 细胞放射敏感性

检测在 5 Gy 剂量 X 射线影响下, miR-339-5p 和 NUDT5 对 RA549 细胞的增殖、凋亡及  $\gamma$ -H2AX 表达的影响, 以此判断 miR-339-5p 与 NUDT5 对 RA549 细胞放射敏感性的影响。WB(图 4A)和 CCK-8 实验(图 4B)检测结果显示, 5 Gy 组 RA549 细胞中 NUDT5 的表达( $t=7.32, P<0.01$ )和细胞增殖活力( $t=5.15, P<0.01$ )较 NC 组明显降低; 转染 si-NUDT5 96 h 后, 5 Gy+si-NUDT5 组 RA549 细胞中 NUDT5 的表达水平( $t=7.58, P<0.01$ )和细胞增殖活力( $t=6.58, P<0.01$ )均显著低于 5 Gy 组; 而 5 Gy+si-NUDT5+

miR-339-5p inhibitor 组细胞中 NUDT5 的表达水平、细胞增殖活力均与 5 Gy 组无显著差异。Annexin V-FITC/PI 双染(图 4C)和 WB(图 4D)检测结果显示, 5 Gy 组 RA549 细胞凋亡率[(11.21±1.06)% vs (5.54±0.44)%,  $t=8.59, P<0.01$ ]和  $\gamma$ -H2AX 表达水平( $t=7.78, P<0.01$ )均显著高于 NC 组; 相比于 5 Gy 组, 5 Gy+NUDT5 组 RA549 细胞凋亡率[(15.72±1.47)% vs (11.21±1.06)%,  $t=4.30, P<0.05$ ]和  $\gamma$ -H2AX 表达水平( $t=5.13, P<0.05$ )均显著升高; 而 5 Gy+si-NUDT5+miR-339-5p inhibitor 组 RA549 细胞的凋亡率和  $\gamma$ -H2AX 表达水平均与 5 Gy 组无显著差异。



\*\* $P<0.01$  vs NC group;  $^{\Delta}P<0.05, ^{\Delta\Delta}P<0.01$  vs 5 Gy group;  $^{\blacktriangle}P<0.05$  vs 5 Gy+si-NUDT5 group

A: The expression of NUDT5 was detected by WB; B: Cell proliferation viability of RA549 cells was measured by CCK-8 assay; C: Annexin V-FITC/PI double staining was used to detect the apoptosis of RA549 cells; D: WB was used to detect the expression level of  $\gamma$ -H2AX and H2HX

图 4 miR-339-5p 通过靶向下调 NUDT5 增强肺癌细胞放射敏感性

Fig.4 miR-339-5p enhanced the radio-sensitivity of lung cancer cells by targetedly down-regulating NUDT5

3 讨论

研究<sup>[10]</sup>证实 miRNA 的异常表达能够影响肿瘤对放射的敏感性。过表达 miR-24 可通过下调食管癌组织和细胞中 Fermitin 家族同源物 1 蛋白(Fermitin

family member 1, FERMT1)表达来抑制肿瘤细胞生长和增强食管癌细胞的放射敏感性<sup>[11]</sup>; miR-29b 在耐辐射宫颈癌细胞中低表达, 过表达 miR-29b 可通过靶向 PTEN 显著抑制肿瘤细胞的增殖、迁移和侵袭, 诱导细胞凋亡, 从而增加细胞放射敏感性<sup>[12]</sup>; miR-29-3p

在耐辐射鼻咽癌细胞中低表达, miR-29-3p 高表达使暴露于射线下的肿瘤细胞存活率降低, 抑制细胞增殖和迁移, 增加细胞放射敏感性<sup>[13]</sup>; 过表达 miR-1246 可抑制膀胱癌细胞中的 p53 基因激活, 增强膀胱癌细胞活力和集落形成能力, 降低细胞凋亡率, 从而增强膀胱癌细胞放射抵抗性<sup>[14]</sup>。DNA 损伤可导致细胞处于阻滞状态, 以此抑制细胞增殖并诱导细胞凋亡, 而双链断裂是代表射线诱导的 DNA 损伤的最重要类型之一, 且在双链断裂早期, DNA 损伤位点处的组蛋白 H2AX 被快速激活并磷酸化为  $\gamma$ -H2AX<sup>[6, 15-16]</sup>, 因此, 检测细胞中  $\gamma$ -H2AX 表达水平可评估 DNA 损伤情况。本研究发现, miR-339-5p 在肺癌细胞中低表达, 过表达 miR-339-5p 可抑制 X 线处理的抗耐辐射细胞 RA549 的增殖, 促进其凋亡和 DNA 损伤, 从而增加 RA549 细胞的放射敏感性。

miRNA 可靶向其下游靶基因而调控肿瘤细胞放射敏感性<sup>[17]</sup>。例如, 神经胶质瘤细胞中过表达的 miR-212 通过靶向下调 BRCA1, 增强细胞的集落形成能力, 减弱放射诱导的细胞凋亡, 从而降低细胞放射敏感性<sup>[18]</sup>; miR-144-5p 通过靶向下调 ATF2 增强非小细胞肺癌的放射敏感性<sup>[19]</sup>; miR-498 通过靶向调控 PTEN 促进前列腺癌细胞的增殖、迁移和侵袭, 降低放射敏感性<sup>[20]</sup>; FERMT1 在食管癌组织中高表达, 而过表达 miR-24 可靶向负调控 FERMT1, 从而增加食管癌放射敏感性<sup>[11]</sup>。NUDT5 是一种与突变体相关的蛋白, 已被鉴定为是乳腺癌细胞中激素依赖性基因调控和增殖的变阻器, 在乳腺癌细胞核中产生 ATP, 介导孕激素和雌激素依赖性基因表达, 从而调控乳腺细胞的增殖<sup>[7-8]</sup>; 此外, 有研究<sup>[21]</sup>证实, NUDT5 低表达使宫颈癌 HeLa 细胞周期 G1 期显著延长, S 期和 G2/M 期细胞数减少, 从而抑制细胞增殖。本研究发现在 RA549 细胞中过表达 miR-339-5p 可通过靶向抑制 NUDT5 的表达, 进而抑制 RA549 细胞的增殖, 促进其凋亡, 从而增加细胞的放射敏感性。

综上所述, 本研究证实了 miR-339-5p 对肺癌 A549 细胞放射敏感性起着重要的调控作用, 过表达的 miR-339-5p 通过靶向下调 NUDT5 的表达水平, 抑制 RA549 细胞增殖, 促进 RA549 细胞凋亡和 DNA 损伤, 进而增强 RA549 细胞的放射敏感性。

## [参考文献]

- [1] DICKHOFF C, RODRIGUEZ SCHAAP P M, OTTEN R H J, et al. Salvage surgery for local recurrence after stereotactic body radiotherapy for early stage non-small cell lung cancer: a systematic review[J]. *Ther Adv Med Oncol*, 2018, 10: 1-8. DOI: 10.1177/1758835918787989.
- [2] YU W N, LAI Y J, MA J W, et al. Citronellol induces necroptosis of human lung cancer cells via TNF- $\alpha$  pathway and reactive oxygen species accumulation[J]. *Vivo*, 2019, 33(4): 1193-1201. DOI: 10.21873/in vivo.11590.
- [3] CHI C L, LI F W, LIU H B, et al. Docetaxel-loaded biomimetic nanoparticles for targeted lung cancer therapy in vivo[J]. *J Nanoparticle Res*, 2019, 21(7): 1-10. DOI:10.1007/s11051-019-4580-8.
- [4] LONG L, ZHANG X, BAI J, et al. Tissue-specific and exosomal miRNAs in lung cancer radiotherapy: from regulatory mechanisms to clinical implications[J]. *Cancer Manag Res*, 2019, 11: 4413-4424. DOI:10.2147/CMAR.S198966.
- [5] LUO A P, ZHOU X T, SHI X, et al. Exosome-derived miR-339-5p mediates radiosensitivity by targeting Cdc25A in locally advanced esophageal squamous cell carcinoma[J]. *Oncogene*, 2019, 38(25): 4990-5006. DOI:10.1038/s41388-019-0771-0.
- [6] GAN C Z, LI G, LUO Q S, et al. miR-339-5p downregulation contributes to Taxol resistance in small-cell lung cancer by targeting  $\alpha$  1, 2-fucosyltransferase 1[J]. *IUBMB Life*, 2017, 69(11): 841-849. DOI:10.1002/iub.1679.
- [7] PAGE B D G, VALERIE N C K, WRIGHT R H G, et al. Targeted NUDT5 inhibitors block hormone signaling in breast cancer cells[J]. *Nat Commun*, 9(1): 250[2020-05-20]. <https://www.nature.com/articles/s41467-017-02293-7>. DOI:10.1038/s41467-017-02293-7.
- [8] WANG Y, WAN F N, CHANG K, et al. NUDT expression is predictive of prognosis in patients with clear cell renal cell carcinoma[J]. *Oncol Lett*, 2017, 14(5): 6121-6128. DOI:10.3892/ol.2017.6997.
- [9] ZHANG L Q, SONG X N, DAI D P, et al. Lowered Nudix type 5 expression leads to cellular senescence in IMR-90 fibroblast cells[J]. *Free Radic Res*, 2013, 47(6/7): 511-516. DOI: 10.3109/10715762.2013.795221.
- [10] JIN Y Y, CHEN Q J, WEI Y, et al. Upregulation of microRNA-98 increases radiosensitivity in esophageal squamous cell carcinoma[J]. *J Radiat Res*, 2016, 57(5): 468-476. DOI:10.1093/jrr/rrw068.
- [11] YAN Q H, CHEN T, YANG H, et al. The effect of FERMT1 regulated by miR-24 on the growth and radiation resistance of esophageal cancer[J]. *J Biomed Nanotechnol*, 2019, 15(3): 621-631. DOI: 10.1166/jbn.2019.2711.
- [12] ZHANG T T, XUE X, PENG H X. Therapeutic delivery of miR-29b enhances radiosensitivity in cervical cancer[J]. *Mol Ther*, 2019, 27(6): 1183-1194. DOI:10.1016/j.ymthe.2019.03.020.
- [13] GUO Y, ZHAI J H, ZHANG J, et al. Improved radiotherapy sensitivity of nasopharyngeal carcinoma cells by miR-29-3p targeting COL1A1 3'-UTR[J]. *Med Sci Monit*, 2019, 25: 3161-3169. DOI: 10.12659/MSM.915624.
- [14] XU R, LI H B, WU S Q, et al. MicroRNA-1246 regulates the radiosensitizing effect of curcumin in bladder cancer cells via activating P53[J]. *Int Urol Nephrol*, 2019, 51(10): 1771-1779. DOI: 10.1007/s11255-019-02210-5.
- [15] ZHANG H, DENG Y, LIANG L P, et al. Knockdown of TRIM31 enhances colorectal cancer radiosensitivity by inducing DNA damage and activating apoptosis[J]. *OncoTargets Ther*, 2019, 12: 8179-8188. DOI:10.2147/OTT.S215769.
- [16] LEE J O, KANG M J, BYUN W S, et al. Metformin overcomes resistance to cisplatin in triple-negative breast cancer (TNBC) cells by targeting RAD51[J]. *Breast Cancer Res*, 2019, 21(1): 1-18. DOI: 10.1186/s13058-019-1204-2.
- [17] NI J, BUCCI J, CHANG L, et al. Targeting MicroRNAs in prostate

- cancer radiotherapy[J]. *Theranostics*, 2017, 7(13): 3243-3259. DOI: 10.7150/thno.19934.
- [18] HE X, FAN S J. Hsa-miR-212 modulates the radiosensitivity of glioma cells by targeting BRCA1[J]. *Oncol Rep*, 2018, 39(3): 977-984. DOI:10.3892/or.2017.6156.
- [19] SONG L, PENG L P, HUA S C, et al. miR-144-5p enhances the radiosensitivity of non-small-cell lung cancer cells via targeting ATF2 [J]. *Biomed Res Int*, 2018, 2018: 5109497. DOI: 10.1155/2018/5109497.
- [20] DUAN X M, LIU X N, LI Y X, et al. MicroRNA-498 promotes proliferation, migration, and invasion of prostate cancer cells and decreases radiation sensitivity by targeting PTEN[J]. *Kaohsiung J Med Sci*, 2019, 35(11): 659-671. DOI:10.1002/kjm2.12108.
- [21] ZHANG L Q, DAI D P, GAN W, et al. Lowered Nudix type 5 (NUDT5) expression leads to cell cycle retardation in HeLa cells [J]. *Mol Cell Biochem*, 2012, 363(1/2): 377-384. DOI: 10.1007/s11010-011-1190-x.
- [收稿日期] 2020-03-10 [修回日期] 2020-06-24  
[本文编辑] 黄静怡