

引用本文:杨莉,刘炜,李彦格,等.微小RNA-150靶向c-Myb表达对T淋巴细胞白血病Jurkat细胞增殖的影响[J].安徽医药,2022,26(8):1615-1618.DOI:10.3969/j.issn.1009-6469.2022.08.030.

◇临床医学◇



微小RNA-150靶向c-Myb表达对T淋巴细胞白血病Jurkat细胞增殖的影响

杨莉,刘炜,李彦格,管玉洁,毛彦娜

作者单位:郑州儿童医院、河南省儿童医院、郑州大学附属儿童医院血液肿瘤科,河南 郑州 450000

通信作者:刘炜,女,主任医师,研究方向为小儿血液肿瘤疾病,Email:yqp7q@163.com

基金项目:2018年度河南省医学科技攻关计划(2018020679)

摘要: **目的** 探讨微小RNA-150(miR-150)靶向c-Myb表达对T淋巴细胞白血病(T-LL)Jurkat细胞增殖的影响。**方法** 体外培养人Jurkat细胞,分为空白对照组(不转染)、阴性对照组(转染negative control-miR-150)和miR-150过表达组(转染hsa-miR-150 mimic)。实时荧光定量PCR(qRT-PCR)法检测Jurkat细胞中miR-150及c-Myb表达;人胆囊收缩素/缩胆囊素八肽(CCK-8)法检测Jurkat细胞增殖;流式细胞仪检测各组Jurkat细胞凋亡情况;双荧光素酶报告基因实验检测miR-150和c-Myb的靶向关系;蛋白质印迹法(Western blotting)检测各组Jurkat细胞中c-Myb、增殖细胞核抗原(PCNA)、Bcl-2相关X蛋白(Bax)蛋白表达情况。**结果** 空白对照组与阴性对照组Jurkat细胞中miR-150表达水平、c-Myb mRNA及蛋白表达水平、OD值、细胞凋亡率、及PCNA、Bax蛋白水平差异无统计学意义($P>0.05$);与空白对照组相比,miR-150过表达组Jurkat细胞中miR-150表达水平 $[(1.42\pm 0.14)$ 比 $(1.03\pm 0.09)]$ 、凋亡率 $[(20.79\pm 1.15)\%$ 比 $(8.76\pm 0.74)\%]$ 、Bax蛋白表达水平 $[(0.65\pm 0.18)$ 比 $(0.42\pm 0.13)]$ 显著升高($P<0.05$),c-Myb mRNA $[(0.66\pm 0.14)$ 比 $(0.98\pm 0.09)]$ 及蛋白表达水平 $[(0.37\pm 0.06)$ 比 $(0.64\pm 0.12)]$ 、OD值 $[(0.25\pm 0.06)$ 比 $(0.46\pm 0.09)]$ 、PCNA蛋白表达水平 $[(0.33\pm 0.07)$ 比 $(0.56\pm 0.11)]$ 显著降低($P<0.05$)。双荧光素酶报告基因实验显示,c-Myb是miR-150的靶基因。**结论** miR-150靶向c-Myb表达抑制Jurkat细胞增殖并诱导其凋亡。

关键词: 白血病,T细胞; 微小RNA-150; c-Myb; Jurkat细胞; 细胞增殖

MiR-150 targeting c-Myb expression inhibits the proliferation of Jurkat cells

YANG Li,LIU Wei,LI Yange,GUAN Yujie,MAO Yanna

Author Affiliation:Department of Hematological Oncology, Zhengzhou Children's Hospital,Henan Children's Hospital, Children's Hospital Affiliated to Zhengzhou University,Zhengzhou,Henan 450000,China

Abstract: **Objective** To investigate the effect of microRNA-150 (miR-150) targeting c-Myb expression on the proliferation of Jurkat cells.**Methods** Human Jurkat cells were cultured in vitro and assigned into blank control group (no transfection), negative control group (transfected with negative control-miR-150) and miR-150 overexpression group (transfected with hsa-miR-150 mimic). The expressions of miR-150 and c-Myb in Jurkat cells were detected by real-time fluorescent quantitative PCR (qRT-PCR); the proliferation of Jurkat cells was detected by cholecystikinin octapeptide (CCK-8); the apoptosis of Jurkat cells was detected by flow cytometry; the targeting relationship between miR-150 and c-Myb was detected by double luciferase reporter gene assay; and Western blotting (WB) was used to detect the protein expressions of c-Myb, proliferating cell nuclear antigen (PCNA) and Bcl-2-associated X-protein Bax in Jurkat cells.**Results** There were no significant differences in the expression levels of miR-150, c-Myb mRNA and protein, OD value, apoptosis rate, protein expression levels of PCNA and Bax in Jurkat cells between blank control group and negative control group ($P>0.05$). Compared with blank control group, the expression level of miR-150 $[(1.42\pm 0.14)$ vs. $(1.03\pm 0.09)]$, apoptosis rate $[(20.79\pm 1.15)\%$ vs. $(8.76\pm 0.74)\%$] and Bax protein $[(0.65\pm 0.18)$ vs. $(0.42\pm 0.13)]$ in Jurkat cells of miR-150 overexpression group were significantly higher ($P<0.05$), while the expression levels of c-Myb mRNA $[(0.66\pm 0.14)$ vs. $(0.98\pm 0.09)]$ and protein $[(0.37\pm 0.06)$ vs. $(0.64\pm 0.12)]$, OD value $[(0.25\pm 0.06)$ vs. $(0.46\pm 0.09)]$ and protein expression level of PCNA $[(0.33\pm 0.07)$ vs. $(0.56\pm 0.11)]$ were significantly lower ($P<0.05$). Double luciferase reporter gene experiment results showed that c-Myb was the target gene of miR-150.**Conclusion** The miR-150 targeting c-Myb expression inhibits the proliferation and induces the apoptosis of Jurkat cells.

Key words: Leukemia,T-Cell; microRNA-150; c-Myb; Jurkat cell; Cell proliferation

T淋巴细胞白血病(T lymphoblastic leukemia, T-LL)是血液系统恶性肿瘤,来源于骨髓T淋巴母细

胞,发病率、病死率较高,具有淋巴结增大、白血病细胞浸润、皮肤损害等特征,因常规治疗易复发、化

疗效差,长期生存率低,预后较差,而成为临床治疗的难题^[1-3]。微小RNA(miRNA)作为基因表达调控的重要方式,是迄今为止研究较多的一类非编码RNA,可调控靶基因广泛参与血液系统疾病及其他肿瘤的进展过程^[4-5]。有研究发现,miR-452、miR-139等表达异常可导致T-LL的发生并影响疾病进展^[6-7]。近年来有文献报道,miR-150在慢性髓系白血病中表达下调,过表达miR-150后可通过调节c-Myb抑制人慢性髓系白血病细胞系K562增殖^[8]。然而,关于miR-150靶向c-Myb表达影响Jurkat细胞增殖的报道较少。本研究自2020年1—6月研究miR-150对人T-LL细胞株Jurkat中c-Myb表达及细胞增殖、凋亡的影响,以期解释miR-150在T-LL中的功能及分子机制,为发展以miRNA为靶点的T-LL治疗新方法奠定基础。

1 材料与方法

1.1 主要试剂与仪器 人T-LL细胞株Jurkat细胞(WD100074,美国ATCC细胞库);Lipofectamine 2000(11668-027,美国Invitrogen);实时荧光定量PCR(quantitative real-time PCR, qRT-PCR)试剂盒(:K1002S,美国Promega);人胆囊收缩素/缩胆囊素八肽(CCK-8)试剂(CK-04,日本同仁);Annexin V-FITC/PI(S0185,哈尔滨新海基因);c-Myb抗体(ab117635)、增殖细胞核抗原(proliferating cell nuclear antigen, PCNA)抗体(ab92552)、Bcl-2相关X蛋白(Bcl-2 associated X protein, Bax)抗体(ab32503)、甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)抗体(ab181602),美国abcam;羊抗兔(0295G-HRP,美国Santa);ABI 7500荧光定量PCR仪,美国Applied Biosystems;BD FACSCanto II流式细胞仪,美国BD;MODEL550酶标仪、ChemiDocXRS化学发光成像系统,美国Bio-Rad公司。

1.2 实验方法

1.2.1 细胞培养 Jurkat细胞用DMEM培养基于培养箱(37℃、5%二氧化碳)中培养,融合80%传代培养。

将Jurkat细胞,分为空白对照组、阴性对照组及miR-150过表达组,空白对照组Jurka细胞不进行转染处理,使用Lipofectamine 2000,向阴性对照组、miR-150过表达组Jurka细胞分别转染negative control-miR-150、hsa-miR-150 mimic(序列由上海生工合成)。

1.2.2 qRT-PCR法检测 各组Jurkat细胞中miR-150、c-Myb表达情况 将Jurkat细胞按照“1.2.1”分组处理6 h,重悬于DMEM培养基中,按照 1×10^4 个/孔铺于96孔培养板中,培养48 h,收集细胞,经总RNA

提取、cDNA合成后,qRT-PCR法检测miR-150(内参U6)、c-Myb(内参GAPDH)水平。设置PCR仪程序为95℃ 10 min;40次循环:93℃ 10 s,55℃ 25 s,72℃ 2 min;72℃ 10 min。miR-150(F):5'-AGAGTCTCCCAACCCTTGTA-3',miR-150(R):5'-CAGTGCAGGGTCCGAGGT-3';c-Myb(F):5'-GCTGCTATGGTCTTAGCCTGTAG-3',c-Myb(R):5'-ACATCAACAACACACATCTCC-3';U6(F):5'-CTCGCTTCGGCAGCACATATACT-3',(R):5'-ACGCTTCACGAATTTGCGTGTG-3';GAPDH(F):5'-GACCCCTTCATTGACCTCAA-3',GAPDH(R):5'-TGCTTCACCACCTTCTTGAT-3',引物由上海生工合成。2^{-ΔΔCt}法定量。

1.2.3 CCK-8法检测 Jurkat细胞增殖 将Jurkat细胞按照“1.2.1”分组处理6 h,重悬于DMEM培养基中,按照 1×10^4 个/孔铺于培养板(96孔),48 h后加CCK-8,2 h后使用酶标仪(450 nm)检测光密度(optical density, OD)值。

1.2.4 流式细胞仪检测 Jurkat细胞凋亡 将Jurkat细胞按照“1.2.1”分组处理6 h,重悬于DMEM培养基中,按照 1×10^4 个/孔铺于培养板(96孔),48 h后收集、消化、洗涤,调整成 1×10^6 个/毫升的细胞悬浮液,加入Annexin V-FITC、PI各5 μL,1 h避光孵育后使用流式细胞仪检测。

1.2.5 荧光素酶实验检测 miR-150与c-Myb的靶向关系 生物信息学软件Targetscan预测miR-150和c-Myb mRNA 3'UTR可能存在的结合位点。将与miR-150互补结合的c-Myb基因的3'UTR序列片段插入到pGL3-basic构建3'UTR质粒,将空载质粒(空载质粒组)和3'UTR质粒(3'UTR质粒组)分别与miR-150模拟物共转染Jurkat细胞。转染36 h后,检测细胞相对荧光素酶活性。

1.2.6 蛋白质印迹法 (Western blotting)检测 各组Jurkat细胞中c-Myb、PCNA、Bax蛋白表达情况 将Jurkat细胞按照1.2.1分组处理6 h,重悬于DMEM培养基中,按照 1×10^4 个/孔铺于96孔培养板中,48 h后收集、洗涤、裂解、冰浴、离心,收集上清并进行蛋白定量。取等量蛋白经电泳、转PVDF膜上、TBST缓冲液(含5%脱脂奶粉)室温封闭,1 h后分别加入c-Myb抗体(1:1 000稀释)、PCNA抗体(1:1 000稀释)、Bax抗体(1:1 000稀释)和GAPDH抗体(1:1 000稀释),孵育过夜,加入1:5 000稀释的羊抗兔二抗,孵育1 h,加入ECL试剂进行显影和曝光,分析条带灰度,以内参蛋白灰度定量。

1.3 统计学方法 采用SPSS 24.0处理数据。数据均用 $\bar{x} \pm s$ 表示,行单因素方差分析,采用SNK-*q*检

验进行两两比较, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组 Jurkat 细胞中 miR-150、c-Myb mRNA

表达情况 Jurkat 细胞中 miR-150、c-Myb mRNA 水平在空白对照组与阴性对照组间差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。与空白对照组相比, miR-150 过表达组 Jurkat 细胞中 miR-150 水平升高 ($P < 0.05$), c-Myb mRNA 水平降低 ($P < 0.05$), 见表 1。

表 1 各组 Jurkat 细胞中 miR-150、c-Myb mRNA 表达水平比较 $\bar{x} \pm s$

组别	重复次数	miR-150	c-Myb mRNA
空白对照组	6	1.03±0.09	0.98±0.09
阴性对照组	6	1.02±0.05	1.01±0.05
miR-150 过表达组	6	1.42±0.14 ^{①②}	0.66±0.14 ^{①②}
F 值		31.01	22.43
P 值		<0.001	<0.001

注: ①较空白对照组, $P < 0.05$ 。②较阴性对照组, $P < 0.05$ 。

2.2 各组 Jurkat 细胞增殖、凋亡情况比较 空白对照组与阴性对照组 Jurkat 细胞 OD 值及凋亡率差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 与空白对照组相比, miR-150 过表达组 Jurkat 细胞 OD 值显著降低, 凋亡率显著升高 ($P < 0.05$), 见表 2。

表 2 各组 Jurkat 细胞的 OD 值及凋亡率比较 $\bar{x} \pm s$

组别	重复次数	OD 值	凋亡率/%
空白对照组	6	0.46±0.09	8.76±0.74
阴性对照组	6	0.49±0.08	9.13±0.88
miR-150 过表达组	6	0.25±0.06 ^{①②}	20.79±1.15 ^{①②}
F 值		17.01	318.56
P 值		<0.001	<0.001

注: ①较空白对照组, $P < 0.05$ 。②较阴性对照组, $P < 0.05$ 。

2.3 miR-150 与 c-Myb 的靶向关系 Targetscan 生物信息学软件预测显示, miR-150 和 c-Myb mRNA 3'UTR 存在结合位点。双荧光素酶报告基因实验显示, 与空载质粒组相比, 3'UTR 质粒组 Jurkat 细胞相对荧光素酶活性显著降低 [(0.68±0.16) 比 (1.01±0.11), $t=4.16$, $P=0.002$]。

2.4 各组 Jurkat 细胞中 c-Myb、PCNA、Bax 蛋白表达情况 空白对照组与阴性对照组 Jurkat 细胞中 c-Myb、PCNA、Bax 蛋白水平差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 与空白对照组相比, miR-150 过表达组 Jurkat 细胞中 c-Myb、PCNA 蛋白水平降低 ($P < 0.05$), Bax 蛋白水平升高 ($P < 0.05$), 见图 1, 表 3。

3 讨论

miRNAs 是一类进化中高度保守, 分布广泛, 长度为 21~24 个核苷酸的非编码 RNA, 通过作用于靶



注: 1—甘油醛-3-磷酸脱氢酶 (GAPDH); 2—Bcl-2 相关 X 蛋白 (Bax); 3—增殖细胞核抗原 (PCNA); 4—c-Myb; 5—空白对照组; 6—阴性对照组; 7—miR-150 过表达组。

图 1 各组 Jurkat 细胞中 c-Myb、PCNA、Bax 蛋白表达

表 3 各组 Jurkat 细胞中 c-Myb、PCNA、Bax 蛋白水平比较 $\bar{x} \pm s$

组别	重复次数	c-Myb/GAPDH	PCNA/GAPDH	Bax/GAPDH
空白对照组	6	0.64±0.12	0.56±0.11	0.42±0.13
阴性对照组	6	0.73±0.13	0.59±0.13	0.46±0.14
miR-150 过表达组	6	0.37±0.06 ^{①②}	0.33±0.07 ^{①②}	0.65±0.18 ^{①②}
F 值		18.10	10.74	3.72
P 值		<0.001	0.001	0.042

注: GAPDH 为甘油醛-3-磷酸脱氢酶, PCNA 为增殖细胞核抗原, Bax 为 Bcl-2 相关 X 蛋白。

①较空白对照组, $P < 0.05$ 。②较阴性对照组, $P < 0.05$ 。

基因, 使靶基因转录受到抑制或 mRNA 降解, 从而负调控靶基因表达。近年来, 对 miRNA 的深入研究发现, miRNA 基因的突变或表达失调与多种癌症关系密切, 可以通过发挥抑癌或促癌功能, 参与癌症的发生发展, 有望成为癌症的治疗靶点^[9-10]。miR-150 是研究较多的 miRNAs 之一, 其在多种实体肿瘤中均异常表达, 可用于预测肿瘤发生发展及进行预后评估^[11-12]。李均等^[13]研究表明, miR-150 在宫颈癌组织中高表达, 可能作为癌基因调控宫颈癌的发生及发展。杜晓阳等^[14]研究表明, 过表达 miR-150 能够抑制结直肠癌细胞的侵袭与转移能力, 进而抑制肿瘤的生长与转移。因此, miR-150 在肿瘤中的调控具有多样性, 可能发挥抑癌或促癌功能。王莹等^[15]通过构建慢病毒载体过表达 miR-150, 发现过表达 has-miR-150 可能通过负调控磷脂酰肌醇 3-激酶/蛋白激酶 B/核因子 κ B (phosphoinositide-3-kinase/serine threonine kinase/nuclear factor κ B, PI3K/Akt/NF- κ B) 信号通路, 抑制 Jurkat 细胞增殖并诱导其凋亡。本研究结果显示, 过表达 miR-150 后, Jurkat 细胞 OD 值显著降低, 凋亡率显著升高, 提示 miR-150 在 T-LL 进展中起抑癌基因作用, 这与王莹研究一致, 但具体机制尚不清楚。

T-LL 的发生过程是原癌、抑癌基因间作用失衡的后果结果, 其中, 癌基因 c-Myc 起重要作用, 可通

过细胞自噬机制、非细胞自噬机制诱导急性T-LL表现出明显的原癌基因成瘾性,因此,针对c-Myc基因进行治疗可能成为治疗急性T-LL的突破方向^[16]。吕国庆等^[17]研究表明,c-Myc抑制剂CPI-203可明显抑制急性T淋巴细胞白血病Jurkat细胞增殖。但c-Myc缺乏明确的配体结合域,特异性阻断c-Myc基因激活十分困难,研究靶向抑制c-Myc基因激活的方法具有重要意义^[18]。周小翠等^[19]研究表明,miR-150通过靶基因c-Myb改善心肌梗死后心肌纤维化。陈连香等^[8]研究表明,miR-150下调靶基因c-Myb的表达抑制慢性髓系白血病细胞的增殖。何旭等^[20]研究发现,T-LL患儿血浆miR-150水平降低,其水平检测对T-LL诊断、病情判断和预后评估具有一定作用。本研究结果显示,过表达miR-150后,Jurkat细胞中c-Myc mRNA和蛋白水平均显著降低,提示miR-150在Jurkat细胞中可以阻断c-Myc基因激活,且双荧光素酶报告基因实验结果证实,miR-150在Jurkat细胞中可以靶向调控c-Myc基因。

PCNA是增殖相关基因,在肿瘤增殖过程中发挥作用^[21]。Bax是B淋巴细胞瘤-2蛋白(B-cell lymphoma-2, Bcl-2)家族的促凋亡成员,可促进细胞凋亡^[22]。本研究发现,过表达miR-150后,Jurkat细胞中PCNA蛋白水平显著降低,Bax蛋白水平显著升高,提示miR-150靶向阻断c-Myc基因激活后,通过下调PCNA表达、上调Bax表达抑制Jurkat细胞增殖并促进其凋亡。

综上所述,miR-150可能靶向c-Myb表达,进而通过影响PCNA、Bax表达抑制Jurkat细胞增殖并诱导其凋亡,这可能为靶向治疗T-LL提供了一定参考。

参考文献

- [1] HERRANZ D, AMBESI-IMPIOMBATO A, PALOMERO T, et al. A NOTCH1-driven MYC enhancer promotes T cell development, transformation and acute lymphoblastic leukemia [J]. *Nat Med*, 2014, 20(10):1130-1137.
- [2] 金香淑, 杨岚, 汪变红, 等. 急性淋巴细胞白血病中枢神经系统白血病21例临床特征与预后分析[J]. *中国实验血液学杂志*, 2016, 24(6):1675-1682.
- [3] HASHEMI M, HASANI SS, NADERI M. DROSHA rs642321 polymorphism influence susceptibility to childhood acute lymphoblastic leukemia: a preliminary report [J]. *Indian J Med Paediatr Oncol*, 2017, 38(4):416-419.
- [4] QIN L, DENG HY, CHEN SJ, et al. miR-139 acts as a tumor suppressor in T-cell acute lymphoblastic leukemia by targeting CX chemokine receptor 4 [J]. *Am J Transl Res*, 2017, 9(9):4059-4070.
- [5] HUA F, LI CH, CHEN XG, et al. Long noncoding RNA CCAT2 knockdown suppresses tumorous progression by sponging miR-424 in epithelial ovarian cancer [J]. *Oncol Res*, 2018, 26(2):241-247.
- [6] WANG H, GUO Q, ZHU G, et al. microRNA-452 exerts growth-suppressive activity against T-cell acute lymphoblastic leukemia [J]. *J Invest Med*, 2018, 66(4):773-779.
- [7] CORREIA NC, FRAGOSO R, CARVALHO T, et al. MiR-146b negatively regulates migration and delays progression of T-cell acute lymphoblastic leukemia [J]. *Sci Rep*, 2016, 6(1):31894-31903.
- [8] 陈连香, 曹丽霞. miR-150通过调节c-Myb抑制人慢性髓系白血病细胞系K562增殖[J]. *基础医学与临床*, 2019, 39(9):1259-1264.
- [9] GUILLERMO AJ. Emerging role of CRISPR/Cas9 technology for microRNAs editing in cancer research [J]. *Cancer Res*, 2017, 77(24):6812-6817.
- [10] KWOK GT, ZHAO JT, WEISS J, et al. Translational applications of microRNAs in cancer, and therapeutic implications [J]. *Non-Coding RNA Res*, 2017, 2(3/4):143-150.
- [11] WANG W, ZHANG Y, WANG D, et al. Prognostic role of microRNA-150 in various carcinomas: a meta-analysis [J]. *Onco Targets Ther*, 2016, 9(1):1371-1379.
- [12] 屈潇, 秦环龙. miR-150在肿瘤发生发展中作用机制研究进展[J]. *中国医药导报*, 2017, 14(32):19-22.
- [13] 李均, 冯露, 徐凡, 等. miR-150在宫颈癌组织中的表达及临床意义[J]. *现代肿瘤医学*, 2017, 25(21):3487-3490.
- [14] 杜晓阳, 王连涛, 董功航. miR-150对结直肠癌患者肿瘤细胞侵袭与转移能力的影响[J]. *当代医药论丛*, 2016, 14(6):9-11.
- [15] 王莹, 桑威, 孙财, 等. has-miR-150对Jurkat细胞增殖和凋亡的影响及其机制[J]. *中国实验血液学杂志*, 2015, 23(1):94-98.
- [16] 孙晓霞, 马梁明, 王涛. BRD4抑制剂JQ1对Jurkat细胞增殖抑制及凋亡诱导作用的研究[J]. *中国实验血液学杂志*, 2016, 24(4):1019-1023.
- [17] 吕国庆, 刘宪凯, 吴隼, 等. c-Myc抑制剂在急性T淋巴细胞白血病Jurkat细胞增殖中的作用[J]. *中华实用诊断与治疗杂志*, 2018, 32(9):845-847.
- [18] KANDELA I, JIN HY, OWEN K. Registered report: BET bromodomain inhibition as a therapeutic strategy to target c-Myc [J]. *Elife*, 2015, 4(1):1-18.
- [19] 周小翠, 汪涛, 李恩. miR-150通过靶基因c-Myb改善心肌梗死后心肌纤维化[J]. *实用医学杂志*, 2017, 33(7):1078-1082.
- [20] 何旭, 杨昆, 胡银山, 等. 急性淋巴细胞白血病患儿血浆miR150、miR155、miR233水平变化及其意义[J]. *山东医药*, 2018, 58(19):72-74.
- [21] 沈玉莉, 王素妍, 赖玉林, 等. PCNA基因沉默表达对甲状腺癌细胞增殖和凋亡的影响及作用机制研究[J]. *肿瘤药学*, 2018, 8(5):705-709.
- [22] LIU F, JIANG YJ, ZHAO HJ, et al. Electroacupuncture ameliorates cognitive impairment and regulates the expression of apoptosis-related genes Bcl-2 and Bax in rats with cerebral ischaemia-reperfusion injury [J]. *Acupunct Med*, 2015, 33(6):478-484.

(收稿日期:2020-08-18,修回日期:2020-10-10)