论著

文章编号:1000-5404(2014)19-1976-05

双功能基因APE1调控人骨肉瘤HOS细胞miRNAs的初步研究

戴 楠,李梦侠,卿 毅,李崇义,杨宇馨,代晓燕,王 东 (400042 重庆,第三军医大学大坪医院野战外科研究所肿瘤中心)

[摘要] **目的** 比较APE1-konckdown骨肉瘤HOS细胞miRNAs表达谱的差异,初步探讨APE1可能调控的miRNAs及其涉及的功能通路。**方法** 利用Ad5/F35-APE1 siRNA腺病毒敲低骨肉瘤HOS细胞中APE1的表达,采用miRNA芯片检测敲低组和对照组miRNAs表达谱的改变,qRT-PCR验证,并利用生物信息学分析差异miRNAs涉及的功能。**结果** miRNAs芯片结果显示,APE1敲低组中有32个miRNAs表达显著改变;qRT-PCR验证有13个miRNAs的改变与芯片结果趋势一致,其中7个上调,6个下调;基因聚类分析发现,13个显著变化的miRNAs涉及的靶基因的功能主要定位在细胞内,与蛋白、DNA结合以及转录功能有关,参与调控发育和细胞代谢等生物过程;Pathway分析显示其靶基因主要涉及粘附连接、轴突导向、ECM-受体相互作用、肿瘤通路,以及TGF-β、MAPK、ErbB、Wnt、mTOR及p53等关键的细胞信号通路。**结论** APE1能直接影响骨肉瘤细胞miRNAs的表达;生物信息学分析表明APE1通过调控miRNAs可能影响下游靶基因的表达,参与肿瘤发生、细胞生存、增殖、粘附等生物学过程和多个信号通路,与骨肉瘤的发生、发展、侵袭转移密切相关。

[关键词] 脱嘌呤脱嘧啶核酸内切酶;非编码小RNA;生物信息学;骨肉瘤
[中图法分类号] R394.3; R730.23; R738.1 [文献标志码] A

Effect of a double functional gene APE1 on miRNAs expression in human osteosarcoma HOS cells

Dai Nan, Li Mengxia, Qing Yi, Li Chongyi, Yang Yuxin, Dai Xiaoyan, Wang Dong (Cancer Center, Institute of Surgery Research, Daping Hospital, Third Military Medical University, Chongqing, 400042, China)

[**Abstract**] **Objective** To determine the differential expression profile between apurinic/apyrimidinic endonuclease (APE1) knockdown HOS cells and wild-type HOS cells, and to investigate the roles of these differential miRNAs in osteosarcoma cells. **Methods** After APE1 expression were down-regulated by APE1-siRNA adenovirus Ad5/F35-APE1 siRNA in HOS cells, microarray were used to confirm the change of microRNAs (miRNAs) in APE1-knockdown osteosarcoma HOS cells and wide-type cells. The results were confirmed by qRT-PCR. Comprehensive bioinformatics-based analysis, including target genes, gene ontology (GO) analysis and pathway analysis were carried out to analyze these differential expressed miRNAs and their functions. **Results** miRNA microarray indicated that there were 32 miRNAs differentially expressed in APE1 knockdown HOS cells. qRT-PCR demonstrated that 13 miRNAs (coincidence with the results of microarray) were significantly changed (> 2-fold), with 7 of them up-regulated and the other 6 down-regulated. Furthermore, GO analysis showed that these miRNAs and their target genes affected by APE1 expression were located in intra-cellular and played roles in the protein and DNA binding, transcription, developmental process and cellular metabolism. Pathway analysis showed that these miRNAs targets were involved in adhere junction, axon guidance, ECM-receptor interaction, cancer pathway, as well as some key cell signaling pathways (such as TGF-β, MAPK, EtbB, Wnt, mTOR and p53 signaling pathway). **Conclusion** APE1 appears to have a direct effect on global miRNAs expression. Bioinformatics-based analysis indicated APE1 may regulate miRNAs to affect the expression of downstream target genes. These interactions may be involved in the tumor, progenesis, cell survival, proliferation and adhesion, and many cell signal pathways, especially with regard to

[基金项目] 国家自然科学基金青年基金(81001000,81101993)
[通信作者] 王 东,电话:(023)68757151,E-mail:dongwang64@hotmail.com
[优先出版] http://www.cnki.net/kcms/detail/51.1095.R.20140807.1556.007.html(2014-08-07)

the tumorigenesis, development, invasion and metastasis of osteosarcoma.

[**Key words**] apurinic/apyrimidinic endonuclease; microRNAs; bioinformatics; osteosarcoma

Supported by the National Natural Science Foundation for Young Scholars of China (81001000,81101993). Corresponding author: Wang Dong, Tel: 86-23-68757151, E-mail: dongwang64@hotmail.com

微小RNA(microRNAs, miRNAs)是一类广泛分布在生物体内的非编码单链RNAs,主要通过与靶基因3′UTR区完全或不完全配对,降解或抑制翻译靶基因mRNA,从而在转录后水平调节基因的表达[1]。生物信息学数据显示,每个miRNA可以调节数百个靶基因,而一个靶基因可能由数个miRNAs调节,表明miRNAs可能影响所有的信号途径。而作为基因表达调节网络的成员之一,miRNAs分子表达同样受其他表达调控机制的调节,如其所在基因位点的启动子调节、表观遗传学调节、肿瘤相关基因的调节等[2]。新近研究表明,miRNAs可通过抑制靶基因相关的信号转导通路的活化,增加细胞凋亡或调节细胞周期,进而降低肿瘤辐抵抗[3],可能是肿瘤治疗的新策略。

脱嘌呤脱嘧啶核酸内切酶(apurinic/apyrimidinic endonuclease/redox effector factor, APE1/Ref-1)是哺乳动物细胞中主要的AP核酸内切酶,是DNA碱基切除修复(base excision repair, BER)通路中的限速酶,是一种多功能蛋白质[4],它不但能够修复烷化或氧化引起的DNA碱基损伤,而且还具有氧化还原功能,可通过氧化还原机制调节多种转录因子(如NF-κB、AP-1、Egr-1、p53、PEBP2、Myb、HIF-1α及Pax5、Pax8等)的DNA结合活性,影响其下游靶基因的表达,参与氧化应激、凋亡、细胞周期调控等多种关键的细胞反应,在多个细胞生物学过程中发挥网络结点作用,对细胞的生存十分重要[5]。2010年Kim等[6]首次发现重组APE1重组蛋白可以在体外直接剪切pri-miR-21和pri-miR-10b。上述研究提示,APE1可能对miRNAs有直接调控作用。基于上述研究基础,本研究旨在比较APE1野生型骨肉瘤细胞株和APE1敲低的骨肉瘤细胞株中miRNAs表达谱的差异,筛选并鉴定APE1可能直接作用的miRNAs,并利用生物信息学初步分析其功能,从而探讨APE1对肿瘤中miRNAs表达的影响及其二者在肿瘤发生、发展中的调控机制。

1 材料与方法

1.1 实验材料

HOS细胞株购于北京协和细胞库,DMEM培养基、胰蛋白酶和胎牛血清均购于美国HyClone公司;腺病毒Ad5/F35-APE1 siRNA按Xiang等[7]构建方法,由北京本元正阳公司合成;TRIzol、AMV逆转录试剂盒、Lipo fectamine 2000转染试剂盒以及所有合成引物均购于Invitrogen公司;Power SYBR Green PCR Master Mix购自Biosystems,鼠抗人APE1单克隆抗体、兔抗人β-actin单克隆抗体购自Santa Cruz公司;miRNA基因芯片为丹麦Exiqon miRCURY™ LNA Array(v.11.0)产品。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养 HOS细胞用DMEM完全培养基(10%胎牛血清,100 U/mL青霉素,100 μg/mL链霉素)于37 ℃、5% CO_2下培养,隔日换液。

1.2.2 腺病毒转染 将对数生长期的HOS细胞接种于6孔板中,每孔5×10^5个细胞;次日,以20 MOI的腺病毒Ad5/F35-APE1 siRNA和20 MOI的对照腺病毒Ad5/F35-EGFP感染HOS细胞4~6 h,更换完全培养基,继续培养48 h,Western blot检测APE1及β-actin的表达。

1.2.3 Western blot检测APE1蛋白的表达 提取对照组HOS细胞和敲低组HOS细胞总蛋白并定量,行10% SDS-PAGE电泳,电转1 h至PVDF膜,10%脱脂奶粉封闭,APE1一抗1∶5 000 37 ℃孵育1 h,抗小鼠IgG二抗1∶10 000 37 ℃孵育45 min,洗涤后显影并分析结果。

1.2.4 miRNAs基因芯片实验 分别用TRIzol处理敲低组和对照组细胞,寄到上海康成生物公司进行芯片杂交实验。实验步骤包括:①总RNA的提取与鉴定;②Hy3™/Hy5™标记样品;③样品与miRCURY™ LNA Array芯片进行杂交;④对杂交的miRNAs芯片进行扫描获得图像;⑤使用Genep ix Pro 6.0软件分析数据,以芯片中的内对照荧光值为参照,对所得信号值进行中位数归一化处理得到标准化值,分别比较实验组和对照组的结果,得到miRNAs差异表达谱。

1.2.5 qRT-PCR验证实验 将对照组和敲低组细胞提取总RNA并鉴定后,以U6作为内参,加入合成的miRNAs特异性引物行miRNAs逆转录反应,最后进行miRNA Real-time PCR反应,反应条件:95 ℃ 10 min→95 ℃ 15 s→60 ℃ 1 min,共计40个循环。

1.2.6 生物信息学分析 预测差异表达miRNAs的靶基因,综合TargetScan 5.1、MicroCosm v5和MICRORNA.ORG 3个数据库的靶基因信息,将3个数据库的靶基因并集作为最终的预测结果;通过GO分析软件(www.geneontology.org/)统计每个GO term中所包括的靶基因个数,利用Fisher精确检验的统计方法计算每个GO term中靶基因富集的显著性。通过KEGG pathway数据库(http://www.genome.jp/kegg/pathway.html)对靶基因进行Pathway显著性分析。分析每个Pathway中所包含的靶基因个数,用超几何分布的统计检验方法计算出反映Pathway中靶基因分布富集显著性的P值,根据P值大小找出与靶基因功能显著相关的生物通路。

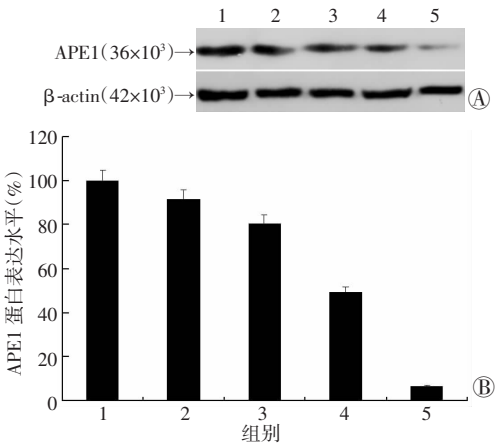
1.3 统计学分析

数据以$\bar{x}\pm s$表示,采用SPSS 19.0统计软件处理。芯片及qRT-PCR结果采用配对t检验;芯片与qRT-PCR结果的相关性采用Spearman非参数相关分析。

2 结果

2.1 腺病毒转染后 APE1 蛋白表达鉴定

采用 Western blot 法检测 APE1 siRNA 敲低组和 Ad5/F35-EGFP 对照组 HOS 细胞中 APE1 蛋白以及内参 β-actin 的表达，结果显示转染 20 MOI siRNA 敲低组 APE1 的表达减少约 95%（图 1）。



1：对照组；2：Ad5/F35-EGFP 转染组；3：5 MOI siRNA 敲低组；4：10 MOI siRNA 敲低组；5：20 MOI siRNA 敲低组

A：Western blot 检测结果；B：半定量分析结果

图 1 siRNA 转染 HOS 细胞后 APE1 的表达

2.2 miRNAs 差异表达谱分析结果

将 APE1 敲低 90% 以上的细胞和对照组样品行 miRNA 芯片检测，对芯片结果进行质量分析，计算得到相关系数 R^2 = 0.935 6，说明本次实验结果的重复性较好。进一步行数据分析，筛选到差异表达 >2 倍，P <0.05 的 miRNAs 共 32 个，其中上调的有 20 个，下调的有 12 个（图 2）。

2.3 qRT-PCR 验证芯片结果

根据 miRBase 数据库（http://www.mirbase.org/index.shtml，截止 2013 年 12 月）和文献的报道，miR-923 是 28S rRNA 的一个片段，miR-768 被证实为 snoRNA HBII-239，因此不作为鉴定对象。利用 qRT-PCR 法鉴定其余的差异 miRNAs，结果见表 1。差异表达 >2 倍且 P 值 <0.05 的上调 miRNAs 有 7 个，下调 miRNAs 有 6 个。芯片及 qRT-PCR 变化倍数的相关性分析显示，两组数据有较好的相关性（r = 0.943，P <0.001）。

表 1 qRT-PCR 鉴定的差异表达 miRNAs

miRNAs	APE1（Si/N）	P 值
上调的 miRNAs		
hsa-miR-451	8.01	0.000 0
hsa-miR-1290	4.62	0.000 0
hsa-miR-765	6.28	0.000 2
hsa-miR-483-5p	5.54	0.000 0
hsa-miR-513a-5p	2.89	0.000 1
hsa-miR-129-5p	2.88	0.001 9
hsa-miR-31	2.31	0.000 0
下调的 miRNAs		
hsa-miR-29b	0.39	0.000 0
hsa-miR-197	0.44	0.000 3
hsa-let-7b	0.46	0.000 5
hsa-miR-324-5p	0.48	0.000 8
hsa-let-7i	0.49	0.000 6
hsa-miR-484	0.43	0.000 0

2.4 生物信息学分析

综合 TargetScan 5.1、MicroCosm v5 和 MICRORNA.ORG 3 个数据库的靶基因信息结果显示，上调的 miRNAs 中共预测出 3 617 个靶基因，下调的 miRNAs 中共预测出 1 781 个靶基因。

2.4.1 差异 microRNA 的 GO 分析 GO 分析主要包括对细胞组成（cellular component）、分子功能（molecular function）和生物过程（biological process）三大类的统计。对实验中上调和下调 miRNAs 靶基因所富集最显著的 10 个生物过程的 GOterm 的分析发现（图 3、4）。APE1 敲低后 HOS 细胞差异表达的 miRNAs 的靶基因主要定位在细胞内，与蛋白、DNA 结合以及转录的功能有关，参与调控发育和细胞代谢等生物过程。

2.4.2 Pathway 分析 将差异 miRNAs 预测的靶基因进行 Pathway 显著性分析，我们发现 APE1 敲低后上调 miRNAs 影响的通路主要为 TGF-β 信号通路、粘附连接、轴突导向、Wnt 信号通路、长时程增强作用通路、神经营养因子信号通路、MAPK 信号通路、前列腺癌、神经胶质瘤、肿瘤通路和 ErbB 信号通路；下调 miRNAs 影响的通路主要为 ECM-受体相互作用通路、细胞的焦点粘连、小细胞肺癌、肿瘤通路、胶质瘤、TGF-β 信号通路、结肠癌、p53 信号通路、MAPK 信号通路、mTOR 信号通路、黑色素瘤和胰腺癌。通过进一步的文献分析，我们绘出了 TGF-β 和 MAPK 信号通路中已知上下游基因的作用网络关系。

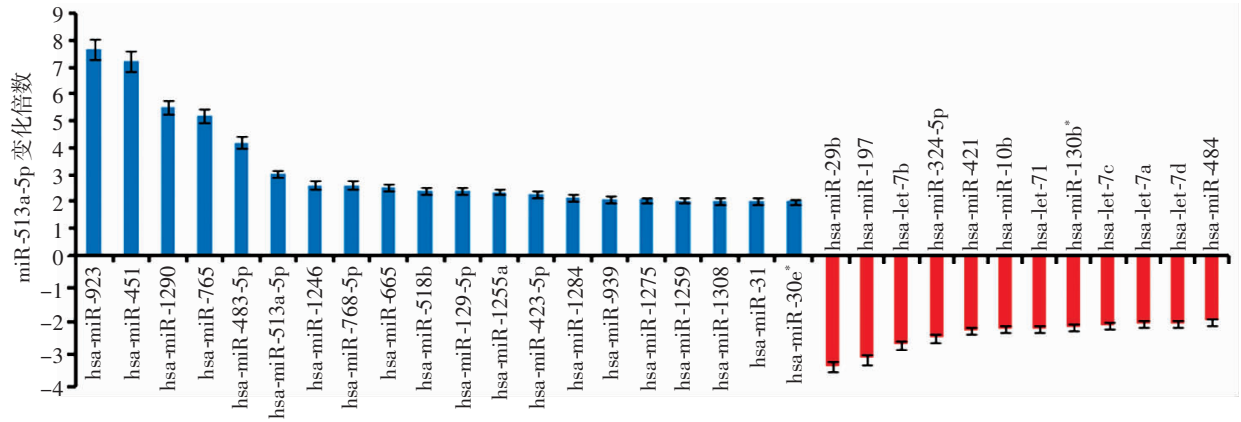


图 2 APE1 敲低后 HOS 细胞中差异表达大于 2 倍的 miRNAs

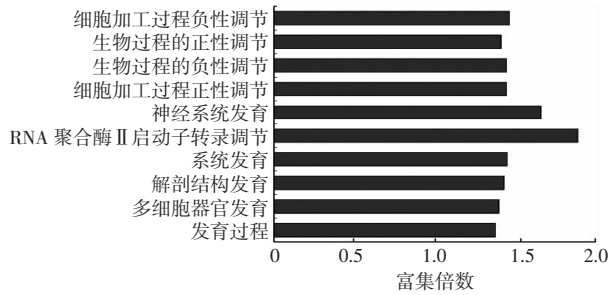


图 3 上调 miRNAs 的靶基因在生物过程中最显著的 10 个 GO term

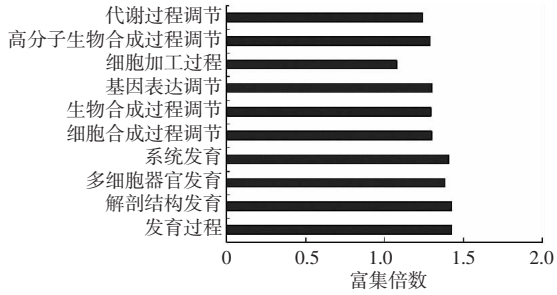


图 4 下调 miRNAs 的靶基因在生物过程中最显著的 10 个 GO term

3 讨论

细胞的生物学过程是由许多蛋白分子参与完成的一个复杂网络。APE1 作为真核生物体内大分子功能复合体的典型代表,参与氧化应激、细胞周期、凋亡等多个细胞生物学过程,并在其中发挥重要的网络结点作用。既往研究通过 APE1 敲低实验发现了一系列 APE1 的相互作用蛋白[8-9],探讨了 APE1 可能影响的细胞生物学通路。分别涉及 BER 和其他 DNA 损伤修复通路(包括 XRCC1、PCNA、FEN1、Polβ、Ku、PRP19),介导氧化还原调节通路(包括 Trx、PRDX6、p53、Era),蛋白质翻译后的修饰(包括 MDM2、SIRT-1、HDACs)以及 RNA 代谢通路(包括 YB-1、hS3、NPM1、RSSA、RLA0、hnRNP-L、PRP19、MEP50)。但现有研究并未充分阐明 APE1 参与某些重要的生物学过程(如细胞凋亡、血管发生、肿瘤的发生等)的具体作用机制,需要通过实验研究寻找更多与 APE1 功能相关的靶点分子。miRNAs 作为基因调控的桥梁,为研究 APE1 作用网络提供了新的思路。本课题采用 APE1-knockdown 细胞模型筛选了 APE1 相关 miRNAs 的表达谱。通过 RNAi 技术敲低骨肉瘤 HOS 细胞中高表达的 APE1 基因,利用 miRNA 芯片共筛选鉴定出 32 个 APE1 相关的差异 miRNAs。利用 qRT-PCR 法共鉴定出 13 个差异 miRNAs。

在 7 个显著下调的 miRNAs 中,miR-29 是在芯片中下调最显著的 miRNA (0.39 倍),也是目前研究较多的 miRNA 之一。多项研究表明 miR-29 可能是一个抑癌基因,在骨肉瘤 MG63 和骨肉瘤干细胞 3AB-OS 中表达显著降低[10]。可通过促进凋亡、抑制抑癌基因的甲基化、减少增殖以及增加肿瘤细胞化疗敏感性来发挥抑癌功能[11]。也有研究表明,miR-29 也可作为促癌基因参与上皮细胞间质转换(EMT),促进乳腺癌和结肠癌的转移[12]。而本研究显示 APE1-knockdown 后 miR-29 及 let-7 家族表达减少,同时细胞增殖降低[13],miR-29 可能在骨肉瘤 HOS 细胞株中发挥癌基因的作用。其他显著上调的 miRNAs,如 miR-451、miR-513a-5p、miR-129-5p、miR-31 也有明确报道与肿瘤的生长、分化、凋亡密切相关,且与肿瘤的诊断分型及预后相关。其中,miR-451 上调倍数最大(>7 倍)。研究证实,miR-451 与肿瘤的化疗抵抗密切相关。在卵巢癌、乳腺癌和非小细胞肺癌中,miR-451 表达降低可靶向增加 MDR1 的表达[14],激活 P 糖蛋白,将带阳性电荷的疏水性药物(如阿霉素、依托泊苷、紫杉醇等)从细胞内逆浓度梯度排出,减少细胞内化疗药物浓度,进而引起化疗抵抗[15]。APE1 在肿瘤化疗抵抗中同样具有重要作用。抑制 APE1 可增加肺癌、骨肉瘤[13]、结肠癌[7]等肿瘤细胞对化疗药物的敏感性,是增加化疗敏感性的有效靶点[4],但其介导肿瘤细胞化疗抵抗的分子机制尚不清楚。有研究表明,APE1 乙酰化能够增强转录因子 YB-1 的表达,激活 MDR1 转录表达,从而引起非小细胞肺癌的化疗抵抗[16];结合本研究结果,我们猜测 APE1 可能通过直接或间接作用 miR-451,影响 miR-451 对其靶基因 MDR1 的调控,介导骨肉瘤等多种肿瘤细胞的化疗抵抗。

本实验结果提示 APE1 可调控 miRNAs 的表达,但其机制尚不清楚。新近研究表明,APE1 可能通过酶切 miRNAs 前体的方式参与调节 miRNAs 的代谢[6]。因此,我们猜测 APE1-knockdown 后 miRNAs 上调的机制可能是由于抑制 APE1 蛋白表达的同时,其对 miRNAs 前体的剪切作用也被抑制,因此引起成熟 miRNAs 表达的减少。但 APE1 对 miRNAs 的这种剪切作用是否具有普遍性及组织学特异性并不清楚,这也是今后需要深入探讨的问题之一。同时,由于 APE1 具有氧化还原活性,可调节转录因子的 DNA 结合活性,而转录因子能够参与 miRNA 的转录激活,因此,我们猜测 APE1-knockdown 后 miRNAs 下调的可能机制为:敲低 APE1 后会减弱其氧化还原活性,继而减弱对转录因子调节作用,降低转录因子与下游 miRNAs 启动子区的结合能力,最终引起 miRNAs 的表达减少。上述假设中,APE1 与其相关 miRNAs 的作用方式及 miRNAs 可能涉及的新功能需进一步研究。

借助 Pathway 分析和 GO 分析,我们找到了 APE1 影响的差异 miRNAs 其靶基因可能涉及的细胞功能以

及信号通路,包括:与增殖有关的 MAPK、Wnt 和 ErbB 信号通路;与细胞生存有关的 p53、TGF-β 和 mTOR 信号通路;与细胞粘附有关的粘附连接、黏着斑、ECM 受体相互作用通路;与前列腺癌、胶质瘤、小细胞肺癌、结肠癌、黑色素瘤以及胰腺癌有关的肿瘤信号通路;与神经发育有关的轴突导向、长时程增强以及神经营养因子信号通路。在上述显著改变的细胞信号通路中,已有部分通路报道与 APE1 有相互作用,例如 p53 细胞信号通路[17]和肿瘤发生通路[5];抑制内源性 APE1 可影响 HMGB1 介导的细胞因子的释放,激活 THP-1 细胞中 MAPK 通路[18];应用三羟异黄酮可抑制放疗后 C57BL/6 小鼠的 APE1 的表达,同时抑制 NF-κB 激活的 TGF-β1、IL-1β、TNF-α 和 IL-6 等炎性因子的表达[19]。本研究表明 APE1 可能参与 Wnt 和 mTOR 信号通路的调控。前期研究我们曾利用基因芯片检测了 APE1-knockdown 与野生型 HOS 细胞的 cDNA 差异表达谱,MAPK14 和 TGF-β1 的表达同样也发生了显著升高[8]。这与本研究结果相吻合,从而有力地在基因水平和 miRNAs 水平同时证实了 APE1 可能参与这两条通路的调控。GO 分析和 Pathway 网络图详细列出了 APE1 影响的通路中可能受到调控的蛋白分子,这为我们进一步发现 APE1 新作用分子及新作用通路提供了理论基础。然而,靶基因可由多个 miRNAs 调控,并且还存在蛋白转录后的其他调控方式[17],因此我们得到的差异 miRNAs 不一定是其靶基因的蛋白表达量的改变。本研究结果还需有后期蛋白质功能实验如 Western blot、免疫组化、ELISA、过表达实验和 RNA 干扰等实验的进一步验证支持。

综上所述,本研究通过 APE1 敲低实验比较骨肉瘤细胞的 miRNAs 差异表达谱,初步证实了 APE1 能够直接影响 miRNAs 的表达,筛选、鉴定并分析了 APE1-miRNAs-靶基因可能涉及的细胞信号通路。这为研究 APE1 与 miRNAs 的相互作用,以及 APE1 和 miRNAs 在骨肉瘤发生、发展中的作用提供了实验基础。鉴于 miRNAs 和基因之间可以相互作用,因此 APE1 调控 miRNAs,或 miRNAs 靶向调控 APE1 的具体机制有待于下一步的研究。

参考文献:

[1] Nimmo R A, Slack F J. An elegant miRror: microRNAs in stem cells, developmental timing and cancer[J]. Chromosoma, 2009, 118(4): 405-418.

[2] Schuldt A. Great expectations of small RNAs[J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2010, 11(10): 676.

[3] Zhao L, Bode A M, Cao Y, *et al*. Regulatory mechanisms and clinical perspectives of miRNA in tumor radiosensitivity[J]. Carcinogenesis, 2012, 33(11): 2220-2227.

[4] Fishel ML, Kelley MR. The DNA base excision repair protein APE1/Ref-1 as a therapeutic and chemopreventive target[J]. Mol Aspects Med, 2007, 28(3/4): 375-395.

[5] Evans A R, Limp-Foster M, Kelley M R. Going APE over ref-1[J]. Mutat Res, 2000, 461(2): 83-108.

[6] Kim W C, King D, Lee C H. RNA-cleaving properties of human apurinic/apyrimidinic endonuclease 1 (APE1)[J]. Int J Biochem Mol Biol, 2010, 1(1): 12-25.

[7] Xiang D, Wang D, He Y, *et al*. Caffeic acid phenethyl ester induces growth arrest and apoptosis of colon cancer cells via the beta-catenin/T-cell fector signaling[J]. Anticancer Drugs, 2006, 17(7): 753-762.

[8] 王东, 仲召阳, 李增鹏, 等. 双功能基因 APE1 敲低后人体骨肉瘤细胞基因表达谱变化的研究[J]. 第三军医大学学报, 2007, 29(1): 1-4.

[9] Tell G, Fantini D, Quadrifoglio F. Understanding different functions of mammalian AP endonuclease (APE1) as a promising tool for cancer treatment[J]. Cell Mol Life Sci, 2010, 67(21): 3589-3608.

[10] Hu H, Zhang Y, Cai X H, *et al*. Changes in microRNA expression in the MG-63 osteosarcoma cell line compared with osteoblasts[J]. Oncol Lett, 2012, 4(5): 1037-1042.

[11] Jiang H, Zhang G, Wu J H, *et al*. Diverse roles of miR-29 in cancer (review)[J]. Oncol Rep, 2014, 31(4): 1509-1516.

[12] Gebeshuber C A, Zatloukal K, Martinez J. miR-29a suppresses tristetraprolin, which is a regulator of epithelial polarity and metastasis[J]. EMBO Rep, 2009, 10(4): 400-405.

[13] Wang D, Luo M, Kelley M R. Human apurinic endonuclease 1 (APE1) expression and prognostic significance in osteosarcoma: enhanced sensitivity of osteosarcoma to DNA damaging agents using silencing RNA APE1 expression inhibition[J]. Mol Cancer Ther, 2004, 3(6): 679-686.

[14] Bian H B, Pan X, Yang J S, *et al*. Upregulation of microRNA-451 increases cisplatin sensitivity of non-small cell lung cancer cell line (A549)[J]. J Exp Clin Cancer Res, 2011, 30: 20.

[15] Zhu H, Wu H, Liu X, *et al*. Role of MicroRNA miR-27a and miR-451 in the regulation of MDR1/P-glycoprotein expression in human cancer cells[J]. Biochem Pharmacol, 2008, 76(5): 582-588.

[16] Chattopadhyay R, Das S, Maiti A K, *et al*. Regulatory role of human AP-endonuclease (APE1/Ref-1) in YB-1-mediated activation of the multidrug resistance gene MDR1[J]. Mol Cell Biol, 2008, 28(23): 7066-7080.

[17] Busso C S, Iwakuma T, Izumi T. Ubiquitination of mammalian AP endonuclease (APE1) regulated by the p53-MDM2 signaling pathway[J]. Oncogene, 2009, 28(13): 1616-1625.

[18] Yuk J M, Yang C S, Shin D M, *et al*. A dual regulatory role of apurinic/apyrimidinic endonuclease 1/redox factor-1 in HMGB1-induced inflammatory responses[J]. Antioxid Redox Signal, 2009, 11(3): 575-588.

[19] Liu G D, Xia L, Zhu J W, *et al*. Genistein alleviates radiation-induced pneumonitis by depressing Ape1/Ref-1 expression to down-regulate inflammatory cytokines[J]. Cell Biochem Biophys, 2014, 69(3): 725-733.

(收稿:2014-04-11;修回:2014-05-15)

(编辑 汪勤俭)