

抗氧化转录因子 Nrf2 与 Rad51 相互作用 降低 BLM 对细胞 DNA 的损伤

徐倩倩 张沛誉 陈 妮

摘要 目的 探究核因子 E2 相关因子 2 (Nrf2) 在博来霉素 (BLM) 诱导肺癌细胞 DNA 损伤中的作用机制。方法 用活性氧 (ROS) 荧光探针 (DCFH-DA) 检测人肺癌细胞 A549 和 H1299 细胞内组织 ROS 的荧光强度。用 Western blot 及微核检测 A549 和 H1299 细胞在 5 $\mu\text{g/ml}$ BLM 处理后细胞 DNA 损伤情况。接着分别构建 Nrf2 低表达瞬转 siRNA 及稳转细胞系 shRNA 的肺癌细胞来检测在 BLM 作用后 Nrf2 低表达的细胞 DNA 损伤情况。细胞内 Nrf2 和 Rad51 蛋白相互作用采用免疫共沉淀方法进行检测。结果 研究显示, 在 BLM 作用下, A549 和 H1299 细胞内的 ROS 水平上升 ($P < 0.01$), 且出现 Nrf2 进入细胞核发生活化的现象。在 BLM 作用下, 白藜芦醇 (Res) 刺激 A549 和 H1299 细胞能使 Nrf2 的蛋白表达水平上调 ($P < 0.01$), 然而 DNA 损伤标志蛋白 γ -H2AX 的表达却下降 ($P < 0.01$)。相反, 用 siRNA 干扰细胞内 Nrf2 的表达后, 在 BLM 作用下 A549 和 H1299 细胞的 γ -H2AX 蛋白表达上调 ($P < 0.01$)。Western blot 结果显示同源重组修复蛋白 Rad51 的表达与 Nrf2 低表达的 A549 细胞中 Nrf2 蛋白的表达出现同步下调 ($P < 0.01$)。结论 肺癌细胞内抗氧化转录因子 Nrf2 可与 Rad51 相互作用调控 Rad51 的表达, 降低 BLM 诱导的细胞 DNA 的损伤。

关键词 Nrf2; Rad51; DNA 损伤修复; 博来霉素

中图分类号 R 811

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2022)11-1769-06
doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2022.11.015

据最新的全球癌症统计报告, 肺癌是最常见的恶性肿瘤之一, 仅 2020 年就有新增肺癌病例 220 万例 (占总病例的 11.6%), 死亡 180 万例, 占人类所有癌症死亡人数的近五分之一, 肺癌的低治愈率是当前面临的重大难题^[1]。据研究肿瘤细胞对博来霉素 (bleomycin, BLM) 耐药性的产生是导致治疗失败的重要原因^[2-4], 肿瘤细胞对 BLM 的耐药主要表现在 DNA 损伤修复能力的增加。BLM 被发现能诱

导肿瘤细胞株 G_2/M 期阻滞^[5], 而这可能与细胞在 G_2/M 检查点对 DNA 损伤的应答有关。另有研究表明, 在 BLM 作用下肿瘤细胞内的抗氧化水平升高^[6], 这也可能是细胞产生抗性的另一大因素。

核因子 E2 相关因子 2 (nuclear factor erythroid related factor 2, Nrf2) 是抗氧化应激反应的关键调节因子, 在许多肿瘤中发现 Nrf2 通路的过度活化与肿瘤治疗过程中的放化疗抵抗有关^[7]。目前 Nrf2 在放化疗抵抗中的相关研究主要聚焦在氧化应激方面, 而在参与 DNA 损伤应答方面的研究仍较少。该研究中, 以人肺癌细胞系 A549 和 H1299 为对象, 探究抗氧化转录因子 Nrf2 对 BLM 诱导的 DNA 损伤水平及 DNA 损伤修复的影响。

1 材料与方法

1.1 实验材料 BLM、白藜芦醇 (resveratrol, Res)、N-乙酰基-L-半胱氨酸 (N-Acetyl-L-cysteine, NAC) 均购自美国 Sigma-Aldrich 公司; NRF2 慢病毒颗粒、聚凝胺溶液 (polybrene)、质粒转染培养基均购自上海吉玛基因公司; 细胞松弛素 B (cytochalasins B, CB)、吡啶橙粉末、嘌呤霉素 (puromycin) 购自广州索莱宝生物科技有限公司; 其他实验室常规试剂均购自国药集团。 γ -H2AX 兔单克隆抗体、Nrf2 兔单克隆抗体购自美国 CST 公司; Rad51 单克隆抗体购自英国 Abcam 公司; β -actin 兔单克隆抗体购自北京中杉金桥生物技术有限公司; LaminB 单克隆抗体购自武汉三鹰生物技术有限公司。四季青胎牛血清购自湖州市天杭生物科技股份有限公司; 细胞胰酶消化液、青链霉素溶液均来自上海碧云天生物技术有限公司。免疫共沉淀试剂盒购自美国 Thermo 公司; DCFH-DA 试剂盒、细胞核蛋白提取试剂盒、细胞胰酶消化液、青霉素-链霉素双抗均来自上海碧云天生物技术有限公司; 全自动凝胶成像系统 GenoSens S2 system 购自上海勤翔科学仪器有限公司; 细胞培养箱购自美国 Thermo 公司。

1.2 细胞培养 人肺癌细胞株 A549 和 H1299 购自中国科学院细胞库, 由实验室传代保种; 利用质粒

2022-05-23 接收

基金项目: 国家自然科学基金 (编号: 11805228)

作者单位: 安徽医科大学基础医学院核医学教研室, 合肥 230032

作者简介: 徐倩倩, 女, 硕士研究生;

陈 妮, 女, 校聘副教授, 硕士生导师, 责任作者, E-mail: hi_giril@126.com

瞬时转染技术构建 Nrf2 敲低的细胞株 (si-Nrf2) 及其对照细胞株 (si-NC); 利用慢病毒稳定转染技术构建 Nrf2 敲低的细胞株 (sh-Nrf2) 及其对照细胞株 (sh-NC)。用含 10% 胎牛血清、1% 青链霉素的 DMEM 高糖培养基培养。在细胞置于 37 °C、5% CO₂ 培养箱中培养, 细胞量较少时 (小于 30%), 隔天换液。细胞转染时采用不含血清和双抗的 DMEM 高糖培养基培养。

1.3 活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 检测

将处于对数期的细胞用胰酶消化计数, 种 25 万细胞到每个皿中, 分为对照组、BLM 组、NAC 组及 NAC + BLM 组。待细胞贴壁后, 首先用 1 mmol/L NAC 处理 NAC 组及 NAC + BLM 组 30 min, 然后再用 5 μg/ml BLM 处理 BLM 组和 NAC + BLM 组 1 h。细胞完成培养后弃培养基, 待反应完成后, 用灭菌 PBS 轻柔洗涤 3 次后用锡箔纸包裹完全避光, 放置倒置荧光显微镜下调整合适视野并观察荧光强度。使用 ZEN. 2011 数字成像软件拍摄, 各组随机选取 5 个视野进行荧光统计。使用软件 Image J 进行分析处理, IBM SPSS Statistics 20 统计分析荧光强度, 使用 GraphPad Prism 8 绘制荧光强度分析统计图。

1.4 免疫印迹进行蛋白表达的检测 将生长至对数期的对照组、BLM 组、NAC + BLM 组、Res + BLM 组的 A549 和 H1299 正常细胞, 质粒瞬时转染 A549 和 H1299 细胞组: 对照组、si-NC + BLM 组、si-Nrf2 + BLM 组, 慢病毒稳定转染 A549 细胞组: sh-NC 组、sh-NC + BLM 组、sh-Nrf2 组、sh-Nrf2 + BLM 组进行提取蛋白操作; 细胞长满后用蛋白裂解液进行裂解, 并收集全细胞蛋白用 BCA 蛋白测定试剂盒进行蛋白定量, 上样后于 SDS-PAGE 上进行蛋白条带的分离, 转膜, 封闭, 分别加入 β-actin、Nrf2、γ-H2AX、Rad51 (1 : 1 000) 抗体 4 °C 孵育过夜。经过 3 次洗膜, 再加入相应的二抗 (1 : 2 000), 洗膜 3 次后最后用凝胶成像仪获取蛋白条带。蛋白条带灰度值采用 Image J 软件分析, 以 β-actin 为内参, 目的蛋白条带的灰度值进行归一化处理。

1.5 微核形成实验 将正常 A549 和 H1299 细胞分为对照组、BLM 组及 Res + BLM 组, 质粒瞬时转染的 A549 和 H1299 细胞分为对照组和 BLM 组, 细胞最佳状态进行实验, 吸去含有 BLM、Res 的细胞培养基, 加入新鲜完全培养基, 放入细胞培养箱中 1 h 待细胞状态稳定后, 计数后取含 10 000 ~ 20 000 个细胞的细胞悬液加入 6 孔板中 (每组设 3 个复孔), 待细胞贴壁后加入终浓度 2.5 μg/ml 的 CB, 继续培

养 2 个细胞周期 (32 ~ 36 h) 后固定、染色, 使用 Particle Count3-2 软件计数每 1 000 个双核细胞数中的微核细胞数。使用 IBM SPSS Statistics 20 统计分析, 使用 GraphPad Prism 8 绘制微核数统计图。

1.6 细胞转染 ① siRNA 瞬时转染 siRNA 步骤按照转染要求进行, 按照质粒与转染试剂 1 : 5 的比例, 对生长对数期细胞处于 50% 左右汇合度时进行细胞转染操作, 通过荧光可初步鉴定转染效率。② shRNA 构建 Nrf2 低表达稳定细胞株, 根据预实验获知转染的病毒原液与培养基比例为 1 : 50, 对生长对数期细胞处于 50% 左右汇合度时进行慢病毒转染操作, 按照试剂说明书进行, 转染 24 ~ 48 h 后镜下观察状态, 吸去病毒感染液, 加入培养基 (未加双抗) 继续培养; 待细胞状态稳定后, 开始向培养基 (加双抗和血清) 中加入终浓度为 1.5 μg/ml 的嘌呤霉素筛选获得 Nrf2 低表达的稳转细胞系。

1.7 免疫共沉淀 取生长状态好的 A549 慢病毒稳转的细胞, 进行 BLM 处理后, 按照免疫共沉淀试剂盒操作, 先行弱裂解液裂解, 离心取上清液, 新制备的裂解液在 4 °C 下与蛋白 A/G 琼脂糖珠孵育 30 ~ 60 min 进行预清洗。含有蛋白质复合物的上清液被分离与抗 Nrf2 单抗或抗 Rad51 单抗一起孵育 4 °C 过夜, 然后加入 Protein A/G 琼脂糖凝珠 4 °C 置于摇床温和摇动 4 h 后, 离心并用 PBS 洗涤分离的琼脂糖凝珠, 通过 Western blot 进行蛋白条带的分离, 并使用抗 Nrf2 或 Rad51 抗体进行蛋白分析。

1.8 统计学处理 使用 SPSS 24.0 软件进行分析, 多组间比较采用方差分析, 两组间比较采用 *t* 检验。各组实验重复 3 次以上, *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 细胞内 Nrf2 在 BLM 作用下的活化 DCFH-DA 检测显示, BLM 组与对照组相比细胞内产生的 ROS 的荧光强度明显上升 (*P* < 0.01); NAC 组与对照组相比细胞内产生的 ROS 荧光强度略有下降 (*P* < 0.05); NAC + BLM 组与 BLM 组相比细胞内产生的 ROS 荧光强度下降显著 (*P* < 0.01), 见图 1A。本研究首先观察了在 NAC 和 BLM 作用下 Nrf2 在 A549 和 H1299 细胞核内的蛋白表达变化, Western blot 结果表明, BLM 刺激后核内 Nrf2 蛋白表达上调 (*P* < 0.01), NAC 的加入能有效抑制 (*P* < 0.01) Nrf2 的核内累积, 见图 1B。以上结果表明, BLM 引起的氧化应激能够使细胞内的 Nrf2 产生功能活化。

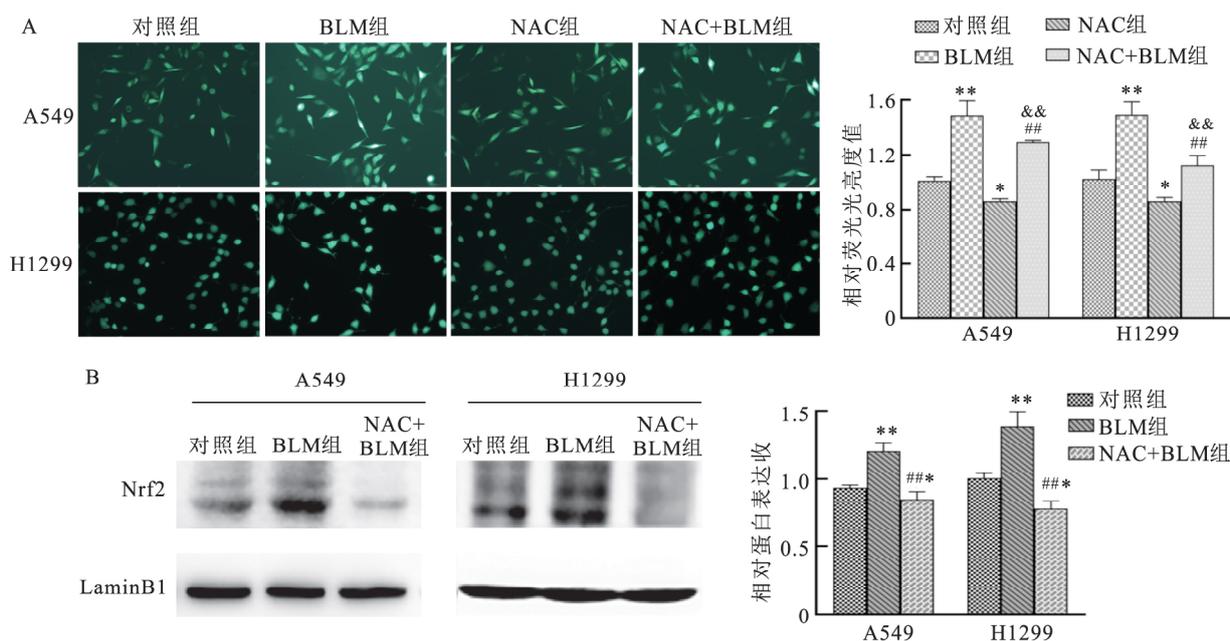


图1 细胞内 Nrf2 在 BLM 作用下的活化

A: 5 $\mu\text{g/ml}$ BLM 作用后 A549 和 H1299 肺癌细胞内 ROS 的荧光活性 $\times 200$; B: 抗氧化转录因子 Nrf2 在 A549 和 H1299 肺癌细胞核内的蛋白表达; 与对照组比较: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与 BLM 组比较: ### $P < 0.01$; 与 NAC 组比较: && $P < 0.01$

2.2 刺激 Nrf2 的表达降低 BLM 诱导的细胞 DNA 损伤程度 Western blot 结果显示,与对照组相比, BLM 组细胞 Nrf2 蛋白的表达上调 ($P < 0.01$); 与 BLM 组相比, Res + BLM 组细胞 Nrf2 的蛋白表达上调 ($P < 0.01$)。 γ -H2AX 蛋白表达结果显示,与对照组相比, BLM 组细胞 γ -H2AX 蛋白表达水平上调 ($P < 0.01$) 然而 Res + BLM 组的 γ -H2AX 蛋白表达水平比 BLM 组下调 ($P < 0.01$) ,见图 2A。微核结果显示,与对照组相比, BLM 组细胞微核率升高 ($P < 0.01$); 与 BLM 组相比, Res + BLM 组微核率下降 ($P < 0.01$) 其中 A549 细胞微核发生率下降 10% ,而 H1299 细胞微核发生率下降了 40% 左右。见图 2 B。两种实验结果均显示, Nrf2 的表达上调可以降低 BLM 诱导的细胞 DNA 损伤。

2.3 抑制 Nrf2 的表达增强 BLM 对肿瘤细胞 DNA 的损伤 siRNA 对 Nrf2 的表达进行干扰实验显示,与对照组相比, BLM 能够引起 si-NC 组细胞的 Nrf2 表达上调 ($P < 0.01$) ,但 BLM 不能引起 si-Nrf2 细胞内 Nrf2 蛋白表达上调。与 si-NC + BLM 组相比, si-Nrf2 + BLM 组细胞的 γ -H2AX 蛋白水平的表达有了进一步的增强 ($P < 0.01$) ,见图 3A。微核试验结果显示,在 si-NC 细胞中, BLM 处理组细胞微核率高于对照组 ($P < 0.01$) ; si-Nrf2 细胞的 BLM 组相较于 si-NC 细胞 BLM 组的细胞微核率有了更为显著的上升 ($P < 0.05$) ,见图 3B。

2.4 Nrf2 与 Rad51 相互作用对 BLM 引起的细胞 DNA 损伤的影响 实验中构建了 Nrf2 低表达稳转细胞系。Western blot 结果显示,与 sh-NC 组比较, sh-NC + Res 组的细胞 Nrf2 蛋白表达水平上调 ($P < 0.01$) ; 与 sh-Nrf2 组比较, sh-Nrf2 + Res 组的细胞 Nrf2 蛋白表达水平上调 ($P < 0.01$) ,见图 4A。Western blot 实验显示,在 sh-Nrf2 细胞中, Rad51 表达随着 Nrf2 表达的抑制而同步下调 ($P < 0.01$) ,见图 4B。免疫共沉淀实验的 Western blot 结果显示, Nrf2 与 Rad51 存在相互作用: A549 细胞经过 BLM 处理后,用 IP 抗体为 Nrf2 蛋白时, Western blot 结果可以检测到 Rad51 蛋白的表达; 同样在 IP 抗体为 Rad51 蛋白时,在最终 Western blot 实验中可以检测到 Nrf2 蛋白的表达。在 BLM 作用下,细胞内蛋白 Nrf2 通过与蛋白 Rad51 相互作用调控 Rad51 的表达,见图 4C。

3 讨论

BLM 是一种具有糖肽结构的抗癌药物,因不产生骨髓抑制,在临床上广泛应用于生殖细胞癌、淋巴瘤、肺癌的治疗。BLM 主要通过诱导 DSBs 促使肿瘤细胞凋亡而达到治疗疗效。 γ -H2AX 对 DSBs 快速敏感的反应使其被认为是 DSBs 早期检测的金标准。在 DSB 发生后,组蛋白 H2AX 第 139 位丝氨酸被磷酸化而富集到 DNA 断裂处,传导损伤修复信

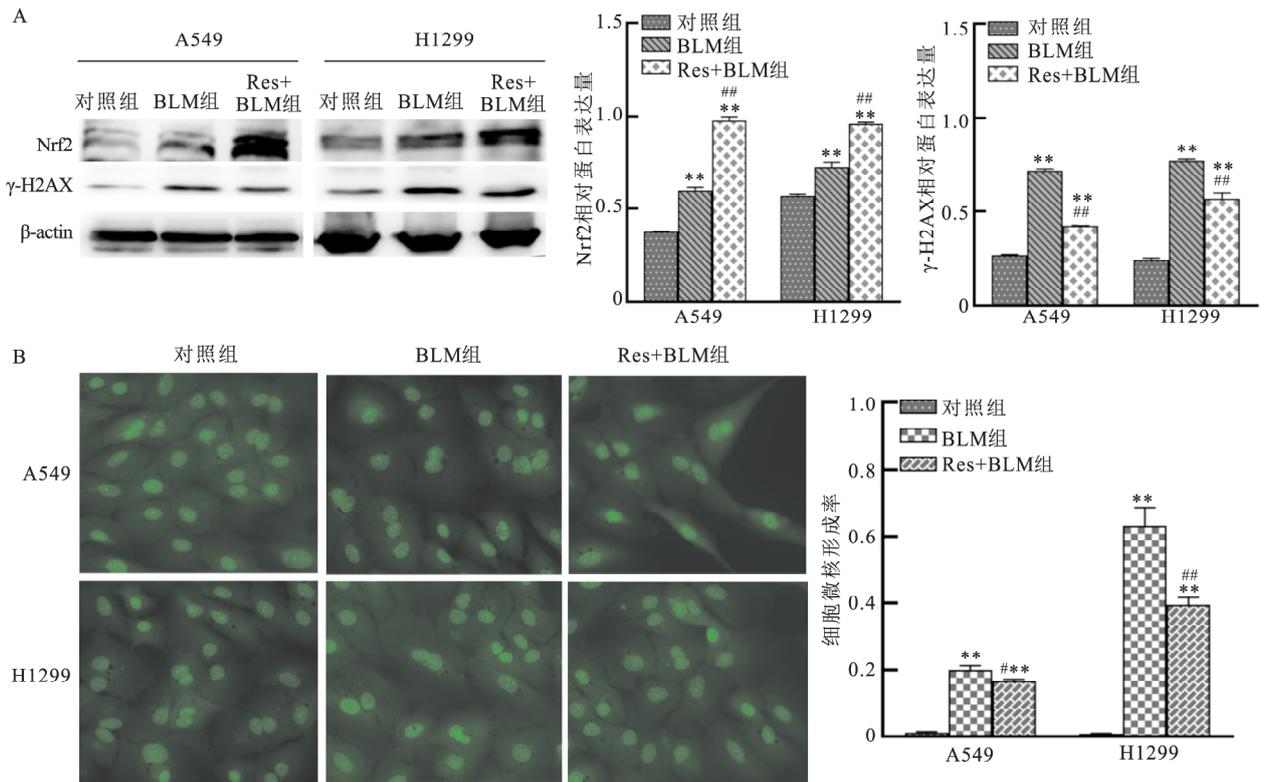


图2 刺激 Nrf2 的表达降低 BLM 引起的细胞 DNA 损伤

A: 10 μmol/L Res 作用 24 h 后经 5 μg/ml BLM 处理 抗氧化转录因子 Nrf2 和 DNA 损伤标志蛋白 γ-H2AX 在 A549 和 H1299 肺癌细胞内的蛋白表达; B: 10 μmol/L Res 作用 24 h 后经 5 μg/ml BLM 处理 A549 和 H1299 肺癌细胞的微核形成率 ×200; 与对照组比较: ** P < 0.01; 与 BLM 组比较: # P < 0.05, ## P < 0.01

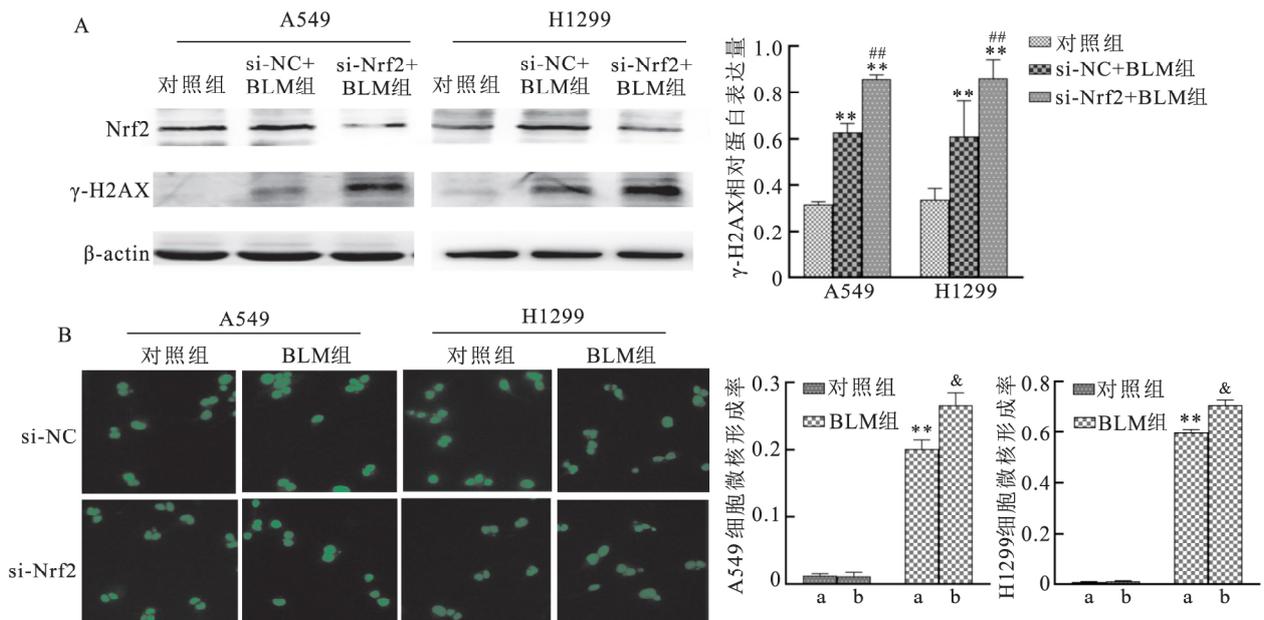


图3 干扰 Nrf2 的表达增强 BLM 引起的细胞 DNA 损伤

A: 5 μg/ml BLM 作用后 A549 和 H1299 肺癌细胞内 Nrf2 和 γ-H2AX 的蛋白表达; B: 10 μmol/L Res 作用 24 h 后经 5 μg/ml BLM 处理 A549 和 H1299 肺癌的细胞微核形成情况 ×200; a: si-NC 细胞; b: si-Nrf2 细胞; 与对照组比较: ** P < 0.01; 与 si-NC + BLM 组比较: ## P < 0.01; 与 si-NC 细胞的 BLM 组比较: & P < 0.05

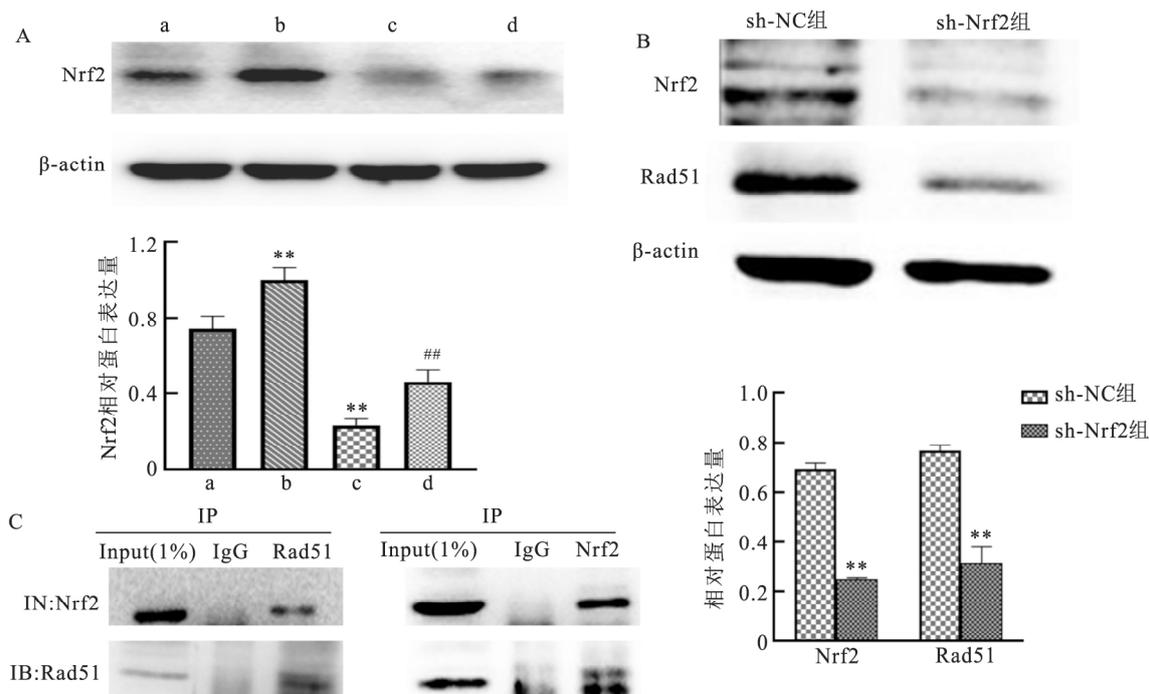


图4 Nrf2与Rad51相互作用降低BLM引起的细胞DNA损伤

A: 10 $\mu\text{mol/L}$ Res 作用后 A549 肺癌细胞内 Nrf2 蛋白的表达; B: A549 肺癌细胞内 Nrf2 和 Rad51 蛋白的表达; C: 免疫共沉淀; a: sh-NC 组; b: sh-NC + Res 组; c: sh-Nrf2 组; d: sh-Nrf2 + Res 组; 与 sh-NC 组比较: ** $P < 0.01$; 与 sh-Nrf2 组比较: ## $P < 0.01$

号,招募 DNA 损伤修复蛋白如 BRCA1、Rad51、Rad50 等对损伤处进行修复。故对肿瘤细胞在 BLM 作用后细胞内 DNA 的损伤及其修复机制进行探究有助于揭示肿瘤细胞耐药性的产生机制。

BLM 对细胞损伤方式与辐射类似,BLM 可作用于肿瘤细胞后可通过直接与 DNA 链的结合引起不依赖 ROS 的链的断裂,但同时,BLM 主要通过提高细胞内 ROS 的产生导致细胞 DNA 的氧化损伤。早期研究^[8]认为,BLM 的抗性产生是细胞内 BLM 水解酶上调造成的,该酶能够水解 BLM 上的一个肽结构而降低 BLM 的活性。然而,研究^[9]表明,这一机制并不是普遍存在于所有 BLM 抗性的细胞中。近年来,更多的关于 BLM 耐药的机制被提出,其中抗氧化应激机制就是其中的一种。Nrf2 是对抗细胞氧化应激的一种重要转录因子,广泛存在于各种细胞及机体中。Nrf2 的缺陷或调节异常可直接降低细胞应对氧化应激的敏感性^[10]。该研究显示,细胞在 BLM 作用后,细胞内的 ROS 在短期内迅速累积,通过蛋白表达检测显示,两种细胞在 5 $\mu\text{g/ml}$ BLM 作用下,细胞核内 Nrf2 蛋白表达水平显著增加,暗示细胞内 Nrf2 转录功能的活化。用 Nrf2 表达刺激剂人为刺激细胞 Nrf2 蛋白的表达水平,显著缓解了细胞在 BLM 作用后的 DNA 损伤程度。用 Nrf2 的 siR-

NA 干扰 Nrf2 的基因表达后,细胞 DNA 的损伤显著增加,结果提示,Nrf2 功能的活化直接降低了肿瘤细胞 DNA 的损伤程度,这可能就是 BLM 抗药性产生的一大原因。

根据先前的报告,细胞在 BLM 作用后,细胞处于 G_2/M 期^[11],这提示肿瘤细胞在 BLM 作用后 DNA 损伤修复机制的活化。且在辐射作用下,肿瘤细胞内 DNA 损伤修复相关蛋白 53BP1 以 Nrf2 依赖的方式活化,通过敲低方法抑制 Nrf2 时,在 A549 细胞中观察到辐射诱导的 53BP1 foci 形成显著减少^[12]。这些结果表明,同源重组修复核心蛋白 Rad51 确实可能与 Nrf2 的表达相关。该研究结果显示,当 Nrf2 表达被抑制时,Rad51 蛋白的表达水平也出现了相应的下降,表明,在 BLM 诱导的细胞 DNA 损伤修复中,Rad51 的表达受 Nrf2 的影响。且蛋白相互作用结果显示,两者存在直接相互作用。因此推测 Nrf2 不仅仅通过抗氧化途径保护细胞 DNA 损伤,同时还可以直接通过调控 Rad51 来启动 DNA 损伤修复,从而降低了肿瘤细胞在 BLM 作用下的 DNA 损伤程度。当然,Nrf2 与 Rad51 具体作用方式还有待进一步的实验研究。

综上所述,该实验提示 Nrf2 在肿瘤细胞对 BLM 抗性中存在着重要的作用,不仅仅是因为其强大的

抗氧化功能 细胞内的 Nrf2 还可通过与 Rad51 相互作用调控 Rad51 蛋白表达水平 最终影响 DNA 的损伤修复。该研究为揭示 Nrf2 在 BLM 耐药中的潜在机制提供了新的思路。

参考文献

- [1] Ferlay J, Colombet M, Soerjomataram I, et al. Cancer statistics for the year 2020: an overview [J]. *Int J Cancer*, 2021.
- [2] Brockelmann P J, Sasse S, Engert A. Balancing risk and benefit in early-stage classical Hodgkin lymphoma [J]. *Blood*, 2018, 131 (15): 1666–78.
- [3] Weckerle J, Picart-Armada S, Klee S, et al. Mapping the metabolic and lipidomic changes in the bleomycin model of pulmonary fibrosis in young and aged mice [J]. *Dis Model Mech*, 2022, 15 (1): dmm049105.
- [4] Sai X, Qin C, Wu Y, et al. Downregulation of PTEN mediates bleomycin-induced premature senescence in lung cancer cells by suppressing autophagy [J]. *J Int Med Res*, 2020, 48 (5): 300060520923522.
- [5] Kaneko M, Matsuda D, Ohtawa M, et al. Potentiation of bleomycin in Jurkat cells by fungal pycnidione [J]. *Biol Pharm Bull*, 2012, 35 (1): 18–28.
- [6] Huai B, Ding J. Atractylenolide III attenuates bleomycin-induced experimental pulmonary fibrosis and oxidative stress in rat model via Nrf2/NQO1/HO-1 pathway activation [J]. *Immunopharmacol Immunotoxicol*, 2020, 42 (5): 436–44.
- [7] Krajka-Kuźniak V, Paluszczak J, Baer-Dubowska W. The Nrf2-ARE signaling pathway: An update on its regulation and possible role in cancer prevention and treatment [J]. *Pharmacol Rep*, 2017, 69 (3): 393–402.
- [8] Lazo J S, Boland C J, Schwartz P E, Bleomycin hydrolase activity and cytotoxicity in human tumors [J]. *Cancer Res*, 1982, 42: 4026–31.
- [9] Galm U, Hager M H, Van Lanen S G, et al. Antitumor antibiotics: bleomycin, enediyne, and mitomycin [J]. *Chem Rev*, 2005, 105 (2): 739–58.
- [10] Panieri E, Saso L. Inhibition of the NRF2/KEAP1 axis: a promising therapeutic strategy to alter redox balance of cancer cells [J]. *Antioxid Redox Signal*, 2021, 34 (18): 1428–83.
- [11] Wang Q, Cui K, Espin-Garcia O, et al. Resistance to bleomycin in cancer cell lines is characterized by prolonged doubling time, reduced DNA damage and evasion of G₂/M arrest and apoptosis [J]. *PLoS One*, 2013, 8 (12): e82363.
- [12] Jayakumar S, Pal D, Sandur S K. Nrf2 facilitates repair of radiation induced DNA damage through homologous recombination repair pathway in a ROS independent manner in cancer cells [J]. *Mutat Res*, 2015, 779: 33–45.

The antioxidant transcription factor Nrf2 and Rad51 interact in BLM reduced DNA damage

Xu Qianqian, Zhang Peiyu, Chen Ni

(Teaching and Research Section of Nuclear Medicine,

School of Basic Medical Sciences Anhui Medical University, Hefei 230032)

Abstract Objective To explore the mechanism of nuclear factor E2-related factor 2 (Nrf2) in bleomycin (BLM)-induced DNA damage of lung cancer cells. **Methods** The fluorescence intensity of tissue reactive oxygen species (ROS) in human lung cancer cells A549 and H1299 was detected by a reactive oxygen species fluorescent probe (DCFH-DA). DNA damage of A549 and H1299 cells treated with 5 μg/ml BLM was detected by Western blot and micronucleus. Then, the Nrf2-low expression transient siRNA and the stably shRNA-transformed lung cancer cells were respectively constructed to detect the DNA damage after BLM. The interaction between Nrf2 and Rad51 in cells was detected by co-immunoprecipitation method. **Results** Under the action of BLM, ROS levels in A549 and H1299 cells increased significantly, and Nrf2 entered the cell nucleus for activation ($P < 0.01$). Under the effect of BLM, resveratrol (Res) stimulated A549 and H1299 cells to up-regulate the protein expression of Nrf2 ($P < 0.01$), while the expression of DNA damage marker protein γ -H2AX decreased ($P < 0.01$). On the contrary, after interfering the protein expression of Nrf2 in A549 and H1299 cells with siRNA, the protein expression of γ -H2AX in A549 and H1299 cells was significantly up-regulated under the action of BLM ($P < 0.01$). Western blot results showed that the expression of homologous recombination repair protein Rad51 and the expression of Nrf2 protein in A549 cells with low Nrf2 expression were significantly down-regulated ($P < 0.01$). **Conclusion** The antioxidant transcription factor Nrf2 in tumor cells can interact with Rad51 to regulate the expression of Rad51 and reduce BLM-induced cellular DNA damage.

Key words Nrf2; Rad51; repair of DNA damage; bleomycin