

miR-200c-3p 靶向 XIAP 调控缺氧复氧诱导的心肌细胞凋亡

厉广洲¹, 徐继蕊², 张丽丽²

(1. 日照心脏病医院心血管内科, 山东省日照市 276800; 2. 枣庄矿业集团枣庄医院心血管内科, 山东省枣庄市 277100)

[关键词] miR-200c-3p; XIAP; 心肌细胞; 凋亡; 缺氧复氧

[摘要] **目的** 探讨 miR-200c-3p 对缺氧复氧心肌细胞凋亡的影响及作用机制。**方法** 构建缺氧复氧(H/R) H9c2 细胞。运用实时荧光定量反转录聚合酶链反应(qRT-PCR)法检测细胞中 miR-200c-3p、X 连锁凋亡抑制蛋白(XIAP)信使核糖核酸(mRNA)的表达。将 H9c2 细胞分为 H/R+anti-miR-NC 组(转染 anti-miR-NC)、H/R+anti-miR-200c-3p 组(转染 anti-miR-200c-3p)、H/R+pcDNA 组(转染 pcDNA)、H/R+pcDNA-XIAP 组(转染 pcDNA-XIAP)、H/R+anti-miR-200c-3p+si-NC 组(共转染 anti-miR-200c-3p 和 si-NC)、H/R+anti-miR-200c-3p+si-XIAP 组(共转染 anti-miR-200c-3p 和 si-XIAP), 用脂质体法转染至 H9c2 细胞, 再进行缺氧复氧处理。免疫印迹(Western blot)、噻唑蓝(MTT)、流式细胞术检测细胞中 XIAP、半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶(Caspase-3)、裂解的半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶(cleaved Caspase-3)、B 细胞淋巴瘤/白血病 2 X 蛋白(Bax)、B 细胞淋巴瘤/白血病 2(Bcl-2)的表达、细胞增殖、细胞凋亡; 双荧光素酶报告基因检测实验检测细胞中 miR-200c-3p 与 XIAP 的结合力。**结果** 成功构建缺氧复氧 H9c2 细胞; 与正常培养的 H9c2 细胞比较, H/R 组 H9c2 细胞中 miR-200c-3p 表达明显上调, XIAP 表达明显下调; 抑制 miR-200c-3p、过表达 XIAP 均可抑制 H/R H9c2 细胞的凋亡, 下调 cleaved Caspase-3、Bax, 上调 Bcl-2; miR-200c-3p 可显著抑制 XIAP 3'UTR 野生型报告基因活性, 并负向调控 XIAP 的表达; 敲减 XIAP 可逆转抑制 miR-200c-3p 对 H/R H9c2 细胞的凋亡抑制作用。**结论** miR-200c-3p 可诱导缺氧复氧心肌细胞的凋亡, 其机制与靶向 XIAP 有关, 可为心血管疾病的治疗提供新靶点。

[中图分类号] R542.2

[文献标识码] A

miR-200c-3p regulating the injury of hypoxia/reoxygenation myocardial cell by targeting XIAP

LI Guangzhou¹, XU Jirui², ZHANG Lili²

(1. Department of Cardiovascular Medicine, Rizhao Cardiology Hospital, Rizhao, Shandong 277100, China; 2. Department of Cardiovascular Medicine, Zaozhuang Hospital of Zaozhuang Mining Group, Zaozhuang, Shandong 277100, China)

[KEY WORDS] miR-200c-3p; XIAP; cardiomyocytes; apoptosis; hypoxia/reoxygenation

[ABSTRACT] **Aim** To investigate the effect of miR-200c-3p on apoptosis of cardiomyocytes with hypoxia/reoxygenation and its mechanism. **Methods** H9c2 cells hypoxia/reoxygenation (H/R) model was constructed by treatment in hypoxia/reoxygenation incubator for 12 hours. The expression levels of miR-200c-3p and X-linked inhibitor of apoptosis protein(XIAP) mRNA were detected by Real-time fluorescent quantitative reverse transcription polymerase chain reaction (qRT-PCR). H/R+anti-miR-NC group (transfected with anti-miR-NC), H/R+anti-miR-200c-3p group (transfected with anti-miR-200c-3p), H/R+pcDNA group (transfected with pcDNA), H/R+pcDNA-XIAP group (transfected with pcDNA-XIAP), H/R+anti-miR-200c-3p+si-NC group (co-transfected with anti-miR-200c-3p and si-NC), H/R+anti-miR-200c-3p+si-XIAP group (co-transfected with anti-miR-200c-3p and si-XIAP) were transfected into H9c2 cells by liposome method and subjected to hypoxia-reoxygenation treatment. Western blotting(western blot), methyl thiazolyl tetrazolium (MTT) and flow cytometry were used to detect the expression of XIAP, Cysteine aspartic protease(Caspase-3), cleaved Caspase-3, B cell lymphoma/leukemia-2 X protein(Bax) and B cell lymphoma/leukemia-2(Bcl-2), cell proliferation and apoptosis respectively. The dual luciferase reporter gene assay was used to detect the binding of miR-200c-3p to XIAP in cells. **Results** Hypoxia-reoxygenation H9c2 cells were successfully constructed. Compared with the control group, the expression of miR-200c-3p was up-regulated, and the expression of XIAP was down-regulated in H9c2 cells with

H/R. The inhibition of miR-200c-3p and overexpression of XIAP inhibited cell apoptosis, down-regulation of cleaved Caspase-3, Bax, up-regulation of Bcl-2 in H/R H9c2 cells; miR-200c-3p inhibits the fluorescence activity of wild-type XIAP cells and negatively regulates the expression of XIAP; Knockdown XIAP could reverse the inhibition of miR-200c-3p on the apoptosis of H/R H9c2 cells.

Conclusion miR-200c-3p can promote the apoptosis of cardiomyocytes with hypoxia-reoxygenation treatment, and its intracellular mechanism is related to the regulation of XIAP, which will provide a new target for the treatment of ischemic myocardial injury.

X 染色体连锁的凋亡抑制蛋白 (x-linked inhibitor of apoptosis, XIAP) 是抗凋亡 (inhibitor of apoptosis protein, IAP) 家族的重要成员之一, 对 Caspase-3、Caspase-7、Caspase-9 均有较强的抑制作用, 也能抑制 pro-Caspase-3, 其可影响信号通路, 如 c-Jun 末端激酶, 它被认为在凋亡调控中发挥关键作用^[1-2]。微 RNA (microRNA, miRNA) 是由 22 个左右核苷酸组成的单链小分子 RNA, 由细胞内源发卡结构的转录本产生。miRNA 与 RNA 诱导沉默复合体 (RNA-induced silencing complex, RISC) 结合后, 通过其 5' 端第 2~8 位的核苷酸识别靶基因的 3' 非翻译区 (untranslated region, UTR) 部分, 携带着 RISC 发挥转录抑制和信使核糖核酸 (messenger RNA, mRNA) 的切割或降解, 还可在转录起始阶段抑制翻译的开始或在翻译延伸阶段阻滞核糖体进而阻断翻译过程^[3-4]。miR-200c-3p 属于 miR-200 家族成员, 该家族在细胞的存活、可塑性及神经发育中均具有重要作用^[5]。有研究报道 miR-200 在心肌细胞、内皮细胞或白细胞中具有不同的环境依赖性, 其可作为糖尿病合并缺血再灌注损伤的药物靶点^[6]。miR-200c-3p 在缺氧复氧引起的心肌细胞损伤中是否具有保护作用尚未可知。本研究旨在探讨 miR-200c-3p 在心肌细胞凋亡中的作用及其调控是否与 XIAP 信号有关。

1 材料和方法

1.1 材料

大鼠心肌细胞 H9c2 购自中国科学院上海生命科学研究院细胞库; 杜氏细胞培养基 (DMEM) 购自上海生工公司; 胎牛血清购自南京森贝伽生物科技有限公司; 噻唑蓝 (methyl thiazolyl tetrazolium, MTT) 购自上海克拉玛尔公司; 胰蛋白酶购自美国 Selleck 公司; LipofectamineTM2000 购自北京宜科思源科技有限公司; 二喹啉甲酸 (bicinchoninic acid disodium, BCA) 蛋白定量试剂盒购自北京艾然生物科技有限公司; 反转录试剂盒购自大连 Takara 公司; 聚偏二氟乙烯 (polyvinylidene fluoride, PVDF) 膜购自碧云

天生物科技有限公司; 膜联蛋白异硫氰酸荧光素/碘化丙啶 (AnnexinV/PI) 凋亡检测试剂盒购自 BestBio-贝博生物。

1.2 细胞培养

用 DMEM 培养液 (含 10% 胎牛血清) 培养大鼠心肌细胞 H9c2, 条件为 37 °C、5% CO₂ 恒温细胞培养箱中培养、传代。

1.3 细胞转染与分组

把正常培养的 H9c2 细胞标记为对照组, 将其用含 10% 胎牛血清的 DMEM 培养液, 置于恒温培养箱中进行培养。待细胞呈正常增殖状态时, 将含有胎牛血清的 DMEM 培养液更换为低氧缓冲液 (1.39 × 10⁻¹ mol/L NaCl, 4.7 × 10⁻³ mol/L KCl, 0.5 × 10⁻³ mol/L MgCl₂, 1.0 × 10⁻³ mol/L CaCl₂, 5.0 × 10⁻³ mol/L HEPES, 2.0 × 10⁻² mol/L CH₃CHOHCOONa), 并放置于缺氧复氧 (95% N₂、5% CO₂) 培养箱进行缺氧培养 12 h, 然后去掉培养液, 重新加入含有胎牛血清的 DMEM 培养基, 放置于 37 °C、20% O₂、5% CO₂ 培养 4 h, 即 H/R 心肌细胞模型, 标记为 H/R 组。运用 LipofectamineTM2000 脂质体试剂盒将 anti-miR-NC、anti-miR-200c-3p、pcDNA、pcDNA-XIAP、anti-miR-200c-3p + si-NC、anti-miR-200c-3p + si-XIAP 转染至 H9c2 细胞, 转染 6 h 后, 更换新鲜培养液继续培养 24 h, 然后进行上述缺氧复氧处理, 分别标记为 H/R + anti-miR-NC 组、H/R + anti-miR-200c-3p 组、H/R + pcDNA 组、H/R + pcDNA-XIAP 组、H/R + anti-miR-200c-3p + si-NC 组、H/R + anti-miR-200c-3p + si-XIAP 组, 用于后续试验。

1.4 实时荧光定量反转录聚合酶链反应 (qRT-PCR)

收集需要检测的细胞, 用 Trizol 液提取 RNA, 通过反转录试剂盒将 RNA 合成 cDNA, -20 °C 保存待用。将其作为 qRT-PCR 反应的模板, 以磷酸甘油醛脱氢酶 (phosphoglyceraldehyde dehydrogenase, GAPDH)、U6 作为内参, 计算 2^{-ΔΔCt} 的值, 测定 miR-200c-3p、XIAP 的相对表达量。引物信息 miR-200c-3p 上游引物 5'-UAA UAC UGC CGG GUA AUG AUG CA-3', 下游引物 5'-CTC AAC TGG TGT CGT GGA

GTC GGC AAT TCA GTT GAG TCC ATC AT-3'; XIAP 上游引物 5'-AGT GGT AGT CCT GTT TCA GCA TCA-3', 下游引物 5'-CCG CAC GGT ATC TCC TTC A-3'; GAPDH 上游引物 5'-TGT TGC CAT CAA TGA CCC CTT-3', 下游引物 5'-CTC CAC GAC GTA CTC AGC G-3'; U6 上游引物 5'-CTC GCT TCG GCA GCA CA-3', 下游引物 5'-AAC GCT TCA CGA ATT TGC GT-3'。

1.5 Western blot 实验

收集需要检测的对数生长期细胞,用裂解液在冰上进行充分的裂解。然后通过沸水浴法将蛋白进行变性处理,取上清进行蛋白电泳上样。电泳时,先进行稳流电泳再进行稳压电泳,结束后小心将蛋白胶转移到转膜仪中,用转膜仪将胶上的蛋白转移到 PVDF 膜上,转膜结束后用 5% 脱脂奶粉封闭 2 h,加入 500~1 500 倍稀释的相应 I 抗溶液中,4 °C 过夜。第 2 天加 1 000 倍稀释过的 II 抗溶液中,37 °C 反应 2 h。最后用电化学发光液进行显影。通过图像分析软件 Image J 分析灰度值,以目的条带灰度值与内参 GAPDH 灰度值之比表示蛋白的表达。

1.6 MTT 实验

收集需要检测的细胞,取 10^5 个细胞接种入 96 孔板中,加入 MTT 溶液 (20 μ L) 培养 4 h,再加入 150 μ L DMSO,在 490 nm 吸光值下检测细胞吸光度。

1.7 Annexin VFITC/PI 双染检测细胞凋亡

将需要检测的细胞用 500 μ L 结合缓冲液进行悬浮,再按照 Annexin VFITC/PI 试剂盒要求加入 Annexin VFITC 和 PI,反应 20 min,置于仪器上检测分析细胞凋亡结果。

1.8 双荧光素酶报告基因检测实验

将 XIAP-WT 和 XIAP-MUT 克隆至载体 psi-CHECK2 中,构建荧光素酶报告载体,将其用脂质体分别与 miR-200c-3p、miR-NC 共转染,转染 24 h 后,按双荧光素酶报告基因检测试剂盒要求操作,用萤火虫荧光素酶活性与海肾荧光素酶活性的比值表示细胞的荧光强度。

1.9 统计学处理

采用 Graph Pad Prism 7.0 对试验数据进行分析。计量资料用 ($\bar{x} \pm s$) 表示,多组间比较使用单因素方差分析+SNK-*q* 检验,两组比较用 *t* 检验,以 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 H9c2 细胞缺氧复氧后 miR-200c-3p、XIAP 的表达

如图 1 所示,与对照组比较,H/R 组细胞中 miR-200c-3p 的表达显著升高,XIAP mRNA 和蛋白表达均显著降低 ($P < 0.05$)。

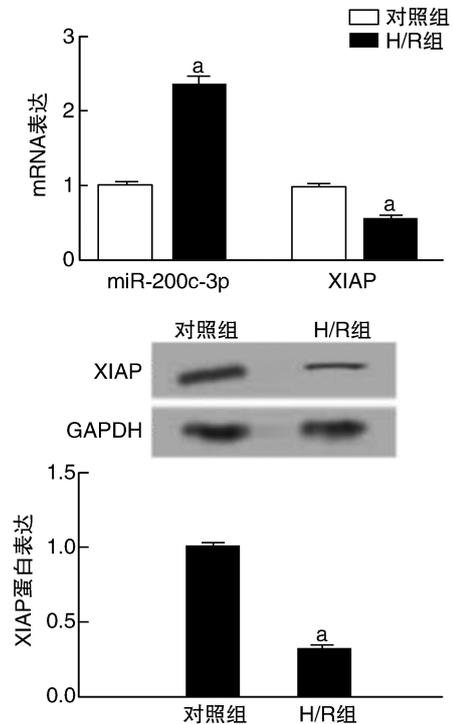


图 1. miR-200c-3p 和 XIAP 在缺氧复氧心肌细胞中的表达 a 为 $P < 0.05$,与对照组比较。

Figure 1. Expression of miR-200c-3p and XIAP in hypoxia/reoxygenation cardiomyocytes

2.2 抑制 miR-200c-3p 对缺氧复氧心肌细胞凋亡的影响

与 H/R + anti-miR-NC 组比较,H/R + anti-miR-200c-3p 组细胞中 miR-200c-3p 表达显著降低 [(0.21 \pm 0.02) 比 (1.01 \pm 0.06), $P < 0.05$]; cleaved Caspase-3、Bax 蛋白表达明显降低,Bcl-2 蛋白表达明显上升 ($P < 0.05$,图 2A、B),细胞凋亡率显著降低 ($P < 0.05$,图 2C、D)。

2.3 miR-200c-3p 靶向调控 XIAP

生物信息学分析预测结果如图 3A 所示,miR-200c-3p 的 5'UTR 与 XIAP 的 3'UTR 之间存在 7 个互补的靶向结合序列。如图 3B 所示,与 miR-NC 组比较,miR-200c-3p 组 WT-XIAP 细胞荧光活性明显受到抑制 ($P < 0.05$);与 anti-miR-NC 组比较,anti-

miR-200c-3p 组细胞中 XIAP 的 mRNA 和蛋白表达均显著升高 ($P < 0.05$), 与 miR-NC 组比较, miR-

200c-3p 组细胞中 XIAP 的 mRNA 和蛋白表达均显著降低 ($P < 0.05$, 图 3C、D)。

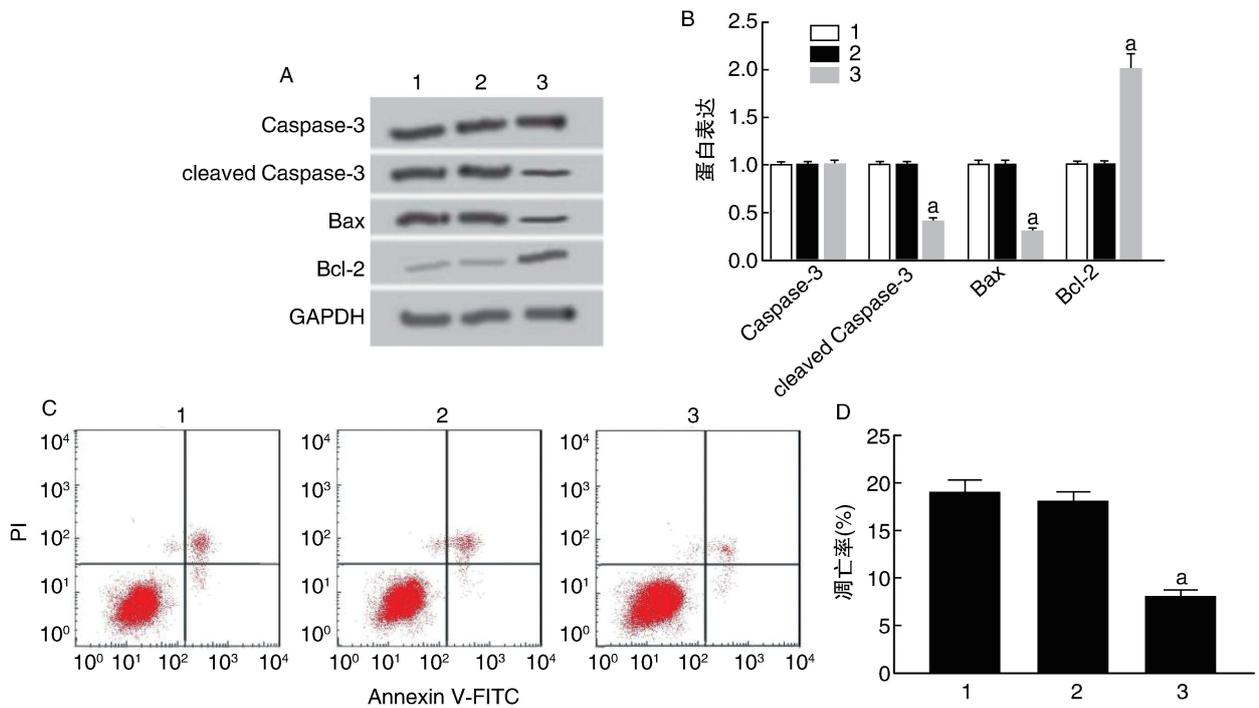


图 2. 抑制 miR-200c-3p 对缺氧复氧心肌细胞凋亡的影响 A 和 B 为凋亡相关蛋白的表达; C 和 D 为抑制 miR-200c-3p 的缺氧复氧心肌细胞凋亡。1 为 H/R 组, 2 为 H/R+anti-miR-NC 组, 3 为 H/R+anti-miR-200c-3p 组。a 为 $P < 0.05$, 与 H/R+anti-miR-NC 组比较。

Figure 2. Effect of miR-200c-3p inhibition on apoptosis of hypoxic/reoxygenated cardiomyocytes

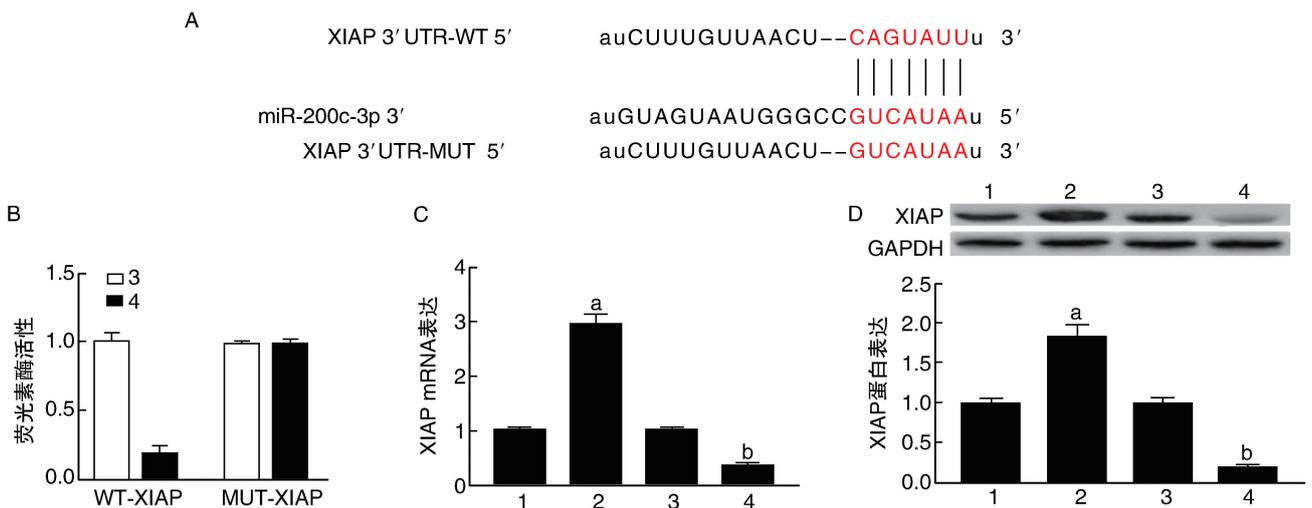


图 3. miR-200c-3p 靶向 XIAP A 为互补的结合位点; B 为双荧光素酶报告基因实验结果; C 为 miR-200c-3p 对 XIAP mRNA 表达的影响; D 为 miR-200c-3p 对 XIAP 蛋白表达的影响。1 为 anti-miR-NC 组, 2 为 anti-miR-200c-3p 组, 3 为 miR-NC 组, 4 为 miR-200c-3p 组。a 为 $P < 0.05$, 与 anti-miR-NC 组比较; b 为 $P < 0.05$, 与 miR-NC 组比较。

Figure 3. miR-200c-3p targeting XIAP

2.4 过表达 XIAP 对缺氧复氧心肌细胞凋亡的影响

如图 4 所示, 与 H/R+pcDNA 组比较, H/R+pcDNA-XIAP 组细胞中 XIAP mRNA 表达显著升高 [(2.46 ± 0.21) 比 (1.00 ± 0.06) , $P < 0.05$], cleaved Caspase-3、Bax 的蛋白表达明显受到下调 ($P <$

0.05), XIAP、Bcl-2 蛋白表达明显提升 ($P < 0.05$), 细胞凋亡率显著降低 ($P < 0.05$)。

2.5 敲减 XIAP 逆转了抑制 miR-200c-3p 对缺氧复氧心肌细胞的凋亡的影响

如图 5 所示, 与 H/R+anti-miR-200c-3p+si-NC

组比较, H/R+anti-miR-200c-3p+si-XIAP 组细胞中 miR-200c-3p 表达量显著升高 [(1.75 ± 0.12) 比 (0.98 ± 0.04), $P < 0.05$], cleaved Caspase-3、Bax 的

蛋白表达发生明显的上调 ($P < 0.05$), Bcl-2 蛋白表达受到明显抑制 ($P < 0.05$), 细胞凋亡率得到显著上升 ($P < 0.05$)。

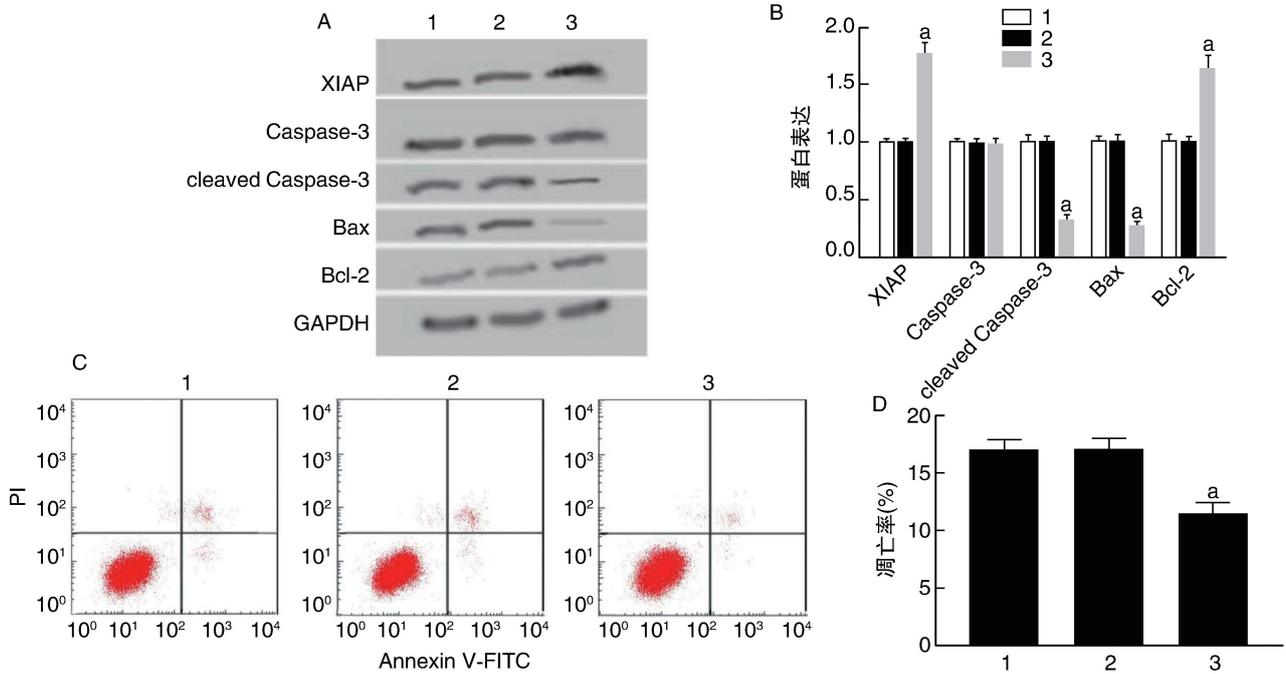


图 4. 过表达 XIAP 对缺氧复氧心肌细胞凋亡的影响 A 和 B 为蛋白表达; C 和 D 为过表达 XIAP 的缺氧复氧心肌细胞凋亡。1 为 H/R 组, 2 为 H/R+pcDNA 组, 3 为 H/R+pcDNA-XIAP 组。a 为 $P < 0.05$, 与 H/R+pcDNA 组比较。

Figure 4. Effect of overexpression of XIAP on apoptosis of hypoxic/reoxygenated cardiomyocytes

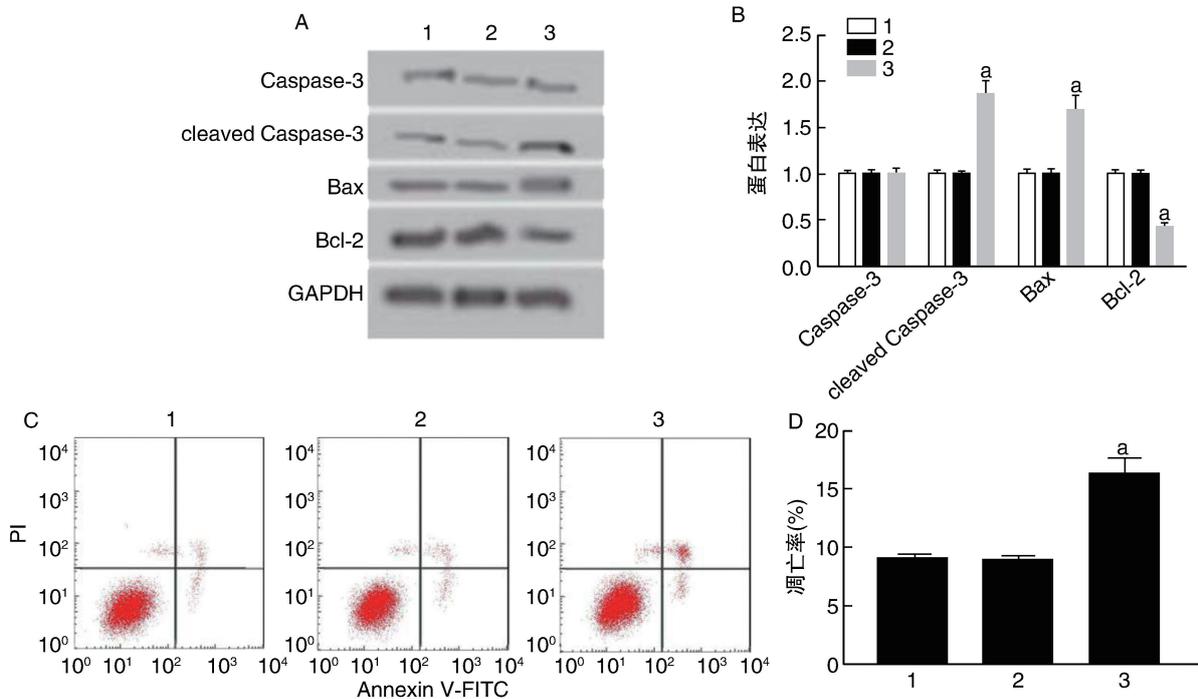


图 5. 敲减 XIAP 逆转了抑制 miR-200c-3p 对缺氧复氧心肌细胞凋亡的影响 A 和 B 为凋亡相关蛋白表达; C 和 D 为敲减 XIAP 的缺氧复氧心肌细胞凋亡。1 为 H/R+anti-miR-200c-3p 组, 2 为 anti-miR-200c-3p+si-NC 组, 3 为 anti-miR-200c-3p+si-XIAP 组。a 为 $P < 0.05$, 与 anti-miR-200c-3p+si-NC 组比较。

Figure 5. Knockdown XIAP reverses the effect of miR-200c-3p on apoptosis of hypoxic/reoxygenated cardiomyocytes

3 讨论

miRNA 在动植物的生长发育、神经系统疾病、代谢疾病及免疫系统疾病中均具有重要的调控作用^[7-8]。Wei 等^[9]研究报道, H/R 处理的心肌细胞可诱导细胞凋亡和 ROS 产生, 经过氢处理后, H/R 处理的心肌细胞凋亡率明显降低, ROS 的产生也明显减少, 奇怪的是, H/R 细胞中 miR-200 家族的表达显著升高, 氢给药可抑制 H/R 诱导的细胞中 miR-200 家族的表达, 提示抑制 miR-200 家族可通过减少 ROS 产生来抑制 H/R 引起的细胞凋亡。易朝晖等^[10]在缺血性脑卒的研究中报道, miR-200c-3p 在患者外周血中的表达明显升高, 对缺血性脑卒的诊断具有重要意义。本研究检测了 H/R H9c2 细胞中 miR-200c-3p 的表达发现, miR-200c-3p 的表达异常升高, 这个实验结果与 Wei 等^[9]实验结果相呼应, 这提示 miR-200c-3p 具有作为缺氧复氧心肌损伤的诊断标记物; 进一步研究发现, 抑制 miR-200c-3p 后, H/R 诱导的 H9c2 细胞凋亡受到明显抑制, 并且 cleaved Caspase-3、Bax 表达受到下调, Bcl-2 表达受到上调, 提示抑制 miR-200c-3p 可抑制 H/R 诱导的 H9c2 细胞凋亡作用与下调凋亡促进蛋白 cleaved Caspase-3、Bax 的表达, 上调凋亡抑制蛋白 Bcl-2 表达相关。通过生物信息学预测、双荧光素酶报告基因检测和 Western blot 实验发现, miR-200c-3p 能够直接靶向负调控 XIAP 的表达, 这提示 miR-200c-3p 的功能可能与 XIAP 相关, 这为 miR-200c-3p 在心肌炎调控网络中的探索提供参考。

细胞凋亡是心肌缺氧、缺血、再灌注损伤诱导的细胞死亡的最主要形式。XIAP 是机体内抑制细胞凋亡具有重要调控作用的基因之一, 其可通过抑制 Caspase-3、Caspase-7、Caspase-9、Caspase-12 的活化, 抑制细胞的凋亡^[11-12]。王可等^[13]、秦瑶等^[14]均有报道, XIAP 在缺血再灌注心肌大鼠中的表达明显降低, XIAP 的下调参与缺血再灌注诱导的心肌细胞凋亡。XIAP 在缺氧复氧心肌细胞中的调控机制仍有待深入探索。本研究发现, XIAP 在缺氧复氧心肌细胞中的表达显著降低, 过表达 XIAP 抑制了 H/R H9c2 细胞的凋亡水平, 敲减 XIAP 逆转了抑制 miR-200c-3p 对缺氧复氧心肌细胞的凋亡抑制作用, 这进一步说明了 miR-200c-3p 通过靶向 XIAP 来促进细胞凋亡。这为 miR-200c-3p 对冠心病的精准治疗提供依据。不足的是, miR-200c-3p 在缺氧复氧心肌细胞中的凋亡调控功能未曾在动物体内得到更充分地验证。

综上所述, miR-200c-3p 可促进缺氧复氧心肌细胞的凋亡, 抑制 miR-200c-3p 可减少缺氧复氧诱导的心肌细胞损伤, 这种作用的机制与 miR-200c-3p 靶向 XIAP 相关, 为心血管疾病的治疗提供新的靶标参考。

[参考文献]

- [1] Edison N, Curtz Y, Paland N, et al. Degradation of Bcl-2 by XIAP and ARTS promotes apoptosis[J]. *Cell Rep*, 2017, 21(2): 442-454.
- [2] Gu M, Liu D, Ni H, et al. Role of X-linked inhibitor of apoptosis (XIAP) in frozen and thawed dormant and normal-hatched murine blastocysts[J]. *Cryobiology*, 2018, 82(1): 112-117.
- [3] 赵战芝, 姜志胜. 我国动脉粥样硬化基础研究几个热点领域的新进展[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2019, 27(8): 645-654.
- [4] Bernardo BC, Ooi JY, Lin RC, et al. miRNA therapeutics: a new class of drugs with potential therapeutic applications in the heart [J]. *Future Med Chem*, 2015, 7(13): 1771-1792.
- [5] Vilming EB, Olstad OK, Haug KB, et al. Global miRNA expression analysis of serous and clear cell ovarian carcinomas identifies differentially expressed miRNAs including miR-200c-3p as a prognostic marker[J]. *BMC Cancer*, 2014, 14(2): 80-93.
- [6] Gu M, Liu D, Ni H, et al. Role of X-linked inhibitor of apoptosis (XIAP) in frozen and thawed dormant and normal-hatched murine blastocysts[J]. *Cryobiology*, 2018, 82(1): 112-117.
- [7] Backes C, Meese E, Keller A. Specific miRNA disease biomarkers in blood, serum and plasma: challenges and prospects[J]. *Mol Diagn Ther*, 2016, 20(6): 509-518.
- [8] Ratnadiwakara M, Mohenska M, Änkö ML. Splicing factors as regulators of miRNA biogenesis-links to human disease[J]. *Semin Cell Dev Biol*, 2018, 79(1): 113-122.
- [9] Wei R, Zhang R, Xie Y, et al. Hydrogen suppresses hypoxia/reoxygenation-induced cell death in hippocampal neurons through reducing oxidative stress [J]. *Cell Phys Bio*, 2015, 36(2): 585-598.
- [10] 易朝晖, 黄素丽, 张艳炜, 等. 外周血 miR-200c-3p、miR-99b-5p 和 miR-150-5p 作为缺血性脑卒中生物标记物的研究 [J]. *中华神经医学杂志*, 2015, 14(6): 597-603.
- [11] Zumbärgel FK, Machtens DA, Curth U, et al. Survivin does not influence the anti-apoptotic action of XIAP on Caspase-9[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2017, 482(4): 530-535.
- [12] Liu Y, Zhou ZG, Zhou B, et al. Downregulation of GRP78 and XIAP is correlated with apoptosis during cerulein-induced acute pancreatitis in rats via regulation of Caspase activation[J]. *Mol Med Rep*, 2013, 7(3): 725-730.
- [13] 王可, 刘静祎, 田珏, 等. 成年大鼠心肌缺血再灌注后 X 染色体连锁凋亡抑制蛋白的动态表达变化[J]. *中国心血管病研究*, 2010, 8(5): 376-379.
- [14] 秦瑶, 郑洪, 杨永福, 等. 凋亡调控因子 XIAP 对缺氧诱导大鼠心肌细胞凋亡的影响[J]. *遵义医学院学报*, 2011, 34(5): 477-479.

(此文编辑 朱雯霞)