

· 基础研究 ·

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2020.10.005

## miR-423-5p 调控 PDCD5 表达增强神经胶质瘤细胞替莫唑胺耐药性

王雷<sup>1,2</sup>, 沈维高<sup>3</sup>, 刘艳波<sup>4</sup>(1. 北华大学附属医院 神经外科, 吉林 吉林 132000; 2. 黄冈市中心医院 神经外科, 湖北 黄冈 438000; 3. 吉林医药学院附属医院 神经外科, 吉林 吉林 132081; 4. 北华大学 病理生理学教研室, 吉林 吉林 132000)

**[摘要]** **目的:** 探讨 miR-423-5p 在人神经胶质瘤组织和细胞中的表达及其调控程序性细胞死亡蛋白 5 (programmed cell death protein 5, PDCD5) 增强胶质瘤细胞对替莫唑胺 (temozolomide, TMZ) 的耐药性。 **方法:** 收集 2017 年 1 月至 2018 年 12 月北华大学附属医院神经外科手术切除的 20 例神经胶质瘤患者的瘤及瘤旁组织标本, 以及胶质瘤细胞系 U251、U87、SHG-44 和人类小胶质细胞株 HMC-3, 用 qPCR 法检测胶质瘤组织及细胞系中 miR-423-5p 和 PDCD5 的表达水平。用合成的 miR-423-5p mimics 和 miR-NC 分别转染 U251 和 U87 细胞, 同时用不同浓度 (50、100、150 和 200  $\mu\text{mol/L}$ ) 的 TMZ 处理细胞, 检测转染细胞对 TMZ 的耐药性, 用 MTT 法、克隆形成实验检测转染细胞的增殖活力, 用 Western blotting 检测 U251、U87 细胞中 c-caspase 3、Bcl-2 和 PDCD5 蛋白的表达。用双荧光素酶报告基因实验验证 miR-423-5p 与 PDCD5 的靶向关系。 **结果:** miR-423-5p 在神经胶质瘤组织和胶质瘤细胞系中均高表达 (均  $P < 0.01$ )。与 miR-NC 组比较, miR-423-5p mimics 组 U251 和 U87 细胞的增殖能力明显增强 (均  $P < 0.01$ ), 对 TMZ 的耐药性增强。双荧光素酶报告基因实验证实 miR-423-5p 可与 PDCD5 3' UTR 结合, 抑制 PDCD5 的表达。 **结论:** miR-423-5p 高表达增强胶质瘤细胞对 TMZ 的耐药能力, 其可作为临床胶质瘤治疗的潜在新靶点。

**[关键词]** 微小 RNA; 程序性细胞死亡蛋白 5; 神经胶质瘤; U251 细胞; U87 细胞; 增殖; 肿瘤耐药

**[中图分类号]** R739.41; R730.53 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2020)10-1100-06

## miR-423-5p enhances chemoresistance of glioblastomas cells to temozolomide by regulating PDCD5

WANG Lei<sup>1,2</sup>, SHEN Weigao<sup>3</sup>, LIU Yanbo<sup>4</sup>(1. Department of Neurosurgery, Affiliated Hospital of Beihua University, Jilin 132000, Jilin, China; 2. Department of Neurosurgery, Huanggang Central Hospital, Huanggang 438000, Hubei, China; 3. Department of Neurosurgery, Affiliated Hospital of Jilin Medical College, Jilin 132081, Jilin, China; 4. Department of Pathophysiology, Beihua University, Jilin 132000, Jilin, China)

**[Abstract]** **Objective:** To investigate the miR-423-5p expression in brain glioma tissues and cell lines, and its promotive effect on temozolomide (TMZ) chemoresistance by targeting PDCD5 (programmed cell death protein 5). **Methods:** Tumor tissues and matched peritumoral tissues were collected from 20 brain glioma patients who were surgically treated in the Department of Neurosurgery, Affiliated Hospital of Beihua University between January 2017 and December 2018. Glioblastoma cell lines (U251, U87, SHG-44) and human normal glial cell line HMC-3 were also used in the study. The relative expression of miR-423-5p and PDCD5 in brain glioma and peritumoral tissues and cell lines was detected by qPCR. The synthesized miR-423-5p mimics and miR-NC were respectively transfected into U251 and U87 cells; meanwhile, TMZ at different concentrations (50, 100, 150 and 200  $\mu\text{mol/L}$ ) were also used to treat the cells. Then, the chemoresistance of cells to TMZ were determined. MTT assay and colony formation assay were used to examine the proliferation of U251 and U87 cells, and Western blotting was used to detect the expression of c-caspase 3, Bcl-2 and PDCD5 proteins in U251 and U87 cells. The targeting relationship between PDCD5 and miR-423-5p was validated through Dual luciferase reporter gene assay. **Results:** miR-423-5p was highly expressed in glioma tissues and glioma cell lines (all  $P < 0.01$ ). As compared with the miR-NC group, the proliferation and TMZ-chemoresistance of U251 and U87 cells in miR-423-5p mimics group significantly increased (all  $P < 0.01$ ). Dual luciferase reporter gene assay validated that miR-423-5p could bind with PDCD5 3' UTR to suppress the expression of PDCD5. **Conclusion:** High expression of miR-423-5p enhances the chemoresistance of glioma cells to TMZ, and miR-423-5p may serve as a potential therapeutic target in the treatment of brain glioma.

**[基金项目]** 吉林省教育厅“十三五计划”科学技术项目 (No. JJKH20180332KJ)。Project supported by the “13th Five-Year Plan” Science and Technology Project of the Education Department of Jilin Province (No. JJKH20180332KJ)

**[作者简介]** 王雷 (1978-), 男, 博士, 副主任医师, 硕士生导师, 主要从事胶质瘤临床治疗研究, E-mail: 2311241601@qq.com

**[通信作者]** 刘艳波 (LIU Yanbo, corresponding author), 教授, 硕士生导师, 主要从事恶性实体肿瘤发病机制的研究, E-mail: liuyanbobehua@163.com

[Key words] microRNA (miRNA); programmed cell death protein 5 (PDCD5); brain glioma; U251 cell; U87 cell; proliferation; chemoresistance

[Chin J Cancer Biother, 2020, 27(10): 1100-1105. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2020.10.005]

神经胶质瘤是最常见的恶性脑肿瘤,易转移和复发<sup>[1]</sup>。随着替莫唑胺(temozolomide, TMZ)等新型化疗药物的出现,有效提高了患者的5年生存率<sup>[2]</sup>。TMZ具有甲基化/烷基化DNA的功能,是针对原发和复发脑胶质瘤最常用的一线化疗药物<sup>[3]</sup>。程序性细胞死亡蛋白-5(programmed cell death protein 5, PDCD-5)是一种新发现的抑癌基因。研究<sup>[4]</sup>证实, PDCD5基因具有促进细胞凋亡的功能。PDCD5在胃癌、鼻咽癌、星状细胞胶质瘤等肿瘤组织中表达下调,且其低表达与肿瘤的发生和耐药呈正相关<sup>[5-7]</sup>。微小RNA(microRNA, miRNA)通过与靶基因mRNA 3'端非翻译区(3'UTR)结合,使靶基因mRNA降解或翻译抑制,从而实现转录后调控靶基因的表达,参与细胞增殖、凋亡等生理过程,并影响肿瘤细胞对放化疗的敏感性<sup>[8]</sup>。WU等<sup>[9]</sup>发现,miR-423-5p作为癌基因促进肝癌的发生发展。为明确miR-423-5p与PDCD5对神经胶质瘤细胞对TMZ敏感性的调控作用,本研究通过检测人胶质瘤细胞系中miR-423-5p和PDCD5的表达水平并验证二者之间的相互作用关系,观察此作用对胶质瘤细胞TMZ敏感性的影响,以期对神经胶质瘤的靶向治疗提供新的靶点。

## 1 材料与方法

### 1.1 组织标本、细胞系及主要试剂

收集2017年1月至2018年12月北京大学附属医院神经外科手术切除的20例神经胶质瘤患者的瘤及瘤旁组织标本,其中男性12例、女性8例。按照WHO病理分级标准分成高、低级别胶质瘤2组,各10例。病例纳入标准:(1)均经临床、手术及病理学检查确诊,且均为原发性;(2)年龄18~80岁,性别不限;(3)术前均未接受放化疗。病例排除标准:(1)患者信息不完整;(2)曾患其他肿瘤者;(3)同时使用其他药物者。术前均告知并签署知情同意书,研究方案获得医院伦理委员会批准。

人胶质瘤细胞系U251、U87和SHG-44购自中国科学院上海生命科学院细胞库,人脑小胶质细胞株HMC-3购自上海雅吉生物科技有限公司。

MEM培养基、DMEM高糖培养基购自美国Hyclone公司,胎牛血清、细胞用青霉素/链霉素和EDTA胰酶购自美国Gibco公司,MTT试剂购于Sigma公司,总RNA分离提取试剂TRIzol、转染试剂Lipofectamine™3000购自美国Invitrogen公司,逆转录试剂盒及实时荧光定量PCR(qPCR)检测试剂购于

宝日医生物技术(北京)有限公司, TMZ购于江苏天士力帝益药业有限公司,4%多聚甲醛购自生工生物工程(上海)股份有限公司,结晶紫染色液、蛋白提取RIPA裂解液、BCA蛋白定量检测试剂盒、鼠抗人β-actin单克隆抗体及辣根过氧化物酶(horseradish peroxidase, HRP)标记的羊抗鼠及羊抗兔二抗购自上海碧云天生物技术有限公司,小鼠抗人PDCD5、Bcl-2、cleaved-caspase 3(c-caspase 3)单克隆抗体购自Cell Signal公司, ECL化学发光试剂盒购自德国Millipore公司,荧光素酶报告系统质粒购自美国Promega公司。引物由生工生物工程(上海)股份有限公司合成,靶向PDCD5的小干扰RNA及阴性对照(negative control siRNA, si-NC)、hsa-miR-423-5p mimics购自上海吉玛制药技术有限公司, siRNA序列: si-PDCD5为GAACAAGGUUAAUAGAAATT-3', si-NC为5'-GTTCTCCGAACGTGTCACGT-3'; miRNA序列: miR-423-5p mimics为5'-UGAGGGGCAGAGAGC-GAGACUUU-3', mimics negative control(miR-NC)为UUUGUACUACACAAAUAUCUG。

### 1.2 细胞培养及转染

胶质瘤U87、U251和SHG-44细胞贴壁培养于含10%胎牛血清、100 U/ml青霉素和100 μg/ml链霉素的高糖DMEM培养液, HMC-3细胞贴壁培养于含10%胎牛血清、100 U/ml青霉素、100 μg/ml链霉素的MEM培养基,均在置于37℃、5%CO<sub>2</sub>、95%饱和湿度的培养箱中培养。将处于对数生长期的U87和U251细胞以1×10<sup>5</sup>个/孔的密度接种于6孔板中(2 ml培养基/孔),于37℃、5%CO<sub>2</sub>饱和湿度的培养箱中培养24 h。当细胞汇合度达30%~50%时,按照转染试剂Lipofectamine™3000说明书的方法进行细胞转染。转染设计为2组,即处理组(miR-423-5p mimics)和miR-NC组。待细胞汇合度达70%~80%时转染PDCD5重组表达载体(pDsRed2-N1-PDCD5)及空白载体。转染6 h后,将培养基换为新鲜完全培养基继续培养,并进行后续实验。

### 1.3 qPCR法检测胶质瘤组织及细胞中miR-423-5p和PDCD5 mRNA的表达水平

转染24 h后的各组细胞采用TRIzol进行细胞裂解,抽提总RNA,采用PrimeScript™ RT reagent Kit(Perfect Real Time)试剂盒进行逆转录实验,获得各样品cDNA。将cDNA稀释10倍后作为模板,β-actin或U6为内参,按照SYBR® Premix Ex Taq™(Tli RNaseH Plus)试剂盒说明书提供的方法在BIO-RAD CFX Connect实时

荧光定量PCR仪进行qPCR检测。PCR引物序列: PDCD5 F为5'-CCATGGCGGACGAGGAGCTTG-3', R为5'-TCAATAATCGTCATCTTCA TC-3';  $\beta$ -actin F为5'-AGAGCTACGAGCTGCCTGAC-3', R为5'-AGCACTGTGTTGGCGTACAG-3'。PCR反应条件: 95 °C 30 s; 95 °C 5 s, 60 °C 30 s, 共40个循环。qPCR的结果以 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 表示目的基因mRNA的相对表达量,  $\Delta\Delta Ct = (\text{处理组 } Ct_{\text{靶基因}} - \text{处理组 } Ct_{\beta\text{-actin}}) - (\text{阴性对照组 } Ct_{\text{靶基因}} - \text{阴性对照组 } Ct_{\beta\text{-actin}})$ 。设阈值 $2^{-\Delta\Delta Ct} > 1.5$ 时表示为高表达。

#### 1.4 MTT法检测胶质瘤细胞的增殖能力

检测转染后细胞增殖曲线: 收集转染8 h后的细胞, 以 $3 \times 10^3$ 个/孔的细胞密度分别接种于96孔平底细胞培养板中, 每孔用完全培养基将体积补充为100  $\mu$ l/孔, 每组设3个复孔。细胞分别继续培养1、2、3、4、5 d后, 每孔加入20  $\mu$ l MTT (5 mg/ml) 溶液, 37 °C继续孵育4 h。弃尽板中的培养液, 每孔加入50  $\mu$ l DMSO, 置于摇床上低速震荡10 min使结晶物充分溶解, 酶标仪上检测波长在570 nm处各孔的光密度(D)值。

检测加TMZ后的细胞增殖曲线: 取对数生长期细胞以 $6 \times 10^4$ /ml/孔密度接种于96孔板(200  $\mu$ l/孔), 37 °C、5%CO<sub>2</sub>环境中孵育24 h后吸取上清, 分别加入50、100、150和200  $\mu$ mol/L的TMZ, 每个浓度设3个复孔。设置未加药孔为对照组。加药48 h后, 每孔加入20  $\mu$ l MTT (5 mg/ml) 溶液, 37 °C继续孵育4 h。吸取板中的培养液, 每孔加入50  $\mu$ l的DMSO, 置于摇床上低速震荡10 min使结晶物充分溶解, 于酶标仪上检测波长在570 nm处的D值。

#### 1.5 Western blotting(WB)检测胶质瘤细胞中c-caspase-3、Bcl-2和PDCD5蛋白的表达水平

收集各组转染48 h后的细胞, 采用RIPA蛋白裂解液在冰上孵育30 min进行细胞总蛋白提取, 并使用BCA蛋白定量试剂盒进行各组蛋白定量, 加入相应体积的6 $\times$ SDS-PAGE加样缓冲液, 煮沸10 min。取蛋白50  $\mu$ g/孔上样, 进行SDS-PAGE、转膜, 用5%脱脂奶粉室温封闭1 h, 分别使用均为1:1 000稀释的一抗 $\beta$ -actin、c-caspase 3、Bcl-2、PDCD5, 4 °C孵育过夜。次日, TBST漂洗3次, 加入HRP标记的羊抗兔、羊抗鼠二抗(1:5 000)室温孵育2 h, 经ECL发光液反应后, 暗室曝光, 采用Image J软件分析蛋白条带的灰度值并以 $\beta$ -actin为内参进行比较, 将灰度值<sub>目的蛋白</sub>/灰度值 <sub>$\beta$ -actin</sub>结果进行统计分析。

#### 1.6 双荧光素酶报告基因实验验证miR-423-5p与PDCD5的靶向关系

采用双荧光素酶报告系统检测miR-423靶向结合PDCD5 3' UTR。将野生型(WT)PDCD5 3' UTR

和突变型(MUT)PDCD5 3' UTR克隆至pGL3-Promoter质粒萤火虫荧光素酶下游, 将待测细胞铺于12孔板中, 当细胞汇合度达80%时, 按照转染试剂Lipofectamine™ 3000说明书要求将质粒和miRNA共转染至贴壁细胞, 并将海肾荧光素酶表达质粒共转染至细胞中作为内参。转染48 h后, 按照Promega双荧光素酶报告系统试剂盒说明书方法进行检测。

#### 1.7 克隆形成实验检测胶质瘤细胞的克隆形成能力

收集转染24 h后的细胞, 按500个/孔的细胞密度接种于6孔板中, 每组设3个平行样品, 加含50  $\mu$ mol TMZ静置培养10 d, 直到孔板中出现肉眼可见的克隆时, 将其从培养箱中取出, 采用4%多聚甲醛溶液固定细胞15 min, 风干后, 用0.1%结晶紫染色15 min, 观察并计数细胞克隆数。

#### 1.8 统计学处理

以上所有实验均重复3次。应用Graphpad Prism 8.0软件对实验数据进行统计分析和图片绘图。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。以 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 miR-423-5p在胶质瘤组织及细胞系中高表达并增强胶质瘤细胞的增殖能力

qPCR法检测结果显示, miR-423-5p在20例胶质瘤组织中的表达水平显著高于瘤旁组织( $t=3.280$ ,  $P < 0.01$ ; 图1A), 在75%(15/20)的胶质瘤组织中miR-423-5p高表达; miR-423-5p在U251、U87和SHG-44细胞中表达水平显著高于HMC3细胞( $t=9.335$ 、6.138、11.47, 均 $P < 0.01$ ; 图1B), 以在U251细胞中的表达水平最高。转染24 h后, 与miR-NC组比较, miR-423-5p mimics组U251和U87细胞中miR-423-5p表达水平明显升高( $t=10.10$ 、7.881, 均 $P < 0.01$ ; 图1C)。

MTT检测结果(图1D)显示, 与miR-NC组比较, 转染后1、2 d时miR-423-5p mimics组U251、U87细胞的增殖能力差异无统计学意义(均 $P > 0.05$ ); 3~5 d时, U251细胞转染miR-423-5p mimics组细胞的增殖能力明显增强( $t=2.542$ ,  $P < 0.05$ ;  $t=5.65$ 、5.684, 均 $P < 0.01$ ), U87细胞转染miR-423-5p mimics组细胞的增殖能力明显增强( $t=4.381$ ,  $P < 0.05$ ;  $t=17.45$ 、20.71, 均 $P < 0.01$ )。结果表明, miR-423-5p在脑神经胶质瘤组织及细胞系中高表达并增强胶质瘤细胞的增殖能力。

### 2.2 miR-423-5p对胶质瘤细胞TMZ药物敏感性的影响

MTT实验结果(图2A)显示, 转染miR-423-5p后, 经不同浓度(0、50、100、150和200  $\mu$ mol/L)的



TMZ 中培养 48 h 后, 在 miR-423-5p mimics 组 U251、U87 细胞中在 100  $\mu\text{mol/L}$  以上 TMZ 的存活能力均显著高于 miR-NC 组 ( $t=20.18、21.16、17.05, t=6.64、5.541、10.68$ ; 均  $P<0.01$ ), 表明胶质瘤细胞对 TMZ 具有耐药性。

细胞克隆形成实验结果(图 2B)显示, 经 miR-423-5p mimics+TMZ 处理 10 d 时, miR-423-5p mimics+TMZ 组 U251 和 U87 细胞的集落形成能力明显强于 miR-NC 组( $t=9.291、9.563$ , 均  $P<0.01$ )。

WB 检测结果(图 2C)显示, 经培养 48 h 后, 与 miR-NC+TMZ 比较, miR-423-5p mimics+TMZ 组 U251、U87 细胞中凋亡相关蛋白 c-caspase 3 表达水平明显下降( $t=12.46、7.995$ , 均  $P<0.01$ )、Bcl-2 蛋白表达水平明显升高( $t=7.735, P<0.01; t=3.611, P<0.05$ )。以上实验结果表明, 在胶质瘤细胞中过表达 miR-423-5p 可使细胞对 TMZ 的敏感性下降, 提高其对 TMZ 的耐药性。

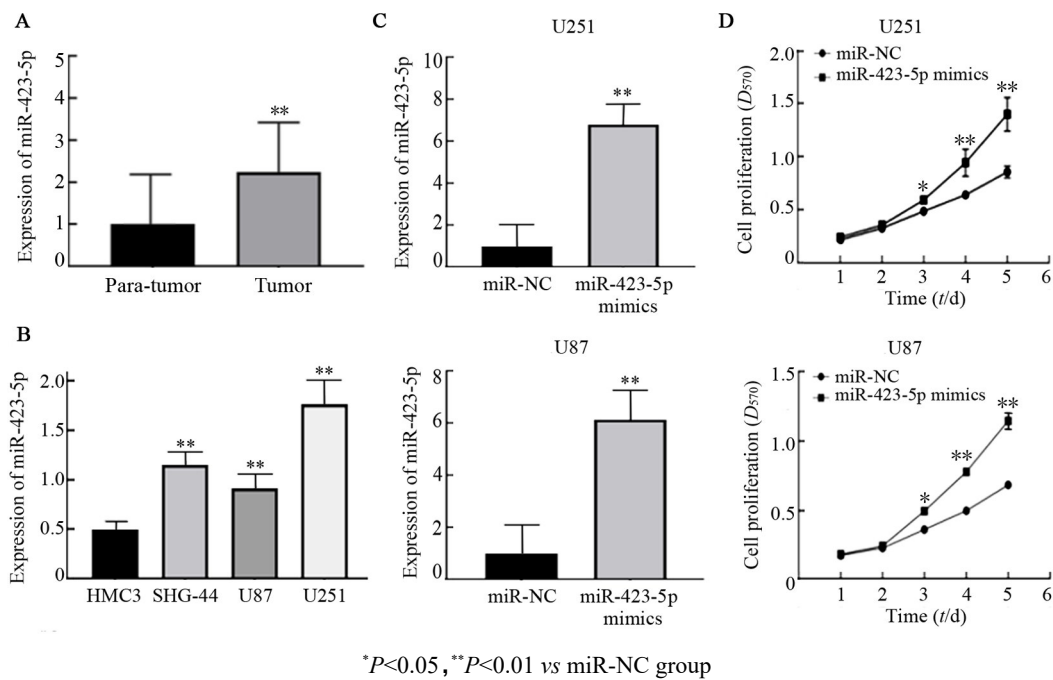


图 1 miR-423-5p 在脑神经胶质瘤组织(A)、细胞系(B,C)中的表达及其对胶质瘤细胞增殖能力(D)的影响  
Fig.1 Expression of miR-423-5p in glioma tissues (A) and cell lines (B, C) and its effect on glioma cell proliferation (D)

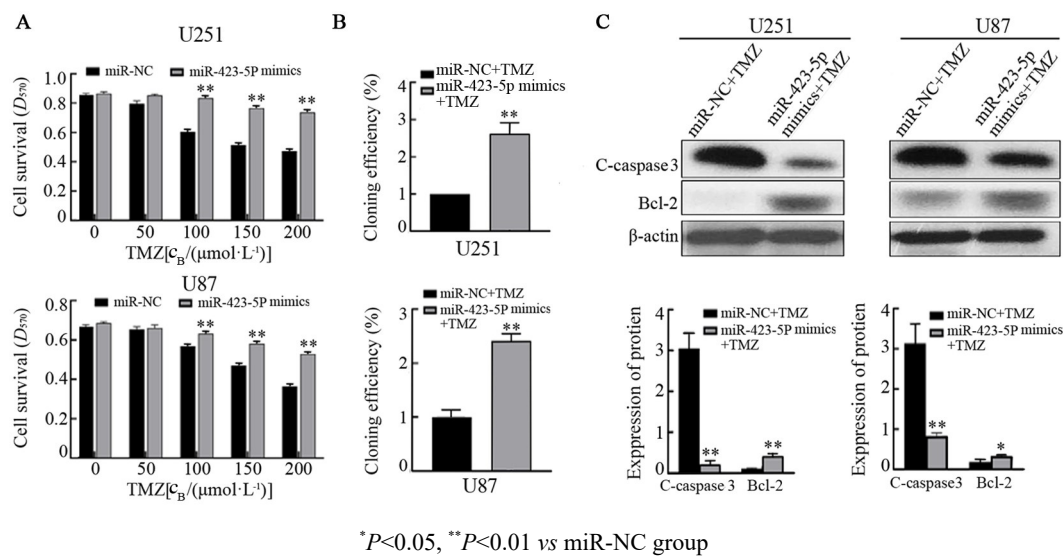


图 2 miR-423-5p 对胶质瘤细胞在 TMZ 处理下的存活(A)、克隆形成能力(B)及凋亡相关蛋白表达(C)的影响  
Fig.2 Effect of miR-423-5p on cell survival (A), cell colony efficiency (B) and expression of apoptosis-related proteins (C) in glioma cells after TMZ treatment

### 2.3 miR-423-5p 靶向抑制 PDCD5 mRNA 和蛋白的表达增强胶质瘤细胞对 TMZ 的耐药性

利用生物信息学技术手段,结合 TargetScan(<http://www.targetscan.org>)、miRTarBase(<http://mirtarbase.mbc.nctu.edu.tw/>)等数据库预测 miR-423-5p 是一个潜在的 miRNA 可靶向结合 PDCD5 基因 3' UTR(图 3A)。双荧光素酶报告基因实验结果(图 3B)显示,

miR-423-5p 直接调控 PDCD5 表达( $t=16.64, P<0.01$ )。qPCR 及 WB 实验结果(图 3C、D)显示,转染 miR-423-5p mimics 后,U251、U87 细胞中 PDCD5 mRNA 表达水平明显低于 miR-NC 组( $t=5.548、5.640$ , 均  $P<0.01$ ),PDCD5 蛋白表达水平也明显低于 miR-NC 组( $t=6.545、5.044$ , 均  $P<0.01$ )。实验结果表明,miR-423-5p 通过与 PDCD5 基因 3' UTR 位点结合抑制其表达。

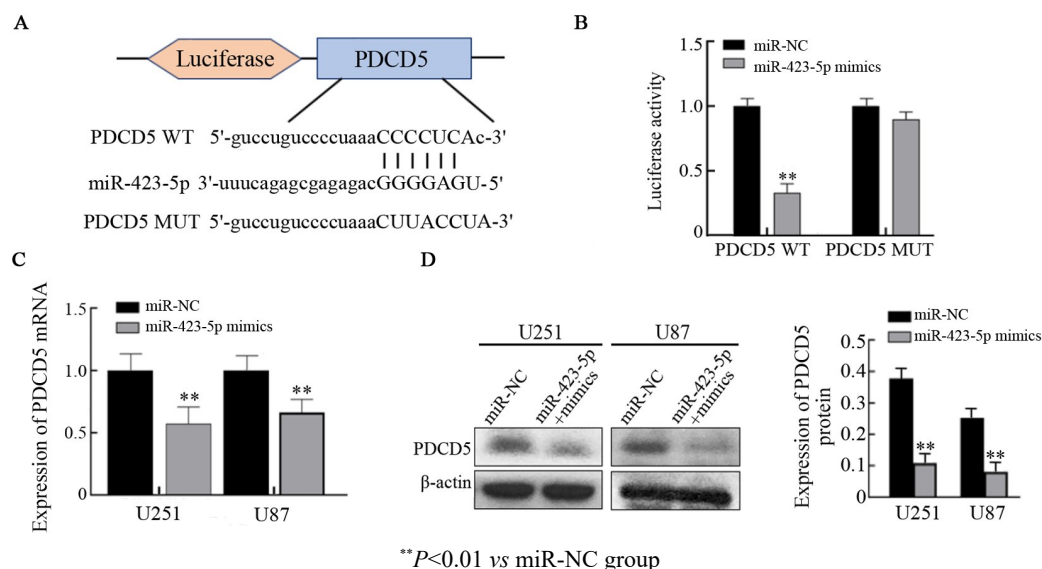


图3 miR-423-5p靶向结合PDCD5结合3'UTR(A,B)、过表达miR-423-5p抑制胶质瘤细胞PDCD5 mRNA和蛋白水平的表达(C,D)  
Fig.3 Dual luciferase reporter gene assay confirmed the interaction between miR-423-5p and PDCD5 3' UTR (A, B), and over-expression of miR-423-5p inhibited mRNA and protein expressions of PDCD5 in glioma cells (C, D)

### 3 讨论

脑神经胶质瘤的发病率居所有神经系统肿瘤首位,约占35%~60%。新型化疗药物TMZ的问世,以其给药途径简便、可通过血脑屏障、生物利用率高、副作用小等优势为脑神经胶质瘤患者带来了福音,患者化疗后中位生存期、术后无进展生存期明显延长,生活质量亦明显改善<sup>[10]</sup>。目前,国际上治疗脑神经胶质瘤的标准方案为手术切除后放疗+TMZ同步化疗,再予以TMZ周期化疗,临床上仅有不到30%的患者生存期超过2年,而5年生存率仅9.8%<sup>[11]</sup>,这与神经胶质瘤对TMZ耐药有关,临床治疗亟需新的药物敏感分子靶标出现。随着基因组研究技术的蓬勃发展,非编码RNA与肿瘤耐药的研究方兴未艾<sup>[12]</sup>。

miRNA是一类大小为18~25 nt的非编码小RNA,广泛存在于真核生物中,与肿瘤的发生发展密切相关。尤其在转录后基因的调控在肿瘤耐药中扮演至关重要的角色<sup>[13]</sup>。miR-423在肿瘤耐药中发挥重要作用,STIUSO等<sup>[14]</sup>发现miR-423是一条促癌miRNA,其可促进肝癌的发生,并可作为评估肝癌患者预后的独立风险因子,该团队针对肝癌耐药的研

究表明,miR-423与肝癌患者索拉菲尼治疗效果密切相关。目前已有多例研究表明,miRNA对TMZ药物作用具有重要影响。XU等<sup>[15]</sup>报道,miR-181通过与硒蛋白K靶向结合抑制胶质瘤细胞增殖与侵袭,同时可提高胶质瘤细胞对TMZ的敏感性。miR-195可靶向结合周期蛋白E1,从而逆转瘤细胞对TMZ的耐药性<sup>[16]</sup>。LI等<sup>[17]</sup>发现在胶质瘤中miR-423-5p可抑制生长抑制蛋白4(inhibitor of growth 4, ING-4)的表达从而引起脑神经胶质瘤细胞对TMZ的耐药。PDCD5是近年来研究较多的抑癌基因-程序死亡蛋白,是凋亡的促进剂,其在肝癌、卵巢癌、肾透明细胞癌组织中表达水平显著低于癌旁正常组织<sup>[18-20]</sup>。多项研究<sup>[7,21-22]</sup>证实,PDCD5在人脑神经胶质瘤中发挥抑癌作用,并可提高肿瘤细胞对化疗药物的敏感性,提高其表达水平在脑神经胶质瘤的治疗中具有重要影响。

本研究发现,miR-42-5p在脑神经胶质瘤组织及细胞系中呈表达增高的趋势,同时过表达miR-423-5p可显著提高肿瘤细胞的增殖能力,且提高其对TMZ的耐药性。通过利用生物信息学手段进行miRNA相关数据库的检索,采用双荧光素酶报告系统验证

miR-423-5p 可靶向结合 PDCD5 基因 3' UTR, 并且过表达 miR-423-5p 可有效降低胶质瘤细胞中 PDCD5 mRNA 与蛋白的表达水平。提示 miR-423-5p 可通过调控 PDCD5 3' UTR 促进胶质瘤细胞的增殖并提高其对 TMZ 的耐药性。

总之, miRNA-靶基因之间的交互作用是脑神经胶质瘤耐药机制研究的热点, 本研究结果揭示 miR-423-5p 通过抑制 PDCD5 表达提高胶质瘤细胞对 TMZ 的敏感性, 此为脑神经胶质瘤靶向治疗及防治提供了新的靶点和新的思路。

### 【参考文献】

- [1] KIM B H, LEE H, PARK C G, et al. STAT3 inhibitor ODZ10117 suppresses glioblastoma malignancy and prolongs survival in a glioblastoma xenograft model[J/OL]. *Cells*, 2020, 9(3): E722[2020-04-08]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7140655/>. DOI:10.3390/cells9030722.
- [2] JIANG H, ZENG W, REN X, et al. Super-early initiation of temozolomide prolongs the survival of glioblastoma patients without gross-total resection: a retrospective cohort study[J]. *J Neurooncol*, 2019, 144(1): 127-135. DOI:10.1007/s11060-019-03211-1.
- [3] GALLITTO M, CHENG HE R, INOCENCIO J F, et al. Epigenetic preconditioning with decitabine sensitizes glioblastoma to temozolomide via induction of MLH1[J/OL]. *J Neurooncol*, 2020, 147(3): 557-566[2020-04-08]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7256087/>. DOI:10.1007/s11060-020-03461-4.
- [4] WANG Y, LI D, FAN H, et al. Cellular uptake of exogenous human PDCD5 protein[J]. *J Biol Chem*, 2006, 281(34): 24803-24817. DOI: 10.1074/jbc.M600183200.
- [5] XU H Y, CHEN Z W, PAN Y M, et al. Transfection of PDCD5 effect on the biological behavior of tumor cells and sensitized gastric cancer cells to cisplatin-induced apoptosis[J]. *Dig Dis Sci*, 2012, 57(7): 1847-1856. DOI:10.1007/s10620-012-2090-y.
- [6] 陆鸿略, 王成硕, 好玲玲, 等. 鼻腔-鼻窦鳞状细胞癌中 PDCD5 和 Bcl-2 蛋白的表达及意义[J]. *临床耳鼻咽喉头颈外科杂志*, 2014, 28(17): 1301-1304. DOI:10.13201/j.issn.1001-1781.2014.17.008.
- [7] WANG C, LI J K, LI H Z, et al. The importance of expressing PDCD4 and PDCD5 anti-oncogenes in glioma[J]. *J Biol Regul Homeost Agents*, 2018, 32(3): 731-736.
- [8] RUPAIMOOLE R, SLACK F J. MicroRNA therapeutics: towards a new era for the management of cancer and other diseases[J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2017, 16(3): 203-222. DOI: 10.1038/nrd.2016.246.
- [9] WU L M, JI J S, YANG Z, et al. Oncogenic role of microRNA-423-5p in hepatocellular carcinoma[J]. *HBPD INT*, 2015, 14(6): 613-618. DOI:10.1016/s1499-3872(15)60038-8.
- [10] WANG S, YAO F, LU X, et al. Temozolomide promotes immune escape of GBM cells via upregulating PD-L1[J]. *Am J Cancer Res*, 2019, 9(6): 1161-1171. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6610056/>.
- [11] YAMAN E, COSKUN U, OZTURK B, et al. Opportunistic cytomegalovirus infection in a patient receiving temozolomide for treatment of malignant glioma[J]. *J Clin Neurosci*, 2009, 16(4): 591-592. DOI: 10.1016/j.jocn.2008.05.030.
- [12] SASMITA A O, WONG Y P, LING A P K. Biomarkers and therapeutic advances in glioblastoma multiforme[J]. *Asia Pac J Clin Oncol*, 2018, 14(1): 40-51. DOI:10.1111/ajco.12756.
- [13] LINDNER K, EICHELMANN A, MATUSZCAK C, et al. Complex epigenetic regulation of chemotherapy resistance and biology in esophageal squamous cell carcinoma via microRNAs[J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(2): 499. DOI:10.3390/ijms19020499.
- [14] STIUSO P, POTENZA N, LOMBARDI A, et al. MicroRNA-423-5p promotes autophagy in cancer cells and is increased in serum from hepatocarcinoma patients treated with sorafenib[J/OL]. *Mol Ther Nucleic Acids*, 2015, 4: e233[2020-04-08]. <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2158>. DOI:10.1038/mtna.2015.8.
- [15] XU C H, XIAO L M, ZENG E M, et al. MicroRNA-181 inhibits the proliferation, drug sensitivity and invasion of human glioma cells by targeting selenoprotein K (SELK)[J/OL]. *Am J Transl Res*, 2019, 11(10): 6632-6640[2020-04-08]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6834513/>.
- [16] WANG H Q, REN S X, XU Y M, et al. MicroRNA-195 reverses the resistance to temozolomide through targeting cyclin E1 in glioma cells[J/OL]. *Anticancer Drugs*, 2019, 30(1): 81-88[2020-04-08]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6287895/>. DOI: 10.1097/CAD.0000000000000700.
- [17] LI S, ZENG A, HU Q, YAN W, et al. MiR-423-5p contributes to a malignant phenotype and temozolomide chemoresistance in glioblastomas[J]. *Neuro Oncol*, 2017, 19(1): 55-56. DOI:10.1093/neuro-onc/now129.
- [18] FU D, CHENG Y, HE H, et al. Recombinant human PDCD5 exhibits an antitumor role in hepatocellular carcinoma cells via clathrin-dependent endocytosis[J]. *Mol Med Rep*, 2015, 12(6): 8135-8140. DOI:10.3892/mmr.2015.4489.
- [19] ZHANG X, WANG X, SONG X, et al. Clinical and prognostic significance of lost or decreased PDCD5 expression in human epithelial ovarian carcinomas[J]. *Oncol Rep*. 2011, 25(2): 353-358. DOI:10.3892/or.2010.1103.
- [20] 谭万龙, 熊林, 郑少斌, 等. 肾透明细胞癌 PDCD5 表达及预后的关系[J]. *南方医科大学学报*, 2006, 26(9): 1316-1318. DOI:10.3321/j.issn:1673-4254.2006.09.025.
- [21] LI H Y, ZHANG X, SONG X G, et al. PDCD5 promotes cisplatin-induced apoptosis of glioma cells via activating mitochondrial apoptotic pathway[J]. *Cancer Biol Ther*, 2012, 13(9): 822-830. DOI: 10.4161/cbt.20565.
- [22] 王雷, 沈维高, 刘艳波, 等. 过表达程序性细胞死亡基因 5 提高神经胶质瘤细胞对替莫唑胺的化疗敏感性[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2019, 26(8): 868-875. DOI:10.3872/j.issn.1007-385x.2019.08.007.

[收稿日期] 2020-05-09

[修回日期] 2020-08-25

[本文编辑] 党瑞山