

# miR-155/BACH1 信号通路在三氧化二砷诱导肺腺癌细胞死亡中的机制研究\*

谷仕艳, 陈虹宇, 代黄梅, 李欣洋, 张遵真<sup>△</sup>

四川大学华西公共卫生学院 环境卫生与职业医学系(成都 610041)

**【摘要】 目的** 探讨微小 RNA 155(miR-155)、BTB 和 CNC 同源蛋白 1 (BACH1)、醌氧化还原酶 1(NQO1)和血红素氧合酶-1(HO-1)在三氧化二砷(ATO)诱导细胞死亡过程中的变化规律,以及 miR-155 和 BACH1 可能的调控关系,为增敏 ATO 治疗新靶点的发现奠定实验基础。**方法** 以不同浓度 ATO 处理肺腺癌 A549 细胞后,采用 MTT 实验检测细胞的存活率或死亡率,试剂盒检测细胞的总抗氧化能力,Western blot 检测 BACH1、NQO1 和 HO-1 蛋白的表达,实时荧光定量 PCR(qRT-PCR)检测 miR-155 的表达水平。miR-155 类似物(mimic)及其阴性对照转染对数期 A549 细胞,并设未转染组为对照,qRT-PCR 检测 miR-155 表达水平后,以 20  $\mu\text{mol/L}$  ATO 处理 24 h,再进行 MTT 及 Western blot 检测。**结果** 10~100  $\mu\text{mol/L}$  的 ATO 可降低细胞的存活率;与空白对照组相比,10、20  $\mu\text{mol/L}$  的 ATO 可减弱细胞的总抗氧化能力,激活 BACH1 蛋白的表达,抑制 miR-155 以及 NQO1 和 HO-1 蛋白的表达;在转染 miR-155 mimic 后,20  $\mu\text{mol/L}$  ATO 处理后的 A549 细胞死亡率低于未转染组和转染阴性对照组,且 ATO 对 BACH1 蛋白的激活作用减弱,NQO1 和 HO-1 蛋白表达则高于后两组( $P<0.05$ )。**结论** ATO 可通过抑制 miR-155 的表达,激活 BACH1 蛋白,抑制 NQO1 和 HO-1 蛋白的表达,从而削弱细胞的总抗氧化能力,最终诱导细胞死亡,提示 miR-155 和 BACH1 可作为 ATO 治疗肺癌过程中的增敏靶点。

**【关键词】** 三氧化二砷 总抗氧化能力 BTB 和 CNC 同源蛋白 1 微小 RNA 155

**miR-155/BACH1 Signaling Pathway in Human Lung Adenocarcinoma Cell Death Induced by Arsenic Trioxide** GU Shi-yan, CHEN Hong-yu, DAI Huang-mei, LI Xin-yang, ZHANG Zun-zhen<sup>△</sup>. Department of Environmental Health and Occupational Medicine, West China School of Public Health, Sichuan University, Chengdu 610041, China

<sup>△</sup> Corresponding author, E-mail: zhangzunzhen@163.com

**【Abstract】 Objective** To explore the changes of micro RNA 155 (miR-155), BTB and CNC homologous protein 1 (BACH1), quinone oxidoreductase 1 (NQO1) and heme-oxygenase-1 (HO-1) in the process of arsenic trioxide-induced cell death, and to clarify the relationship between miR-155 and BACH1, providing experimental basis for the sensitivity of arsenic trioxide (ATO) treatment. **Methods** Human lung adenocarcinoma cell line A549 cells were treated with different concentrations of ATO. MTT assay and total antioxidant capacity detection kit were used to determine cell viability and total antioxidant capacity, respectively. BACH1, NQO1 and HO-1 protein expression were probed by Western blot and real-time fluorescence quantitative (qRT-PCR) was utilized to test the miR-155 level. A549 cells were transfected with miR-155 mimic and its negative control, then the expression level of miR-155 was detected by qRT-PCR, and these cells were treated with 20  $\mu\text{mol/L}$  for 24 h followed by MTT and Western blot detection. **Results** 10  $\mu\text{mol/L}$  ATO significantly reduced the cell viability in A549 cells. 10  $\mu\text{mol/L}$  and 20  $\mu\text{mol/L}$  ATO treatment activated BACH1 expression and inhibited miR-155, NQO1 and HO-1 expression, leading to decreased total antioxidant capacity. Importantly, the cell death induced by 20  $\mu\text{mol/L}$  ATO was significantly decreased in miR-155 mimic transfection cells in comparison with non-transfected cells and miR-155 mimic negative control transfected cells. Moreover, high expression of miR-155 reduced BACH1 activation and increased NQO1 and HO-1 expression in cells treated with 20  $\mu\text{mol/L}$  ATO ( $P<0.05$ ). **Conclusion** Restraining total antioxidant capacity contributes to ATO induced cell death, the underlying mechanisms may be that ATO can activate BACH1 expression through inhibition of the miR-155 level, leading to subsequent inhibition of NQO1 and HO-1 expression. Taken together, these data suggest that miR-155 and BACH1 could be used as sensitivity targets for ATO treatment in lung cancer.

**【Key words】** Arsenic trioxide Total antioxidant capacity BTB and CNC homologous protein 1 Micro RNA 155

\* 国家自然科学基金面上项目(No. 81372945)资助

<sup>△</sup> 通信作者, E-mail: zhangzunzhen@163.com

三氧化二砷(ATO)是急性粒细胞白血病的一线用药。近年研究发现,ATO对实体肿瘤也具有较好的杀伤效果。参与ATO杀伤癌细胞的机制有氧化损伤、DNA损伤、细胞自噬、细胞坏死以及凋亡等,目前公认、同时也是研究最多的机制是ATO诱导的细胞氧化损伤引起细胞死亡<sup>[1]</sup>,但ATO是如何引起氧化损伤的细节还有待进一步探讨。

BTB和CNC同源蛋白1(BACH1)是一种细胞核转录因子,可抑制抗氧化蛋白醌氧化还原酶1(NQO1)和血红素氧合酶-1(HO-1)的表达,进而降低细胞的抗氧化能力<sup>[2-4]</sup>。研究表明,亚砷酸钠处理正常细胞后,可引起BACH1转运出细胞核,进而激活NQO1和HO-1等表达,增强细胞对氧化损伤的防御<sup>[5]</sup>,但当ATO处理体外培养的癌细胞时,ATO可抑制核因子Nrf2信号通路的活化,降低NQO1和HO-1等的表达,进而促进细胞死亡<sup>[6]</sup>;本实验室前期的研究结果同样表明,10  $\mu\text{mol/L}$  ATO处理肺腺癌A549细胞,会引起Nrf2表达水平增加<sup>[7]</sup>,而更高浓度的ATO处理A549细胞,则会引起谷胱甘肽(GSH)、过氧化物歧化酶(SOD)等抗氧化物质的耗竭,进而引起细胞死亡<sup>[8]</sup>,这些研究说明ATO可能是通过削弱细胞的抗氧化能力进而诱导癌细胞死亡。那么,在ATO诱导A549细胞死亡过程中,作为抗氧化物质的NQO1和HO-1以及它们的负调控因子BACH1会有怎样的变化规律?目前尚不明确。

微小RNA 155(miR-155)是由人类21号染色体上BIC基因编码的一种小RNA,其异常表达可促进肺部肿瘤细胞的生存、增殖、迁移和侵袭,并与肺癌的预后密切相关<sup>[9]</sup>。而NQO1和HO-1的负调控因子BACH1的表达受miR-155调控,是miR-155的靶基因之一<sup>[10-11]</sup>,更为重要的是miR-155可参与细胞内氧化还原稳态的维持<sup>[12]</sup>。那么,在ATO杀死肿瘤细胞的过程中,氧化防御能力的改变是否与miR-155和BACH1的水平有关?二者又有何种调控关系?目前尚未见研究报道。本研究拟探讨miR-155、BACH1、NQO1和HO-1等在ATO诱导细胞死亡过程中的变化规律,并明确miR-155和BACH1可能的调控关系,以期为ATO用于肺癌的治疗提供理论依据,并为增敏ATO治疗新靶点的发现奠定实验基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 试剂与仪器

ATO注射液(黑龙江哈尔滨医大药业有限公司);DMEM高糖细胞培养液(Gibco);小牛血清(Hyclone);3-(4,5-二甲基噻唑-2)-2,5-二苯基四氮唑溴盐(MTT,Amresco);总抗氧化能力检测试剂盒(南京凯基生物科技发展有限公司);BACH1抗体(Santa Cruz);NQO1和HO-1抗体(武汉博士德生物工程有限公司); $\beta$ -actin抗体和辣根过氧化物酶标记山羊抗小鼠及抗兔IgG(北京中杉金桥)。miR-155类似物(mimic)及其阴性对照(Bioneer Biotech);Lipofectamine 2000(Invitrogen);miRcute miRNA提取分离试剂盒、cDNA第一链合成试剂盒、荧光定量检测试剂盒、miR-155引物序列及合成物(北京天根生化科技有限公司)。人肺腺癌A549细胞(购于华神集团成都基因治疗肿瘤药物工程技术研究中心)。酶联免疫检测仪(Thermo Fisher Scientific);Chemic Dox XRS凝胶成像系统、Nanodrop(Bio-Rad);WFJ 7200型可见分光光度计(尤尼柯仪器有限公司)。

### 1.2 实验方法

**1.2.1 细胞培养** A549细胞在饱和湿度、体积分数5%  $\text{CO}_2$ 、37  $^{\circ}\text{C}$ 条件下培养,细胞层覆盖培养瓶底面积80%~90%时传代。其中培养液由90% DMEM+10%小牛血清+双抗(终浓度:青霉素100 IU/mL,链霉素100  $\mu\text{g/mL}$ )组成。

**1.2.2 MTT检测细胞存活率** A549细胞以每孔 $10^4$ 接种于96孔培养板。细胞贴壁后,以不同浓度的ATO(0、5、10、20、40、60、80和100  $\mu\text{mol/L}$ )处理24 h后,弃去培养液,每孔加入100  $\mu\text{L}$ (含MTT 0.5 mg/mL)培养液,37  $^{\circ}\text{C}$ 避光孵育4 h,弃液后每孔加入100  $\mu\text{L}$ 二甲基亚砷,室温震荡摇匀5 min。酶联免疫检测仪测定570 nm波长的吸光度值( $A_{570}$ )。按常规计算细胞存活率或死亡率。

**1.2.3 总抗氧化能力检测** 使用细胞刮收集不同浓度ATO(0、5、10、20  $\mu\text{mol/L}$ )处理24 h的A549细胞,用生理盐水于2 000 r/min离心3 min洗涤两次,弃尽上清,加入350  $\mu\text{L}$ 生理盐水重悬细胞,于液氮和37  $^{\circ}\text{C}$ 温水中反复冻融3次制备样品匀浆液,按照总抗氧化能力检测试剂盒说明书,在测定管和对照管中依次加入Buffer A、Buffer B和Buffer C,测定管中加150  $\mu\text{L}$ 样品匀浆液,漩涡震荡混匀后,于37  $^{\circ}\text{C}$ 水浴30 min。取出对照管和测定管,依次加入Buffer D和Buffer E,对照管中加入150  $\mu\text{L}$ 样品匀浆液,漩涡震荡混匀,室温放置10 min,蒸馏水调零,1 cm光径,520 nm处测各管吸光度,按说明书

给定的公式计算总抗氧化能力。

**1.2.4 Western blot 检测蛋白表达水平** 收集不同浓度 ATO (0、5、10、20  $\mu\text{mol/L}$ ) 处理 24 h 的 A549 细胞,加入提取全蛋白的细胞裂解液,冰浴裂解 30 min,10 000 r/min 离心 10 min,取上清,用 BCA 蛋白定量法测蛋白浓度后置  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  储存备用。制 120 g/L SDS-聚丙烯酰胺凝胶,每条泳道上蛋白样品 50  $\mu\text{g}$ ,按实验室常规方法电泳、转膜、封闭。一抗 (BACH1、NQO1、HO-1 和  $\beta$ -actin, 1 : 500)  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$  孵育过夜,相应二抗 (1 : 5 000) 室温孵育 1 h,用增强型化学发光试剂 (ECL) 显色。Chemicon XRS 凝胶成像系统曝光采集图像,并用 Image J 软件定量分析各蛋白条带的平均灰度值,以目的条带和内参蛋白条带的平均灰度值之比反映目的蛋白的相对表达量。

**1.2.5 实时荧光定量 PCR (qRT-PCR) 检测 miR-155 水平** 收集不同浓度 ATO (0、5、10、20  $\mu\text{mol/L}$ ) 处理 24 h 的 A549 细胞,按 miRcute miRNA 提取分离试剂盒说明书提取长度在 200 nt 以内的总 RNA,进行质控合格后 ( $A_{260/280}$  和  $A_{260/230}$  均大于 1.8),按照 miRcute miRNA cDNA 第一链合成试剂盒说明书,取 1  $\mu\text{g}$  总 RNA 进行逆转录。对逆转录的 cDNA 进行定量,以 400 ng 逆转录的 cDNA 作为模板,进行 miRNA 荧光定量检测。反应条件为:  $94.0\text{ }^{\circ}\text{C}$  2 min;  $94.0\text{ }^{\circ}\text{C}$  20 s;  $60.0\text{ }^{\circ}\text{C}$  34 s; 40 个循环;熔解曲线的温度从  $65.0\text{ }^{\circ}\text{C}$  到  $95.0\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,每 5 s 升温  $0.5\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。以 hsa-U6 作为内参基因,采用  $2^{-\Delta\Delta C_t}$  的计算方法获得 miR-155 的相对表达水平。

**1.2.6 miR-155 mimic 及其阴性对照的细胞转染** 取对数生长期 A549 细胞,以不含双抗的培养液调整细胞浓度至  $2\times 10^5\text{ mL}^{-1}$ ,每孔 1 mL 细胞悬液接种于 6 孔培养板。细胞贴壁后,按 Lipofectamine 2000 使用说明,用 DMEM 配制终浓度为 40 pmol/mL 的 miR-155 mimic 及其阴性对照转染液,以每孔 1 mL 加入 6 孔板中,孵育 5 h 后,弃转染液,并加入不含双抗的培养液继续孵育 48 h。收集细胞,用于后续实验。

**1.2.7 miR-155 高表达对细胞死亡率及蛋白表达的影响** 将 A549 细胞分为未转染组 (control)、miR-155 mimic 转染组 (M) 和阴性对照转染组 (MC),并按其分组及常规转染方法分别进行不转染和转染。按前述 qRT-PCR 检测 miR-155 水平;各组细胞均用 20  $\mu\text{mol/L}$  ATO 处理 24 h 后,按前述 MTT 法检测细胞死亡率,Western blot 检测各

组细胞 BACH1、NQO1 和 HO-1 蛋白表达水平。

### 1.3 统计学方法

所有实验独立重复 3 次,数据采用  $\bar{x}\pm s$  表示。对各组数据进行方差齐性检验,若方差齐,多组间的比较采用单因素方差分析,两组间的比较用 LSD 检验;方差不齐时则采用非参数秩和检验; $\alpha=0.05$ 。

## 2 结果

### 2.1 ATO 对细胞存活的影响

如图 1 所示,ATO 浓度为 5  $\mu\text{mol/L}$  时,A549 细胞的存活率与对照组相比,差异无统计学意义。当 ATO 浓度为 10、20、40、60、80 和 100  $\mu\text{mol/L}$  时,细胞的存活率与对照组 (0  $\mu\text{mol/L}$  ATO) 相比,差异有统计学意义 ( $P<0.05$ )。

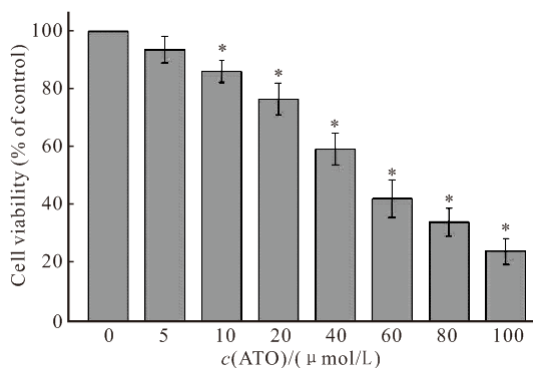


图 1 ATO 对细胞存活率的影响

Fig 1 Cell viability in different concentrations of ATO groups

\*  $P<0.05$ , vs. 0  $\mu\text{mol/L}$  ATO group

### 2.2 ATO 对 A549 细胞总抗氧化能力的影响

如图 2 所示,用 0 (对照组)、5、10、20  $\mu\text{mol/L}$  ATO 处理 A549 细胞 24 h,ATO 10  $\mu\text{mol/L}$  和 20  $\mu\text{mol/L}$  处理组总抗氧化能力低于对照组 ( $P<0.05$ )。

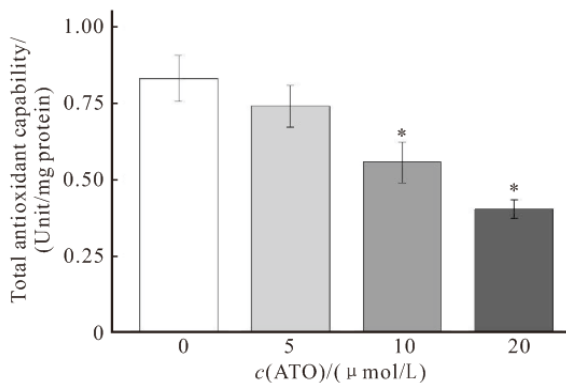


图 2 ATO 对总抗氧化能力的影响

Fig 2 Effects of ATO on total antioxidant capacity

\*  $P<0.05$ , vs. 0  $\mu\text{mol/L}$  ATO group

2.3 ATO 对 A549 细胞 BACH1、NQO1 和 HO-1 蛋白表达的影响

见图 3。用 0、5、10、20  $\mu\text{mol/L}$  ATO 处理细胞 24 h 后,BACH1 蛋白的表达逐渐增加,而 NQO1 和 HO-1 蛋白的表达则逐渐降低,其中 10、20  $\mu\text{mol/L}$

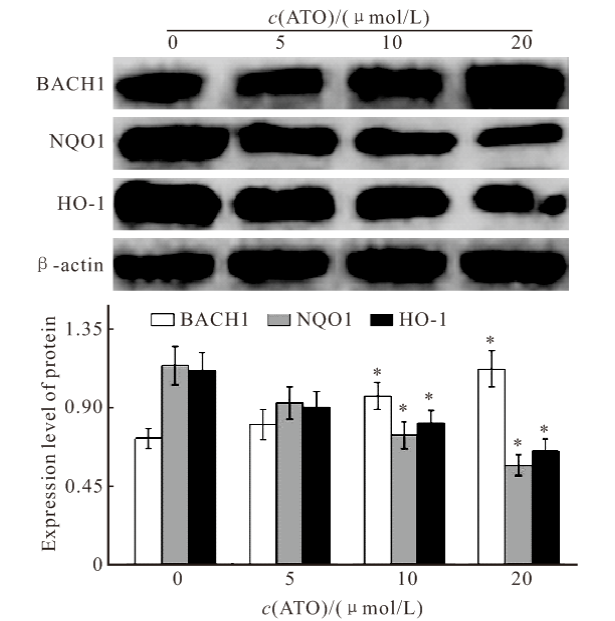


图 3 ATO 对 BACH1、NQO1 和 HO-1 蛋白表达的影响  
Fig 3 Effects of ATO on protein expressions of BACH1, NQO1 and HO-1  
\*  $P<0.05$ , vs. 0  $\mu\text{mol/L}$  ATO group

ATO 处理组与对照组相比,差异有统计学意义 ( $P<0.05$ )。

2.4 ATO 对 A549 细胞 miR-155 表达的影响

见图 4。在 5  $\mu\text{mol/L}$  ATO 处理 A549 细胞时, miR-155 的表达为对照组的 0.92 倍,在 10  $\mu\text{mol/L}$  和 20  $\mu\text{mol/L}$  ATO 处理时,miR-155 的表达分别为对照组的 0.72 倍和 0.52 倍,低于对照组 ( $P<0.05$ )。

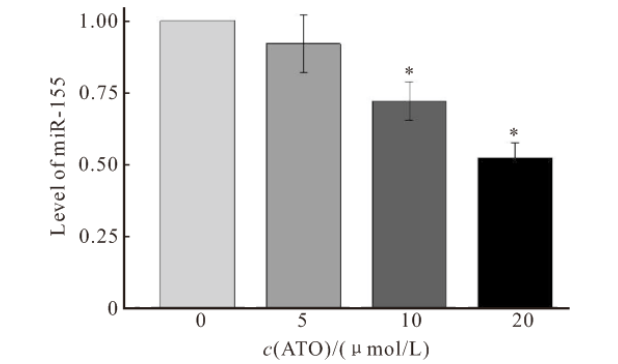


图 4 ATO 对 miR-155 水平的影响  
Fig 4 Effects of ATO on miR-155 level  
\*  $P<0.05$ , vs. 0  $\mu\text{mol/L}$  ATO group

2.5 miR-155 高表达对 A549 细胞死亡及蛋白表达的影响

如图 5A 所示,转染 miR-155 mimic 后,A549 细胞中 miR-155 的表达水平是空白对照组的 1.85

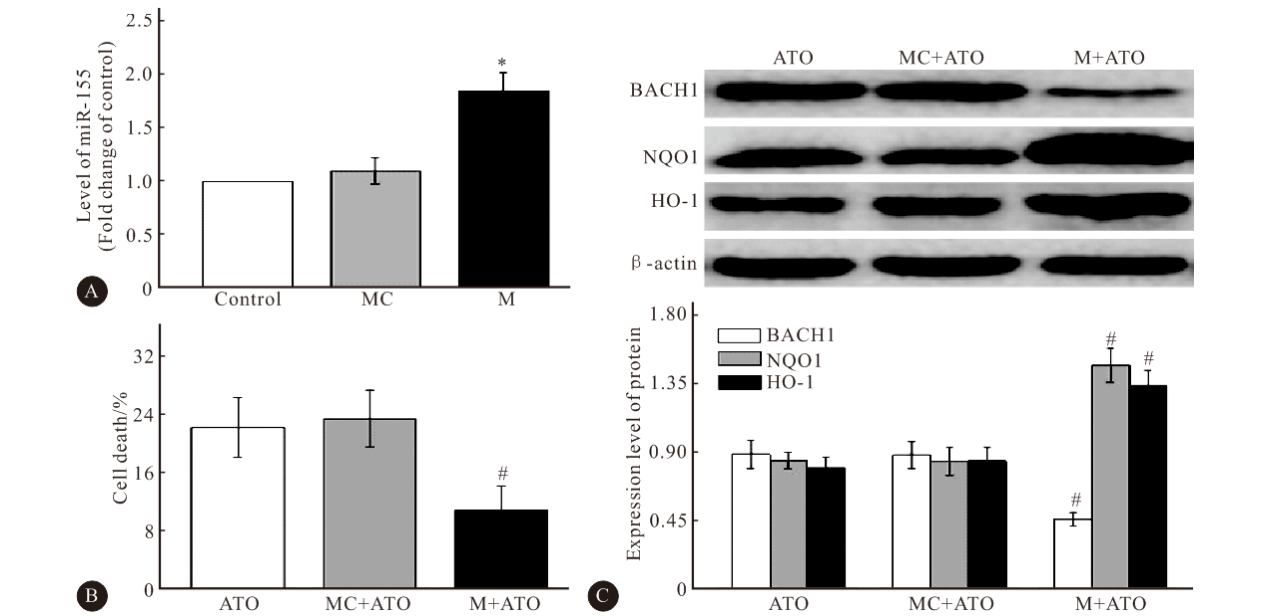


图 5 miR-155 高表达(A)对细胞死亡率(B)及蛋白(C)表达的影响  
Fig 5 Effects of miR-155 over expression (A) on cell death rate (B) and protein expression (C)  
M: miR-155 mimic group; MC: miR-155 mimic negative control group; \*  $P<0.05$ , vs. control group and MC group; #  $P<0.05$ , vs. ATO group and MC+ATO group

倍,是阴性对照组的 1.68 倍,提示 miR-155 的表达水平在 miR-155 mimic 转染组细胞中明显增加 ( $P < 0.05$ )。MTT 实验结果则表明转染 miR-155 mimic 的细胞在 20  $\mu\text{mol/L}$  ATO 处理 24 h 后,细胞死亡率低于未转染组和阴性对照组(图 5B,  $P < 0.05$ )。为了明确 miR-155 对 BACH1 及其下游蛋白的作用,我们进一步采用 Western blot 检测了 BACH1、NQO1 和 HO-1 蛋白水平的变化,如图 5C 所示,20  $\mu\text{mol/L}$  ATO 处理 24 h 后,转染 miR-155 mimic(M) 的细胞与未转染和阴性对照转染(MC) 的细胞相比,BACH1 的表达水平降低,而 NQO1 和 HO-1 的表达水平增加 ( $P < 0.05$ )。

### 3 讨论

ATO 可诱导细胞产生超氧阴离子自由基、羟自由基、过氧化自由基、一氧化氮自由基、单线态氧和过氧化氢等,这些物质可直接造成 DNA、蛋白质和脂质的氧化损伤<sup>[1]</sup>。为了应对这些氧化损伤,细胞有一套自身的抗氧化防御系统,由 SOD、GSH、NQO1 和 HO-1 等抗氧化物质和酶组成。当细胞的抗氧化能力不足,难以抵抗外界毒物造成的氧化损伤时,会引起细胞功能受损甚至死亡<sup>[13]</sup>。我们实验室的前期研究表明,随着 ATO 剂量的增加,A549 细胞内的抗氧化物质如 GSH、SOD 等的表达和活性逐渐降低,而造成氧化损伤的主要物质活性氧逐渐增多<sup>[8]</sup>,提示降低总抗氧化能力可能是 ATO 杀死肿瘤细胞的重要手段。然而,同样作为抗氧化酶的 NQO1 和 HO-1,在 ATO 处理 A549 细胞后有何种变化尚不明确。本研究结果表明,ATO 浓度  $\geq 10 \mu\text{mol/L}$  时,NQO1 和 HO-1 的蛋白表达水平和总抗氧化能力均逐渐下降,细胞死亡率随之增加,提示高剂量的 ATO 也会通过抑制 NQO1 和 HO-1 的表达,削弱细胞的抗氧化能力,诱导细胞死亡。那么,ATO 又是通过怎样的通路抑制 NQO1 和 HO-1 表达? 有研究<sup>[4-5]</sup>显示,BACH1 是 NQO1 和 HO-1 基因转录的负调控因子,BACH1 高表达可抑制 NQO1 和 HO-1 蛋白的表达,进而减弱细胞的抗氧化防御能力,那么,ATO 对细胞抗氧化能力的削弱是否与 BACH1 有关? 目前尚未明确。本研究结果显示,随着 ATO 浓度的增加,BACH1 的表达水平增加,而 NQO1 和 HO-1 的表达水平则下降,细胞的总抗氧化能力也随之下下降,细胞死亡增多,说明 ATO 可能是通过激活 BACH1,进而抑制 NQO1 和 HO-1 的表达,削弱细胞的总抗氧化能力,最终诱导

肺癌细胞死亡。

有研究显示,miR-155 是 BACH1 表达水平的负调控因子,可与 BACH1 mRNA 的多个区域互补结合,抑制 mRNA 的翻译,从而减少 BACH1 蛋白的表达<sup>[10-11]</sup>。那么 ATO 是否会通过抑制 miR-155 的表达,从而增加 BACH1 的表达? 本研究结果显示,随着 ATO 浓度的增加,miR-155 的表达水平逐渐降低,这与 BACH1 蛋白表达水平逐渐增加截然相反,提示 BACH1 蛋白的变化可能由 miR-155 调控。为进一步明确这种调控关系,我们采用 miR-155 mimic 转染 A549 细胞,使 miR-155 水平增加后,再给予 20  $\mu\text{mol/L}$  ATO 处理,结果显示 miR-155 高表达的 M 组与 miR-155 低表达的两组相比,BAFH1 蛋白表达水平降低,ATO 对 BACH1 蛋白的激活作用减弱,这提示我们 ATO 可通过抑制 miR-155 的水平,从而上调 BACH1 蛋白的表达。早期研究显示,在肾细胞癌中抑制 miR-155 水平可上调 BACH1 的表达水平,同时细胞的增殖和侵袭能力下降,凋亡水平增加<sup>[11]</sup>,但 miR-155 上调的 BACH1 是如何影响肿瘤细胞的存活能力? 是否与受 BACH1 调控的氧化还原平衡有关? 这些问题均未明确。本研究结果显示,ATO 抑制 miR-155 水平、增加 BACH1 蛋白表达后,NQO1 和 HO-1 蛋白表达水平下降,细胞死亡率随之增加,而用 miR-155 mimic 增加 miR-155 表达水平后,ATO 对 BACH1 蛋白的激活作用减弱,NQO1 和 HO-1 蛋白表达水平增加,细胞死亡率则呈下降趋势,这提示 miR-155 上调的 BACH1 蛋白可通过调控抗氧化物质 NQO1 和 HO-1 蛋白的表达影响细胞的存活。

值得注意的是,在 JI 等<sup>[14]</sup>的研究中,ATO 处理前列腺癌细胞后,miR-155 的表达水平升高,这与本研究结果相反,可能的原因有:其一,miR-155 是一种功能比较复杂的微小 RNA,具有抑癌和促癌的双重作用,如在肺癌细胞中,miR-155 可促进细胞增殖、抑制细胞凋亡从而促进癌症的进展,而在前列腺癌细胞中,miR-155 则能抑制细胞的迁徙和生长,从而抑制癌症的进展,miR-155 的这种双重作用可能导致了 ATO 处理肺癌和前列腺癌细胞后,miR-155 的水平呈现截然相反的趋势;其二,ATO 因剂量的不同会呈现促生长和促凋亡两种截然相反的生物效应,在 JI 等<sup>[14]</sup>的研究中,观察的是 2  $\mu\text{mol/L}$  ATO 对 miR-155 水平的影响,而本研究中采用的剂量为 5、10 和 20  $\mu\text{mol/L}$  等相对比较高的剂量对 miR-155 的影响,因此 ATO 处理剂量的不同也可

能会影响 miR-155 的变化趋势。

综上所述,ATO 可通过抑制 miR-155 的表达水平,激活 BACH1 蛋白,抑制 NQO1 和 HO-1 蛋白的表达,从而削弱细胞的总抗氧化能力,最终诱导细胞死亡。同时,本研究结果提示在将 ATO 用于肺癌的临床治疗时,可联合使用 miR-155 的抑制剂,削弱细胞抗氧化能力,从而增强 ATO 杀伤肿瘤细胞的作用。

## 参 考 文 献

- [1] 安 艳,李春春,邓哈依. 砷诱发氧化应激研究现状. 国外医学(医学地理分册),2015,36(3):165-171.
- [2] DHAKSHINAMOORTHY S, JAIN AK, BLOOM DA, *et al.* Bach1 competes with Nrf2 leading to negative regulation of the antioxidant response element (ARE)-mediated NAD(P)H: quinone oxidoreductase 1 gene expression and induction in response to antioxidants. J Biol Chem, 2005,280(17):16891-16900.
- [3] LAI TH, SHIEH JM, TSOU CJ, *et al.* Gold nanoparticles induce heme oxygenase-1 expression through Nrf2 activation and Bach1 export in human vascular endothelial cells. Int J Nanomedicine, 2015, 10: 5925-5939 [2017-02-13]. <https://doi.org/10.2147/IJN.S88514>.
- [4] REICHARD JF, SARTOR MA, PUGA A. BACH1 is a specific repressor of HMOX1 that is inactivated by arsenite. J Biol Chem, 2008,283(33):22363-22370.
- [5] LIU D, DUAN X, DONG D, *et al.* Activation of the Nrf2 pathway by inorganic arsenic in human hepatocytes and the role of transcriptional repressor Bach1. Oxid Med Cell Longev, 2013, 2013: 984546 [2016-05-21]. <http://dx.doi.org/10.1155/2013/984546>.
- [6] ZHANG X, SU Y, ZHANG M, *et al.* Opposite effects of arsenic trioxide on the Nrf2 pathway in oral squamous cell carcinoma *in vitro* and *in vivo*. Cancer Lett, 2012, 318(1): 93-98.
- [7] GU S, CHEN C, JIANG X, *et al.* ROS-mediated endoplasmic reticulum stress and mitochondrial dysfunction underlie apoptosis induced by resveratrol and arsenic trioxide in A549 cells. Chem Biol Interact, 2016, 245: 100-109 [2017-02-13]. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cbi.2016.01.005>.
- [8] JIANG X, CHEN C, ZHAO W, *et al.* Sodium arsenite and arsenic trioxide differently affect the oxidative stress, genotoxicity and apoptosis in A549 cells: an implication for the paradoxical mechanism. Environ Toxicol Pharmacol, 2013, 36(3): 891-902.
- [9] WANG F, ZHOU J, ZHANG Y, *et al.* The value of microRNA-155 as a prognostic factor for survival in non-small cell lung cancer: a meta-analysis. PLoS One, 2015, 10(8): e0136889 [2017-02-13]. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0136889>.
- [10] LI S, CHEN T, ZHONG Z, *et al.* microRNA-155 silencing inhibits proliferation and migration and induces apoptosis by upregulating BACH1 in renal cancer cells. Mol Med Rep, 2012, 5(4): 949-954.
- [11] PULKKINEN KH, YLA-HERTTUALA S, LEVONEN AL. Heme oxygenase 1 is induced by miR-155 via reduced BACH1 translation in endothelial cells. Free Radic Biol Med, 2011, 5(11): 2124-2131.
- [12] WAN C, HAN R, LIU L, *et al.* Role of miR-155 in fluorooctane sulfonate-induced oxidative hepatic damage via the Nrf2-dependent pathway. Toxicol Appl Pharmacol, 2016, 295: 85-93 [2017-02-13]. <http://dx.doi.org/10.1016/j.taap.2016.01.023>.
- [13] 王 宁,马慧萍,漆欣筑. Nrf2-ARE 信号通路在机体氧化应激损伤防护中的研究进展. 解放军医药杂志, 2015, 27(12): 21-26.
- [14] JI H, LI Y, JIANG F, *et al.* Inhibition of transforming growth factor beta/SMAD signal by MiR-155 is involved in arsenic trioxide-induced anti-angiogenesis in prostate cancer. Cancer Sci, 2014, 105(12): 1541-1549.

(2017-04-11 收稿, 2017-07-23 修回)

编辑 沈 进