

[文章编号] 1000-4718(2019)07-1310-06

miR-23b-3p 靶向 XIAP 调控类风湿关节炎滑膜成纤维细胞增殖和凋亡的机制研究*

蔡松涛, 孙京涛, 魏 瑄[△]
(郑州市骨科医院关节病二科, 河南 郑州 450052)

[摘要] 目的: 探讨微小 RNA-23b-3p(miR-23b-3p)靶向 X 连锁凋亡抑制蛋白(XIAP)对类风湿关节炎滑膜成纤维细胞增殖和凋亡的影响及其作用机制。方法: 应用 RT-qPCR 检测体外培养的 RA 滑膜成纤维细胞中 miR-23b-3p 和 XIAP 的表达水平。通过 TargetScan 预测分析 miR-23b-3p 与 XIAP 的靶向关系, 并使用双萤光素酶报告基因实验进行验证。采用脂质体法将 miR-23b-3p 模拟物和抑制物转入细胞中, RT-qPCR 法检测 miR-23b-3p 和 XIAP 表达水平的变化; CCK-8 法和细胞流式术分别检测 miR-23b-3p 对细胞活力和细胞凋亡的影响; Western blot 检测 Ki67 和 Bcl-2 蛋白表达量的变化。结果: 类风湿关节炎滑膜成纤维细胞中 miR-23b-3p 表达显著下调, XIAP 表达显著上调($P < 0.05$)。转染 miR-23b-3p 模拟物促使 XIAP 表达显著下调($P < 0.05$), 并且显著抑制细胞活力, 促进细胞凋亡($P < 0.05$), 同时 Ki67 和 Bcl-2 显著下调($P < 0.05$); 转染 miR-23b-3p 抑制物的效果与之相反。结论: miR-23b-3p 通过靶向 XIAP 抑制类风湿关节炎滑膜成纤维细胞增殖, 促进其凋亡。

[关键词] 微小 RNA-23b-3p; X 连锁凋亡抑制蛋白; 类风湿关节炎; 细胞活力; 细胞凋亡

[中图分类号] R593.22; R363.2 [文献标志码] A doi:10.3969/j.issn.1000-4718.2019.07.025

Effect of miR-23b-3p on viability and apoptosis of rheumatoid arthritis synovial fibroblasts by targeting XIAP

CAI Song-tao, SUN Jing-tao, WEI Xuan

(Department of Arthropathy, Zhengzhou Orthopaedic Hospital, Zhengzhou 450052, China. E-mail: 13598802880@163.com)

[ABSTRACT] AIM: To investigate the effect of microRNA-23b-3p (miR-23b-3p) on the viability and apoptosis of rheumatoid arthritis synovial fibroblasts by targeting X-linked inhibitor of apoptosis protein (XIAP). METHODS: The expression of miR-23b-3p and XIAP was detected by RT-qPCR. The TargetScan was used to predict the targeting regulatory relation between miR-23b-3p and XIAP, and then the regulatory relation was confirmed by dual-luciferase reporter assay. After the miR-23b-3p mimic and inhibitor were transfected into the cells, the expression of miR-23b-3p and XIAP was detected by RT-qPCR. The effect of miR-23b-3p on the viability and apoptosis was measured by CCK-8 assay and flow cytometry. The protein expression levels of Ki67 and Bcl-2 were determined by Western blot. RESULTS: The expression level of miR-23b-3p was down-regulated significantly ($P < 0.05$), and XIAP was up-regulated significantly in rheumatoid arthritis synovial fibroblasts ($P < 0.05$). The miR-23b-3p mimic significantly inhibited XIAP expression and the cell viability, promoted the apoptosis, and down-regulated the expression of Ki67 and Bcl-2 ($P < 0.05$). The effects of miR-23b-3p inhibitor were the opposite. CONCLUSION: miR-23b-3p inhibits the viability and promotes apoptosis of rheumatoid arthritis synovial fibroblasts by targeting XIAP.

[KEY WORDS] MicroRNA-23b-3p; X-linked inhibitor of apoptosis protein; Rheumatoid arthritis; Cell viability; Apoptosis

类风湿关节炎(rheumatoid arthritis, RA)是一种病,患者关节处滑膜细胞出现异常增殖,这种与肿瘤由于自身免疫调节功能紊乱而造成的慢性关节疾病,细胞类似的侵蚀性生长会对软骨组织造成极为的严

[收稿日期] 2018-07-16 [修回日期] 2019-01-04

* [基金项目] 河南省科技攻关项目(No. 182102310183)

△通讯作者 Tel: 0371-67771658; E-mail: 13598802880@163.com

重破坏,进而导致患者关节疼痛、畸形以及关节的活动受到限制^[1-2]。总体来说,RA 受外界环境和个体体质以及生活习惯的影响,然而 RA 的具体发病机制尚不清楚。

微小 RNA (microRNA, miRNA) 是一类长度约为 22 nt,广泛存在于真核生物中保守的非编码 RNA,可特异性作用于下游靶基因的 3'-UTR 区,降解下游靶基因的 mRNA 或者阻止靶基因的蛋白翻译过程,从而发挥对靶基因的负调节机制。研究表明,miRNA 可将信号通路中的关键蛋白作为开关,通过调控靶基因的活性来影响信号通路的传递,从而影响细胞增殖代谢进程^[3-4]。miRNA 表达水平的异常往往与自身免疫性疾病相关联,在 RA 患者中多种 miRNA 表达存在异常,miR-155、miR-499 和 miR-146a 等显著上调^[5-6],而 miR-22、miR-124a、miR-23b 和 miR-34a 等显著下调^[7-10]。由此可见,miRNA 在 RA 的病变过程中发挥着重要作用。通过 TargetScan 分析可知,RA 滑膜成纤维细胞中低表达的 miR-23b-3p 与 X 连锁凋亡抑制蛋白 (X-linked inhibitor of apoptosis protein, XIAP) 具有靶向关系,本研究将设计实验验证 miR-23b-3p 对 XIAP 的靶向关系并探究其可能的具体调控机制,以期对 RA 新的靶点治疗提供参考资料。

材 料 和 方 法

1 实验材料

人正常关节滑膜成纤维细胞及类风湿关节炎滑膜成纤维细胞购自上海赛百慷公司。胎牛血清、DMEM 高糖培养液和胰蛋白酶 I 购自 Gibco; 抗 GAPDH、Ki67 和 Bcl-2 抗体以及 II 抗购自 Cell Signaling Technology; 双萤光素酶报告基因试剂盒购自 Biotium; miR-23b-3p 模拟物和抑制物购自上海吉玛公司; TRIzol、反转录试剂盒和 Lipofectamine 2000 试剂盒购自 Introvigen; PowerUp™ SYBR™ Green Master Mix 购自 Thermo; 合成其余分子试剂购于上海生工生物工程公司; 流式细胞仪购自 Bio-Rad; 实时荧光定量 PCR 仪购自 Roche; 引物由北京华大基因公司提供。

2 方法

2.1 细胞的培养 从液氮中取出细胞置于 37 °C 水浴锅中,待其融化后转入含有 DMEM 培养液的离心管中,1 500 × g 离心 5 min 后去除上清,少量培养液重悬后转入含有 10% 胎牛血清的 DMEM 培养液中,于 37 °C、5% CO₂ 和 95% 相对湿度条件下静置培养。

2.2 双萤光素酶报告基因实验 设计并合成含有 miR-23b-3p 结合位点的 XIAP 3'-UTR 正常片段及其突变体,将其插入 pMIR-REPORT 载体的报告基因下游区域,获得含有 XIAP 的 WT-3'-UTR 和 Mut-3'-UTR 的重组质粒。使用 Lipofectamine 2000 将 miR-23b-3p 模拟物与 XIAP 的 WT-3'-UTR 或 Mut-3'-UTR 重组质粒共转染,48 h 后使用双萤光素酶报告基因试剂盒检测萤光素酶相对活性,具体参照说明书。

2.3 细胞的转染 取状态良好的对数生长期细胞,按照 5 × 10⁴ 浓度接种于无菌细胞培养板中,待细胞的融合度生长至 75% ~ 85%,使用 0.5% 胰蛋白酶消化后,按照 Lipofectamine 2000 说明书分别将 miR-23b-3p 模拟物、miR-23b-3p 抑制物和 miRNA 对照 (negative control, NC) 组转染至细胞中。

2.4 RT-qPCR 分析 miR-23b-3p 和 XIAP mRNA 的表达水平 取转染 48 h 后的 3 组细胞常规培养,当细胞覆盖率 80% 时,收集细胞,使用 TRIzol 提取细胞中的 RNA,电泳检测质量,反转录为 cDNA,具体操作参考说明书。实验以 U6 和 GAPDH 为内参照,计算公式为 2^{-ΔΔCt},每组 3 个重复。U6 的上游引物序列为 5'-CTCGCTTCGGCAGCAC-3',下游引物引物序列为 5'-AACGCTTCACGAATTTGCGT-3'; miR-23b-3p 的上游引物序列为 5'-CGCATCACATTGCCAGGG-3',下游引物序列为 5'-GTGCAGGGTCCGAGGT-3'。GAPDH 上游引物为 5'-GAAGGTCGGAGTCAACGG-3',下游引物 5'-GGAAGATGGTGATGGGATT-3'; XIAP 上游引物 5'-AATTGGGAACCTTGTGATCG-3',下游引物为 5'-AGAAAGTGTGCGCTGTGTT-3'。反应体系为 20 μL,具体参考说明书。

2.5 CCK-8 检测细胞的活力 调整转染成功的 3 组细胞浓度为 2 × 10⁵ /L,每孔 100 μL 接种至 96 孔板中,在 37 °C 条件下继续培养 24、48、72 和 96 h 后,避光添加 100 μL CCK-8 溶液,使用酶标仪检测 A₄₅₀ 值,绘制细胞活力随时间变化的曲线,每组 3 个重复。

2.6 流式细胞术检测细胞凋亡 离心收集成功转染 miR-23b-3p 模拟物、抑制物和对照 miRNA 的 3 组细胞,PBS 缓冲液重悬细胞后,避光条件下加入含有 propidium iodide (PI) 和 Annexin V-FITC 的溶液,孵育 20 min,使用流式细胞仪检测细胞凋亡情况,每组 3 个重复。

2.7 Western blot 分析 收集成功转染 3 组细胞,RIPA 裂解提取细胞内总蛋白,离心收集上清液,BCA

法进行蛋白定量。每组细胞取 60 μg 蛋白做 SDS-PAGE,结束后转移蛋白至 PVDF 膜上。之后,使用 BCA 低温封闭过夜,TBST 洗膜 5 次,加入 I 抗摇晃孵育 2 h,TBST 再次洗膜 5 次,加入 II 抗摇晃孵育 1 h,TBST 最后洗膜 5 次。将膜取出在暗室中进行曝光成像,并对表达量进行分析。

3 统计学分析

数据分析采用 SPSS 20.0 软件,计量结果采用均数 ± 标准差 (mean ± SD) 表示,两组和多组间比较分别采用 *t* 检验和单因素方差分析,组间多重比较采用 SNK-*q* 检验,以 *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

结 果

1 miR-23b-3p 和 XIAP mRNA 的表达水平

RT-qPCR 结果显示,正常滑膜成纤维细胞和类风湿关节炎滑膜成纤维细胞的 miR-23b-3p 相对表达水平分别为 1.00 ± 0.03 和 0.42 ± 0.05, XIAP mRNA 的相对表达水平分别为 1.00 ± 0.05 和 1.56 ± 0.11。与正常关节滑膜成纤维细胞相比,类风湿关节炎滑膜成纤维细胞中的 miR-23b-3p 表达显著下调 (*P* < 0.05), XIAP 的 mRNA 表达显著上调 (*P* < 0.05), 见图 1。

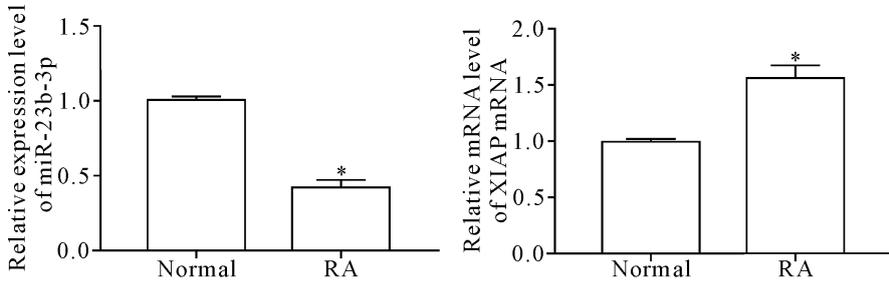


Figure 1. The expression level of miR-23b-3p and XIAP mRNA in rheumatoid arthritis synovial fibroblasts. Mean ± SD. *n* = 3. * *P* < 0.05 vs control group.

图 1 类风湿关节炎滑膜成纤维细胞中 miR-23b-3p 和 XIAP mRNA 表达水平

2 XIAP 是 miR-23b-3p 的潜在靶标

TargetScan 数据库预测结果显示, XIAP 的 3'-UTR 中含有与 miR-23b-3p 种子区互补序列, 见图 2A。双萤光素酶报告基因实验结果显示, 与 XIAP-3'-UTR-WT NC 组相比, miR-23b-3p 模拟物与 XIAP-

3'-UTR-WT 共转染使萤光素酶活性显著降低 (*P* < 0.05), 而 miR-23b-3p 模拟物与 XIAP-3'-UTR-Mut 共转染后萤光素酶的活性无显著变化 (*P* > 0.05), 见图 2B。

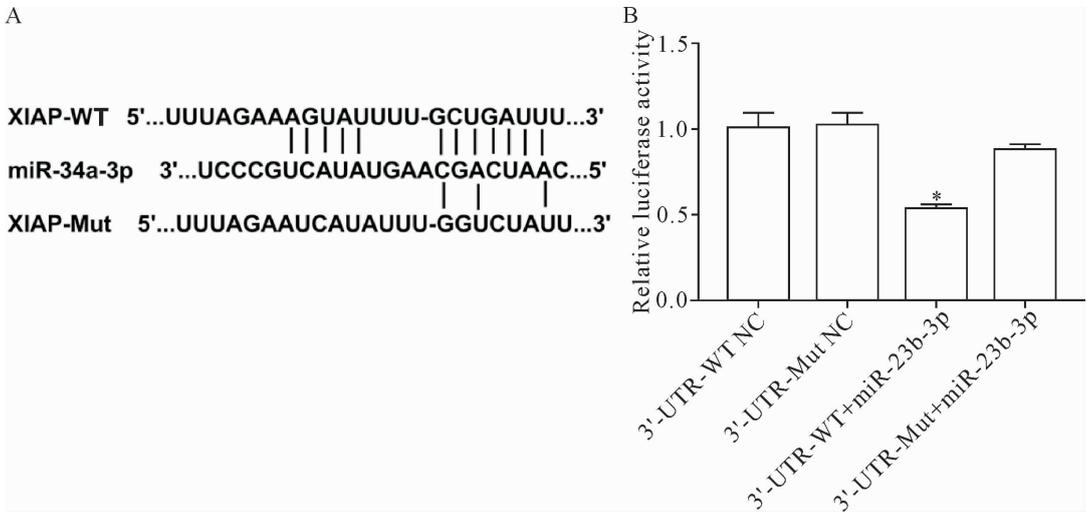


Figure 2. Verification of targeting relationship between miR-23b-3p and XIAP. A: the targeting relationship between miR-23b-3p and XIAP was predicted by TargetScan; B: dual-luciferase reporter assay was used to confirm the targeting relationship. Mean ± SD. *n* = 3. * *P* < 0.05 vs 3'-UTR-WT NC group.

图 2 miR-23b-3p 与 XIAP 靶向关系验证

3 miR-23b-3p 抑制 XIAP 的表达

与对照组相比, miR-23b-3p 模拟物显著提高 miR-23b-3p 表达水平, 减少 XIAP 表达水平; miR-23b-3p 抑制物则使 miR-23b-3p 表达下调, XIAP 表达上调, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$), 见图 3。

4 miR-23b-3p 对细胞活力具有抑制作用

CCK-8 法结果显示, 与对照组相比, miR-23b-3p

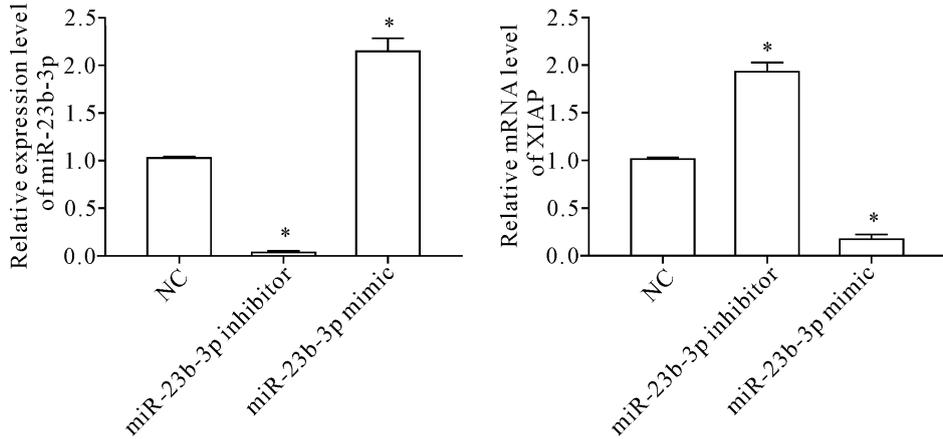


Figure 3. The expression of XIAP mRNA and miR-23b-3p detected by RT-qPCR. Mean \pm SD. $n = 3$. * $P < 0.05$ vs NC group.

图 3 miR-23b-3p 模拟物和抑制物对 miR-23b-3p 和 XIAP mRNA 表达水平的影响

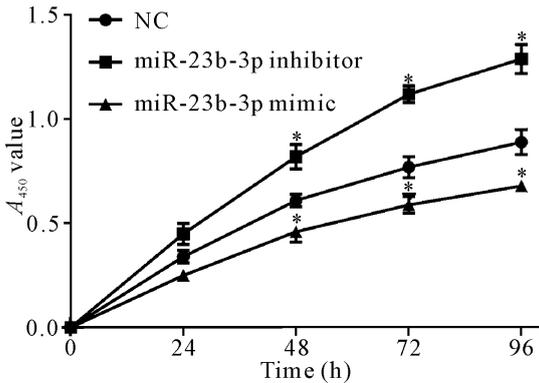


Figure 4. The effect of miR-23b-3p on the cell viability. Mean \pm SD. $n = 3$. * $P < 0.05$ vs NC group.

图 4 miR-23b-3p 对细胞活力的影响

模拟物对细胞的活力出现了抑制现象, miR-23b-3p 抑制物促进了细胞活力, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$), 见图 4。

5 miR-23b-3p 对细胞凋亡的影响

流式细胞术检测细胞凋亡结果显示, 与对照组相比, miR-23b-3p 抑制物组凋亡率显著减少, 而 miR-23b-3p 模拟物则促进了细胞的凋亡 ($P < 0.05$), 见图 5。

6 miR-23b-3p 对增殖和凋亡相关蛋白的影响

Western blot 检测 miR-23b-3p 抑制物组、模拟物和对照组胞内增殖相关蛋白 Ki67 以及凋亡相关蛋白 Bcl-2 表达量, 结果显示, 3 组细胞内的 Ki67 蛋白表达量分别为: miR-23b-3p 抑制物组 1.14 ± 0.20 , 对照组 0.81 ± 0.03 , miR-23b-3p 模拟物组 0.35 ± 0.02 ; Bcl-2 蛋白表达量分别为: miR-23b-3p 抑制物组 2.27 ± 0.20 , 对照组 1.02 ± 0.04 , miR-23b-3p 模拟物组 0.76 ± 0.04 , 整体比较差异均具有统计学意义 ($F_{Ki67} = 34.308$, $P_{Ki67} < 0.05$; $F_{Bcl-2} = 135.771$, $P_{Bcl-2} < 0.05$), 见图 6。

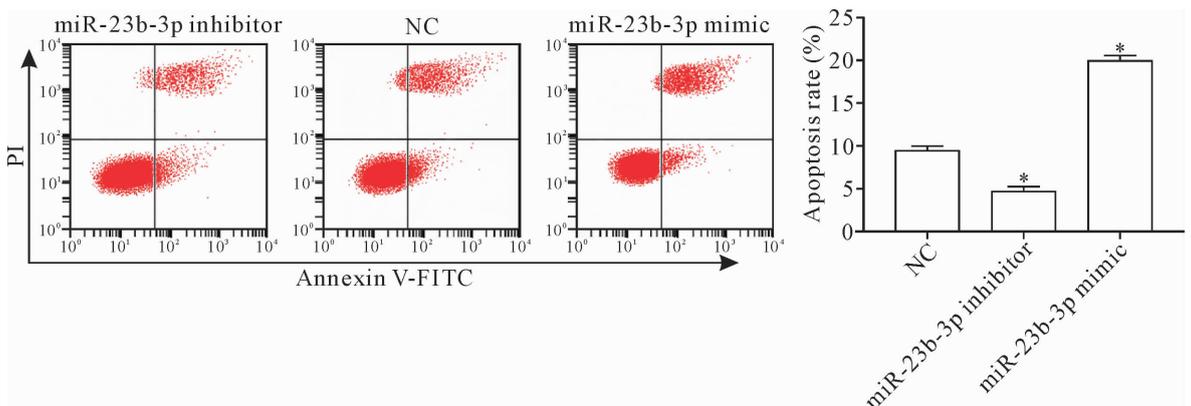


Figure 5. The effect of miR-23b-3p on apoptosis. Mean \pm SD. $n = 3$. * $P < 0.05$ vs NC group.

图 5 miR-23b-3p 对细胞凋亡的影响

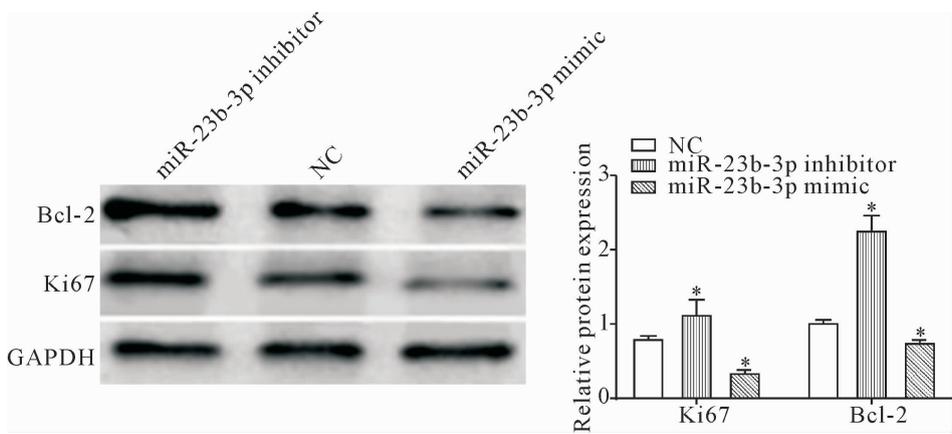


Figure 6. The protein expression levels of Ki67 and Bcl-2 were detected by Western blot. Mean \pm SD. $n = 3$. * $P < 0.05$ vs NC group.

图6 Western blot 检测 Ki67 和 Bcl-2 蛋白表达水平

讨 论

RA 是一种表现为滑膜细胞异常增殖的自身免疫性疾病,其滑膜细胞组织结构可增生至 8 层以上,远远大于正常滑膜组织的 1~2 层的细胞层,这种过度异常增殖的滑膜最终将向关节处的软骨组织侵袭性生长,导致关节畸形,造成关节活动受限^[11-12]。其中,在 RA 中起着重要作用的滑膜细胞即为类风湿关节炎滑膜成纤维细胞,在 RA 患者滑液中含有多种细胞促炎因子及抗凋亡因子,使滑膜组织细胞的增殖与凋亡速度失衡,从而出现异常增殖的现象^[13-15]。在 RA 出现多种 miRNA 上调或下调,包括显著上调的 miR-155,其被证实参与了细胞的多种炎症反应,能够抑制 MMP-3 来减缓组织炎症损伤和增强组织中 CD14⁺ 细胞的抗凋亡能力^[6,16-17];低表达的 miR-124a 与增殖相关蛋白 CDK2 以及 MCP-1 具有靶向关系,其下调表达促进了 RA 的发生进程^[9]。除此之外,miR-23b 是一种具有抗炎作用的保护性 miRNA,在 RA 滑膜成纤维细胞中表达同样显著下调,并且其介导的 TGF- β 、I κ B 激酶、TAB2 和细胞因子的表达受 IL-7 炎症因子的负调控^[10,18-19]。为探讨 miR-23b-3p 在 RA 的作用机制,本研究通过 RT-qPCR 检测 miR-23b-3p 在类风湿关节炎滑膜成纤维细胞的表达情况。结果显示,miR-23b-3p 在类风湿关节炎滑膜成纤维细胞中的表达水平是正常细胞的一半左右,显著下调表达,与文献^[10]报道一致。

XIAP 是 IAP 家族中的重要一员,可直接通过与 caspase 类蛋白作用而抑制其功能,是细胞中一种不可或缺的凋亡抑制因子^[20]。多种疾病均伴随着 XIAP 的失调表达,其中 XIAP 的丢失会增强细胞的敏感性,XIAP 上调表达能增强细胞的抗辐射能力并且可能与肿瘤有着重要联系^[21-24]。除此之外,有研究表明 XIAP 能够依赖自身的抗凋亡能力对细胞的自

噬途径产生重要影响^[25]。同时,XIAP 在肿瘤中受到多种 miRNA 的调控,与细胞的生物学活动有着重要联系^[21,26-28]。在本研究,TargeScan 软件分析显示,XIAP 的 3' UTR 含有 miR-23b-3p 种子互补区的保守序列,是 miR-23b-3p 的一个潜在靶基因。本研究将 miR-23b-3p 模拟物与 XIAP-3'-UTR-WT 共转染细胞后,萤光素酶活性显著降低,证实了两者之间的靶向关系。为进一步探讨两者之间的具体调控机制,将 miR-23b-3p 的模拟物和抑制物转染到细胞中,结果显示转染 miR-23b-3p 模拟物和抑制物后,XIAP mRNA 分别显著下调 5 倍和上调表达 2 倍左右,表明 XIAP 受 miR-23b-3p 的负向调控。此外,本研究表明转染 miR-23b-3p 能够抑制类风湿关节炎滑膜成纤维细胞的增殖并促进其发生凋亡,转染抑制物的效果与之相反。此时,细胞内增殖相关蛋白 Ki67 和抗凋亡相关蛋白 Bcl-2 与 miR-23b-3p 表达量负相关,上调 miR-23b-3p 促使 Ki67 和 Bcl-2 下调表达,敲低 miR-23b-3p 则促进促使 Ki67 和 Bcl-2 表达上调。以上结果表明,miR-23b-3p 可通过靶向 XIAP 抑制细胞增殖促进凋亡在类风湿关节炎中发挥保护作用。本研究虽探讨了 miR-23b-3p 对 XIAP 的调控机制,但是文献中提到的 miR-23b-3p 的抗炎作用和本研究证实的促凋亡保护机制之间的协同性仍需进一步研究。

综上所述,miR-23b 与 RA 有着紧密联系,可通过靶向 XIAP 抑制 RA 滑膜成纤维细胞增殖,促进其凋亡。

[参 考 文 献]

- [1] Eid AS, Nassar WA, Fayyad TA. Total knee replacement with tibial tubercle osteotomy in rheumatoid patients with stiff knee[J]. Int Orthop, 2016, 40(11):2289-2293.
- [2] LoVerde ZJ, Mandl LA, Johnson BK, et al. Rheumatoid

- arthritis does not increase risk of short-term adverse events after total knee arthroplasty: a retrospective case-control study[J]. *J Rheumatol*, 2015, 42(7):1123-1130.
- [3] Nikitina EG, Urazova LN, Stegny VN. MicroRNAs and human cancer[J]. *Exp Oncol*, 2012, 34(1):2-8.
- [4] Babashah S. MicroRNAs: key regulators of oncogenesis [M]. Cham: Springer, 2014.
- [5] Ayseldeen G, Nassar Y, Ahmed H, et al. Possible use of miRNAs-146a and -499 expression and their polymorphisms as diagnostic markers for rheumatoid arthritis[J]. *Mol Cell Biochem*, 2018, 449(1/2):145-156.
- [6] Rajasekhar M, Olsson AM, Steel KJ, et al. MicroRNA-155 contributes to enhanced resistance to apoptosis in monocytes from patients with rheumatoid arthritis[J]. *J Autoimmun*, 2017, 79:53-62.
- [7] Ham O, Chang YL, Song BW, et al. Upregulation of miR-23b enhances the autologous therapeutic potential for degenerative arthritis by targeting PRKACB in synovial fluid-derived mesenchymal stem cells from patients[J]. *Mol Cells*, 2014, 37(6):449-456.
- [8] Lin J, Huo R, Xiao L, et al. A novel p53/micro-RNA-22/Cyr61 axis in synovial cells regulates inflammation in rheumatoid arthritis[J]. *Arthritis Rheumatol*, 2014, 66(1):49-59.
- [9] Nakamachi Y, Kawano S, Takenokuchi M, et al. MicroRNA-124a is a key regulator of proliferation and monocyte chemoattractant protein 1 secretion in fibroblast-like synoviocytes from patients with rheumatoid arthritis[J]. *Arthritis Rheum*, 2009, 60(5):1294-1304.
- [10] 赵瑜, 王林, 潘继红. miRNA 在类风湿性关节炎中的研究进展[J]. *生命科学*, 2015, 27(9):1140-1145.
- [11] Ospelt C, Neidhart M, Gay RE, et al. Synovial activation in rheumatoid arthritis[J]. *Front Biosci*, 2004, 9:2323-2334.
- [12] Huber LC, Distler O, Tarnier I, et al. Synovial fibroblasts: key players in rheumatoid arthritis[J]. *Rheumatology*, 2006, 45(6):669-675.
- [13] Kim EK, Kwon JE, Lee SY, et al. IL-17-mediated mitochondrial dysfunction impairs apoptosis in rheumatoid arthritis synovial fibroblasts through activation of autophagy[J]. *Cell Death Dis*, 2017, 8(1):e2565.
- [14] Yan ZF, Zhao XY, Liu W, et al. UCA1 impacts progress of rheumatoid arthritis by inducing the apoptosis of fibroblast-like synoviocyte[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2018, 22(4):914-920.
- [15] Chou CT, Yang JS, Lee MR. Apoptosis in rheumatoid arthritis: expression of Fas, Fas-L, p53, and Bcl-2 in rheumatoid synovial tissues[J]. *J Pathol*, 2015, 193(1):110-116.
- [16] O'Connell RM, Taganov KD, Boldin MP, et al. MicroRNA-155 is induced during the macrophage inflammatory response[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2007, 104(5):1604-1609.
- [17] Stanczyk J, Pedrioli DM, Brentano F, et al. Altered expression of microRNA in synovial fibroblasts and synovial tissue in rheumatoid arthritis[J]. *Arthritis Rheum*, 2008, 58(4):1001-1009.
- [18] Zhu S, Pan W, Song X, et al. The microRNA miR-23b suppresses IL-17-associated autoimmune inflammation by targeting TAB2, TAB3 and IKK- α [J]. *Nat Med*, 2012, 18(7):1077-1086.
- [19] Salehi E, Eftekhari R, Oraei M, et al. MicroRNAs in rheumatoid arthritis[J]. *Clin Rheumatol*, 2015, 34(4):615-628.
- [20] Riley A, Jordan LE, Holcik M. Distinct 5'-UTRs regulate XIAP expression under normal growth conditions and during cellular stress[J]. *Nucleic Acids Res*, 2010, 38(14):4665-4674.
- [21] Wu Q, Yan H, Tao SQ, et al. XIAP 3'-untranslated region as a ceRNA promotes FSCN1 function in inducing the progression of breast cancer by binding endogenous miR-29a-5p[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(10):16784-16800.
- [22] Wilkinson JC, Cepero E, Boise LH, et al. Upstream regulatory role for XIAP in receptor-mediated apoptosis[J]. *Mol Cell Biol*, 2004, 24(16):7003-7014.
- [23] Tamm I, Kornblau SM, Segall H, et al. Expression and prognostic significance of IAP-family genes in human cancers and myeloid leukemias[J]. *Clin Cancer Res*, 2000, 6(5):1796-1803.
- [24] Rigaud S, Fondanèche MC, Lambert N, et al. XIAP deficiency in humans causes an X-linked lymphoproliferative syndrome[J]. *Nature*, 2006, 444(7115):110-114.
- [25] Huang X, Wu Z, Mei Y, et al. XIAP inhibits autophagy via XIAP-Mdm2-p53 signalling[J]. *EMBO J*, 2014, 32(16):2204-2216.
- [26] Nishioka C, Ikezoe T, Yang J, et al. BCR/ABL increases EZH2 levels which regulates XIAP expression via miRNA-219 in chronic myeloid leukemia cells[J]. *Leuk Res*, 2016, 45:24-32.
- [27] Zhang X, Liu H. MicroRNA-497 induces apoptosis through downregulating XIAP in hepatic cancer[J]. *Int J Clin Exp Med*, 2017, 10(9):13188-13193.
- [28] Ren Y, Han X, Yu K, et al. microRNA-200c downregulates XIAP expression to suppress proliferation and promote apoptosis of triple-negative breast cancer cells[J]. *Mol Med Rep*, 2014, 10(1):315-321.