DOI:10.16016/j.1000-5404.201507111

MiR-17-5p 调控 STAT3 信号通路在心肌慢性缺氧适应中意义的研究

赵鹏南,罗桂平,姜云瀚,李经纬,唐富琴,顾 强,肖颖彬 (400037 重庆,第三军医大学新桥医院全军心血管外科研究所)

[摘要] **目的** 探讨心肌慢性缺氧环境下,miR-17-5p 的表达变化以及 miR-17-5p 对 STAT3 信号通路的调控对于缺氧心肌细胞的影响。**方法** ①选取新桥医院心外科 2014 年 8 月至 2015 年 4 月期间先心病患儿 20 例,其中紫绀型(年龄 61.5±46.5 月,术后诊断为法洛氏四联症)与非紫绀型(年龄 43.2±32.1 月,术后诊断为室缺伴右心室流出道狭窄)各 10 例。术中取右室流出道心肌组织作为标本,采用 RT-PCR 检测两组先心病患儿心肌组织 miR-17-5p 的表达情况。②建立大鼠源 H9c2 心肌细胞慢性缺氧适应模型,分为缺氧 0、12、24、48、72 h 组($n=5$),RT-PCR 分别检测各组 miR-17-5p 的表达。③脂质体转染 antagomir miR-17-5p 和 agomir miR-17-5p 至 H9c2 心肌细胞,建立过表达 miR-17-5p 和沉默 miR-17-5p 的 H9c2 心肌细胞系,慢性缺氧培养 48 h,CCK8 实验检测细胞增殖情况,TUNNEL 实验检测细胞凋亡情况,Western blot 检测 STAT3,p-Tyr-705-STAT3 及其下游调控蛋白 c-myc 蛋白表达。**结果** ①与非紫绀组(0.482±0.163)相比,紫绀组(1.450±0.705)患儿 miR-17-5p 表达明显升高($P<0.01$)。②慢性缺氧细胞模型研究结果显示慢性缺氧时 H9c2 细胞 miR-17-5p 表达逐渐增高($P<0.01$)。③缺氧环境下 miR-17-5p 过表达明显抑制 p-Tyr-705-STAT3、STAT3、c-myc 表达,引起心肌心肌细胞增殖受抑制,凋亡增加($P<0.01$);而抑制 miR-17-5p 对 p-Tyr-705-STAT3、STAT3、c-myc 表达改变不明显,且对于心肌细胞的增殖和凋亡改变也不明显($P>0.05$)。**结论** 在心肌慢性缺氧过程中,miR-17-5p 可能参与调控 STAT3-c-myc 信号通路,对于心肌细胞的存活和功能调节有重要意义。

[关键词] miR-17-5p;STAT3;缺氧;心肌细胞
[中图法分类号] R322.11;R363.22;R364.4 [文献标志码] A

Significance of miR-17-5p in adaptation of chronic hypoxia in myocardium *via* modulation of STAT3 signaling pathway

Zhao Pengnan, Luo Guiping, Jiang Yunhan, Li Jingwei, Tang Fuqin, Gu Qiang, Xiao Yingbin (Institute of Cardiovascular Surgery, Xinqiao Hospital, Third Military Medical University, Chongqing, 400037, China)

[**Abstract**] **Objective** To explore the expression of miR-17-5p and its effect on STAT3 signaling pathway in the myocardium under chronic hypoxic condition. **Methods** Twenty children with congenital heart disease, who were prepared to undergo surgical treatment from August 2014 to April 2015, were recruited and divided into 10 cases of cyanotic type (average age 61.5±46.5 months, post-operation diagnosis as Tetralogy of Fallot) and 10 cases of acyanotic type (average age 43.2±32.1 months, post-operation diagnosis as interventricular septal defect and right ventricular outflow tract stenosis). The right myocardial tissue of ventricular outflow tract was taken as the specimen to detect the expression of miR-17-5p by RT-PCR. Chronic hypoxia models of H9c2 cardiomyocytes were established and divided into 5 groups including hypoxia 0-h group, hypoxia 12-h group, hypoxia 24-h group, hypoxia 48-h group and hypoxia 72-h group ($n=5$), and RT-PCR was employed to detect the expression of miR-17-5p in each group. H9c2 cardiomyocytes were transfected with antagomir miR-17-5p and agomir miR-17-5p by liposomes to build miR-17-5p overexpression and silence models of H9c2 cardiomyocytes, and then the cells were cultured in hypoxia incubator for 48 h. CCK8 assay was used to detect cell proliferation, TUNEL method was adopted to detect cell apoptosis, and

[基金项目] 国家自然科学基金青年科学基金(81100119,81270228)
[通信作者] 肖颖彬,E-mail:xiaoyb@vipsina.com;顾 强,E-mail:Qiang.gu@hotmail.com
[优先出版] http://www.cnki.net/kcms/detail/51.1095.R.20160120.0843.001.html(2016-01-20)

Western blotting was employed to detect the expressions of STAT3, p-Tyr-705-STAT3 and downstream c-myc. **Results** Compared with the acyanosis group (0.482 ± 0.163), the miR-17-5p expression of the cyanotic group (1.45 ± 0.705) was significantly higher ($P < 0.01$). The chronic hypoxia cell model showed that the expression of miR-17-5p was increased gradually along with chronic hypoxia time ($P < 0.01$). Overexpression of miR-17-5p inhibited cardiomyocyte proliferation and promoted apoptosis significantly through inhibiting the expression of STAT3, p-Tyr-705-STAT3 and c-myc ($P < 0.01$). The inhibition of miR-17-5p had no effect on the expression of p-Tyr-705-STAT3, STAT3 and c-myc, and the changes of proliferation and apoptosis of cardiomyocytes ($P > 0.05$). **Conclusion** During chronic hypoxia, miR-17-5p may be involved in the regulation of STAT3-c-myc signal pathway, and has important significance in survival and function regulation of cardiomyocytes.

[**Key words**] miR-17-5p; STAT3; chronic hypoxia; cardiomyocyte

Supported by the National Natural Science Foundation for Young Scholars of China(81100119;81270228). Corresponding author: Xiao Yingbin, E-mail:xiaoyb@vipsina.com. Gu Qiang, E-mail:Qiang.gu@hotmail.com

STAT3 被上游信号通路激活后[1],通过其蛋白区域的 SH2 功能域的磷酸化形成同源或异源的二聚体,进入核内结合 DNA,调控下游靶基因如 Bcl-xL、Bcl-2、Mcl-1、CyclinD1、c-Myc、c-Jun、Fas 和 VEGF 等。

MicroRNAs(miRNAs)是一组不编码蛋白质的 21 – 25nt 长的单链小分子 RNA,广泛存在于植物、动物以及病毒等真核细胞生物中,参与了动植物许多复杂的生命过程,包括生长发育、器官形成、细胞凋亡、细胞增殖等。一些 miRNA 被证实参与调控心脏疾病的病理生理发展过程[2-4]。

miR-17-5p 属于 miR-17-92 基因簇,定位于人染色体 13q31,是一种编码 6 个 miRNA 的多顺反子性的 miRNA[5-6]。有研究显示[7],在心肌缺血再灌注小鼠模型和体外由 H_2O_2 诱导的氧化应激小鼠心肌细胞模型中,miR-17-5p 参与调控 STAT3 的表达,从而调节心肌细胞功能。本实验旨在研究心肌慢性缺氧过程中 miR-17-5p 和 STAT3 的表达变化以及 miR-17-5p 通过对 STAT3 信号通路的调控对缺氧心肌细胞的影响。

1 资料与方法

1.1 资料与分组

经本院伦理委员会批准,术前征得患儿家属同意并签字。选择 2014 年 8 月 – 2015 年 4 月期间,因术前诊断为先天性心脏病并在我科接受体外循环心内直视手术的患者共 20 例。根据术前有无紫绀可分为两组,一组为非紫绀型先心病组(非紫绀组,$n = 10$),另一组为紫绀型先心病组(紫绀组,$n = 10$)。术前安静状态不吸氧 1 h 以上测四肢血氧饱和度。选取标准:紫绀组,平均血氧饱和度 < 85%,术中证实为法洛氏四联症。非紫绀组,平均血氧饱和度 > 95%,术中证实为室间隔缺损合并右心室流出道狭窄。患儿病例资料见表 1。

表 1 紫绀组和非紫绀组先天性心脏病患儿临床资料 ($\bar{x} \pm s$)

组别	男/女	手术时年龄(月)	射血分数(%)	术前血氧饱和度(%)	血红蛋白(g/L)
紫绀组	6/4	61.5 ± 46.5	66.8 ± 6.0	61.8 ± 14.5a	120.0 ± 20.6
非紫绀组	1/9	43.2 ± 32.1	72.2 ± 4.7	97.7 ± 0.9	96.3 ± 19.6

a: $P < 0.05$,与非紫绀组比较

1.2 材料

主要试剂:miR-17-5p 引物(锐博公司)、u6 引物(锐博公司)SYBR Premix *Ex Tap* Ⅱ(TaKaRa 公司)、Primescript RT reagent Kit WITH gDNA Ereaser (Perfect Real Time)(Takara 公司),H9c2 心肌细胞株(ATCC 美国),DMEM/高糖培养基(Gibco,美国),优质胎牛血清(Gibco,美国),胰酶(Sigma,美国),agomir miR-17-5p(吉玛公司)、antagomir miR-17-5p(吉玛公司)、NC miR-17-5p(吉玛公司)、Lipofectamine _ 2000 (life technology)、Opti-MEM Reduced Serum Medium (life technology)、p-STAT3 抗体 (CST), STAT3 抗体(CST),c-Myc 抗体(CST),HRP 标记的 IgG(山羊抗兔,CST)、一步法 TUNEL 细胞凋亡检测试剂盒(红色荧光)(碧云天公司)、Cell Counting Kit-8(CCK-8 试剂盒)(碧云天公司)、PVDF 膜(Roche)、Western 封闭液(碧云天公司)、BCA 蛋白浓度测定试剂盒(碧云天公司)、SDS 上样缓冲液(5X)(碧云天公司)、SDS-PAGE 凝胶配制试剂盒(碧云天公司)、彩色预染蛋白质分子量标准(碧云天公司)、BeyoECL Plus(碧云天公司)、PMSF(苯甲基磺酰氟)(碧云天公司)。

1.3 方法

1.3.1 标本的采集 静脉复合麻醉,正中开胸建立体外循环,取手术中切除的右心室流出道心肌组织作为标本,液氮保存。

1.3.2 检测心肌细胞标本 miR-17-5p 的表达情况(RT-PCR) 每个样本($n = 20$)取心肌组织约 100 mg,按照 Takara 反转录试剂盒、Real-time PCR 试剂盒的说

明书进行操作,使用 ABI 7300 Real-time PCR 仪以 u6 作为内参进行相对定量检测 miR-17-5p 的表达(miR-17-5p 及 u6 引物从锐博公司购买),反应条件如下:95 ℃ 30 s,95 ℃ 5 s,60 ℃ 34 s,72 ℃ 45 s,40 个循环。使用比较△△Ct 值方法计算相对基因表达水平。每组设置 3 个复孔,实验重复 3 次。

1.3.3 检测慢性缺氧的大鼠 H9c2 心肌细胞 miR-17-5p 的表达情况(RT-PCR) ①慢性缺氧心肌细胞模型的建立:取出液氮中的细胞冻存管,复苏 H9c2 心肌细胞,10% 胎牛血清加入培养基培养;倒置显微镜下观察购得的细胞生长良好、长满瓶底后,可行传代。倾去培养瓶中的培养液,向 100 mL 培养瓶中加入约 5 mL 37 ℃ 预温的 0.25% 胰蛋白酶溶液,倒置显微镜下观察到贴壁细胞收缩、细胞间隙变大,细胞由贴壁的多角形变为圆形后,倾去培养瓶中的胰蛋白酶溶液,迅速加入 10% 小牛血清 1640 培养基。用吸管反复吹打瓶底,使贴壁细胞悬浮,将悬浮的细胞悬液等量移入 4 个 100 mL 培养瓶中,向每个培养瓶中加入 10% 小牛血清 1640 培养基 5 ~ 10 mL,置于 37 ℃、5% CO_2 培养箱中继续培养。此后,每隔 2 ~ 3 天换液一次。当细胞生长至铺满瓶底 80% 左右时,用 0.25% 胰蛋白酶消化分散细胞,进行传代培养。②分组:将 H9c2 细胞分为对照组和慢性缺氧组(5% CO_2 及 95% N2 混合气体),其中慢性缺氧组分为缺氧培养 12、24、48、72 h;共分为 5 组($n=5$)。③检测 miR-17-5p 的表达:提取 H9c2 心肌细胞 mRNA 后按照 1.3.2 中所述步骤进行 RT-PCR 实验。每组设置 3 个复孔,实验重复 3 次。

1.3.4 miR-17-5p 的转染 ①将 H9c2 心肌细胞接种于 24 孔板上,常氧培养 24 h,然后按照说明书操作步骤通过 Lipofectamine 2000 和 Opti-MEM 培养基分别转染 agomir、antagomir 和 NC 进入 H9c2 心肌细胞,常氧培养 24 h,提取 H9c2 心肌细胞 mRNA 按照 1.3.2 中所述步骤进行 RT-PCR 试验。每组设置 3 个复孔,实验重复 3 次。②分组:H9c2 细胞分为 agomir 组、antagomir 组 、空白组和对照组($n=4$)。

1.3.5 TUNEL 实验 将转染后的心肌细胞及空白组常氧培养 24 h 后($n=4$),再缺氧培养 48 h,通过 TUNEL 检测法检测各组心肌细胞的凋亡情况:将 4 组细胞爬片用 4% 多基聚甲醛固定 30 min,PBS 缓冲液洗 5 min,加入含 0.1% TritonX-100 的 PBS 冰浴孵育 2 min,PBS 缓冲液冲洗 2 次 × 10 min,将 TUNEL 工作液加入 6 孔板中 37 ℃避光孵育 60 min,PBS 缓冲液冲洗 3 次 × 10 min,DAPI 染色液染色 10 min,PBS 缓冲液冲洗 3 次 × 5 min,将爬片取出,抗荧光淬灭剂封片,免疫荧光显微镜下采集图片。用 Image-Pro Plus6.0 软件随机抽取 6 个区域分别测定 TUNEL 荧光数量,DAPI 染色细胞核数量,用 TUNEL 荧光数量/DAPI 细胞核数量表示凋亡细胞水平。实验重复 3 次。

1.3.6 Western blot 检测 STAT3 将转染后的心肌细胞及空白组常氧培养 24 h 后($n=4$),再缺氧培养 48 h,将处理好的细胞培养板取出后,加入 4 ℃预冷的 PBS 溶液漂洗 3 遍,吸尽残留的 PBS 溶液,加入 RIPA 裂解液,于冰上裂解,30 min 后用细胞刮收集蛋白,然后超速离心后取上清,运用 BCA 法测定蛋白浓度,并按比例加入 SDS-PAGE 蛋白上样缓冲液(5 ×)混匀,煮沸 5 min,保存于 -20 ℃。取 40 μg/孔蛋白上样,8% 分离胶进行电泳,将相应分子量的蛋白转移至 PVDF 膜,BSA 封闭 2 h,分别与相对应的一抗(p-Tyr-705-STAT3、STAT3、c-myc、β-actin)4 ℃ 摇床过夜,TBST 洗 4 次,每次 5 min。再分别与抗兔的 HRP 标记的二抗室温孵育 2 h,TBST 洗 4 次,每次 5 min,最后使用 ECL 化学发光。用灰度值表示蛋白表达量 p-Tyr-705-STAT3 及其下游调控蛋白 c-myc 蛋白含量。实验重复 3 次。

1.3.7 CCK8 实验 将转染后的心肌细胞及空白组常氧培养 12 h 后($n=4$),再分别接种于 4 块 96 孔板,常氧继续培养 12 h 后,然后通过 CCK8 试剂检测各组心肌细胞的增殖情况:将大鼠 H9C2 心肌细胞计数并稀释,取 100 μL 含 2×10^3 个细胞/孔接种于 96 孔板。置于 37 ℃,5% CO_2,及 95% N_2 混合气体孵箱中。按照 CCK-8 试剂盒说明书分别于缺氧第 0、12、24、48 h 以酶标仪测量波长 450 nm 处吸光度值[$D(450)$]。每组设置 5 个复孔,实验重复 3 次。

1.4 统计学方法

所有数据采用统计软件 SPSS 13.0 分析,数值均采用 $\bar{x}\pm s$ 表示。多组比较采用单因素方差分析法,两两比较用 LDS 法;两组比较采用 t 检验。

2 结果

2.1 心肌组织标本的 miR-17-5p 的表达情况(RT-PCR)

RT-PCR 检测显示,紫绀组(1.450 ± 0.705)miR-17-5p 相对表达量与非紫绀组(0.482 ± 0.163)相比,表达量明显升高($P<0.01$)。

2.2 慢性缺氧的大鼠 H9c2 心肌细胞 miR-17-5p 的表达情况(RT-PCR)

RT-PCR 检测显示,缺氧 0(0.933 ± 0.115)、12(1.802 ± 0.130)、24(1.973 ± 0.140)、48(2.030 ± 0.134)、72(2.113 ± 0.220) h 后,大鼠 H9c2 心肌细胞 miR-17-5p 表达逐渐增高,并趋于稳定($P<0.01$)。

2.3 转染 miR-17-5p 的 agomir、antagomir 后细胞内 miRNA-17-5p 的水平检测(RT-PCR)

转染后将细胞在常温常氧培养箱培养 24 h 后,用

RT-PCR 检测细胞内 miRNA-17-5p 的水平。上调组(19.333 ±0.577)与对照组(0.876 ±0.125)和空白组(0.970 ±0.061)相比,miRNA-17-5p 的水平明显增高(P < 0.01);下调组(0.397 ±0.019)与对照组(0.876 ±0.125)和空白组(0.970 ±0.061)相比,miRNA-17-5p 的水平明显降低(P <0.01)。

2.4 缺氧大鼠 H9c2 心肌细胞 miR-17-5p 过表达和抑制对 STAT3,p-Tyr-705-STAT3 及其下游调控蛋白 c-myc 的影响(Western blot)

miR-17-5p 过表达的大鼠 H9c2 心肌细胞缺氧 48 h 后,与对照组及空白组相比,STAT3,p-Tyr-705-STAT3 及其下游调控蛋白 c-myc 的表达下降(P < 0.01)(如图 1、表 2);而 miR-17-5p 抑制的大鼠 H9c2 心肌细胞缺氧 48 h 后,与对照组及空白组相比,STAT3,p-Tyr-705-STAT3 及其下游调控蛋白 c-myc 的表达无明显改变(P >0.05)(如图 1、表 2)。

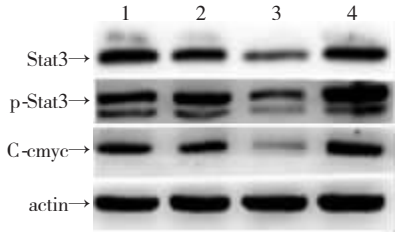


图 1 缺氧 48 h 后各组大鼠 H9c2 心肌细胞中的 STAT3、p-Tyr-705-STAT3 及 C-cmyc 表达情况

表 2 缺氧 48 h 后各组大鼠 H9c2 心肌细胞中的 STAT3,p-Tyr-705-STAT3 及 C-cmyc 的灰度值比较[n =4,$\bar{x} \pm s$]

组别	STAT3	p-STAT3	c-myc
对照组	0.624 ±0.041	1.469 ±0.071	0.515 ±0.061
下调组	0.531 ±0.051	1.621 ±0.049	0.455 ±0.033
上调组	0.302 ±0.029	0.966 ±0.045	0.254 ±0.038
空白组	0.546 ±0.060	1.928 ±0.733	0.509 ±0.051

2.5 缺氧大鼠 H9c2 心肌细胞 miR-17-5p 过表达和抑制对心肌细胞凋亡和增殖的影响(TUNEL、CCK8)

TUNEL 实验检测结果显示,缺氧 48 h 后,和对照组相比,上调组大鼠 H9c2 心肌细胞明显凋亡增加(P <0.01),而下调组、空白组则无明显差异(P > 0.05)(如图 2)[TUNEL-阳性细胞比值:空白组(0.094 8 ± 0.0132 86);对照组(0.106 3 ± 0.0109 69);上调组(0.159 9 ±0.020 16);下调组(0.094 1 ±0.019 13)]。CCK8 实验检测结果显示,缺氧 0、6、24、48 h 后,和对照组相比,上调组大鼠 H9c2 心肌细胞增殖明显减少(P <0.01),而下调组、空白组则无明显差异(P > 0.05)(如表 3)。

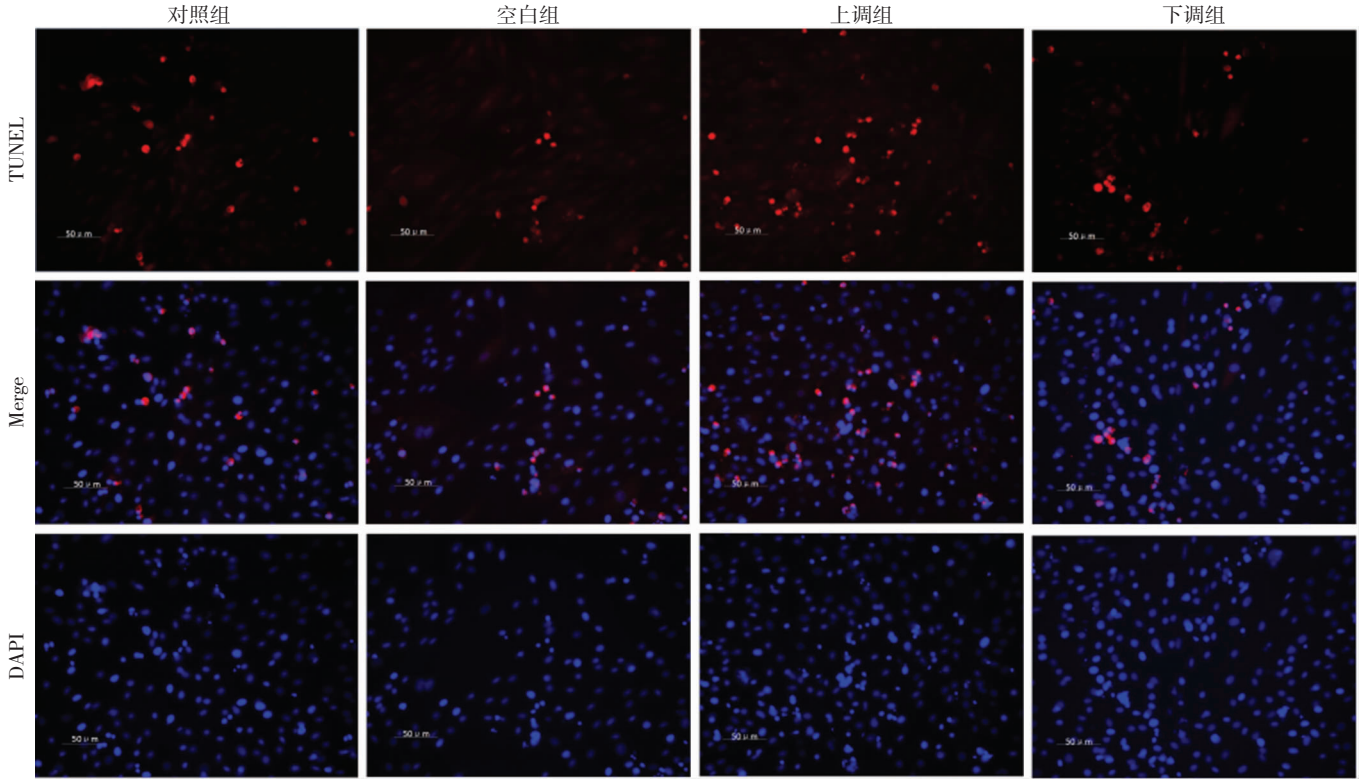


图 2 缺氧 48 h 后各组大鼠 H9c2 心肌细胞的 TUNEL 检测结果

表3 CCK8检测各组大鼠不同时间点H9c2心肌细胞增殖情况[$D(450)$,$n=4$]

组别	0 h	12 h	24 h	48 h
上调组	0.341±0.016	0.403±0.021	0.558±0.025	0.805±0.031
下调组	0.347±0.007	0.392±0.021	0.777±0.091	0.971±0.085
空白组	0.374±0.010	0.474±0.023	0.855±0.086	0.988±0.161
对照组	0.372±0.007	0.524±0.059	0.797±0.020	1.034±0.087

3 讨论

miR-17-92基因簇为一种典型的含有多顺反子启动子的高度保守的基因簇,位于人染色体13q31.3处,C13orf25基因第3个内含子区,其转录前体包含6个串联的茎环发卡结构,最终可产生miR-17,miR-18,miR-19a,miR-20,miR-19b和miR-92等6个成熟的miRNA。miR-17-92基因簇在肿瘤发生和肺、心脏、免疫器官的正常发育过程中都起着至关重要的作用[8-11],同时调节对病原感染的免疫反应[12-13]。研究发现,缺乏miR-17-92的老鼠因为肺发育不良和室间隔缺损在出生后短时间内死亡[14]。miR-17-5p属于miR-17-92基因簇,定位于人染色体13q31,是一种编码6个miRNA的多顺反子性的miRNA。许多研究证实,miR-17-5p在许多不同肿瘤亚型中都参与调节肿瘤细胞的增殖与发展[5-6]。有研究发现,miR-17-5p通过STAT3信号通路来调控骨髓抑制细胞生长(MDSC)[15]。Du[7]等最新研究发现,在心肌缺血再灌注小鼠模型和体外由H_2O_2诱导的氧化应激小鼠心肌细胞模型中,miR-17-5p表达增高,并通过和STAT3的3′UTR结合,降低STAT3的表达,从而促进心肌细胞凋亡。

慢性缺氧是紫绀型先心病的共同的病理生理基础[16],缺氧心肌细胞是如何完成从细胞信号传导、蛋白合成到代谢的转变[17],维持心肌细胞慢性缺氧代偿性适应,具体机制未完全研究清楚。许多研究显示IL-6-JAK-STAT3信号通路起着至关重要的作用。许多研究显示,IL-6-JAK-STAT3信号通路在心脏病理、生理方面具有保护作用[18]。而特异性过表达的STAT3则促进心脏向心性肥大[19]。之前我们的研究显示,在心肌慢性缺氧过程中,作为STAT3自身诱导调节因子,SOCS3参与调控的IL-6/JAK2/STAT3信号通路及NF-κB信号通路的交联作用对慢性缺氧条件下,心肌细胞的存活和功能调节有重要意义。

我们实验发现,在心肌慢性缺氧过程中,人心肌组织及大鼠H9C2心肌细胞中的miR-17-5p表达均增高。之前我们的实验证实,大鼠H9C2心肌细胞慢性缺氧过程中p-Tyr-705-STAT3、STAT3蛋白表达均随缺氧时间的延长,逐渐升高,后呈稳定表达状态,维持在高水平。本次实验中,我们通过脂质体转染antagomir miR-17-5p和agomir miR-17-5p至H9c2心肌细胞,成功过表达与干扰miR-17-5,发现心肌细胞缺氧过程中,过表达的miR-17-5p明显抑制p-Tyr-705-STAT3、STAT3蛋白表达,从而抑制心肌细胞的增殖,促进心肌细胞的凋亡。而沉默的miR-17-5p则并不增高p-Tyr-705-STAT3、STAT3蛋白表达,可能与心肌其他信号通路如SOCS3抑制STAT3有关。

通过本次实验我们推断,慢性缺氧心肌适应的机制中,细胞自我调节的信号稳态可以较好的维持心肌细胞活性,miR-17-5p表达增高,并通过和STAT3的3′UTR结合,调控STAT3及p-Tyr-705-STAT3的表达,从而调控STAT3信号通路,对心肌细胞凋亡、能量代谢、细胞重构起重要作用。过表达的miR-17-5p则打破信号平衡稳态,促进心肌凋亡。而沉默的miR-17-5p则并不抑制心肌细胞凋亡,促进心肌细胞增殖。

参考文献:

[1] Brand K, Page S, Walli A K, *et al*. Role of nuclear factor-kappa B in atherogenesis[J]. Exp Physiol, 1997, 82(2): 297-304.

[2] Ren X P, Wu J, Wang X, *et al*. MicroRNA-320 is involved in the regulation of cardiac ischemia/reperfusion injury by targeting heat-shock protein 20[J]. Circulation, 2009, 119(17): 2357-2366. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.108.814145

[3] Wang X, Zhang X, Ren X P, *et al*. MicroRNA-494 targeting both proapoptotic and antiapoptotic proteins protects against ischemia/reperfusion-induced cardiac injury[J]. Circulation, 2010, 122(13): 1308-1318. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.110.964684

[4] Pan Z, Sun X, Ren J, *et al*. miR-1 exacerbates cardiac ischemia-reperfusion injury in mouse models[J]. PLoS One, 2012, 7(11): e50515. DOI:10.1371/journal.pone.0050515

[5] Mogilyansky E, Rigoutsos I. The miR-17/92 cluster: a comprehensive update on its genomics, genetics, functions and increasingly important and numerous roles in health and disease[J]. Cell Death Differ, 2013, 20(12): 1603-1614.

[6] Zhou L, Qi R Q, Liu M, *et al*. MicroRNA miR-17-92 cluster is highly expressed in epidermal Langerhans cells but not

required for its development[J]. Genes Immun, 2014, 15(1): 57-61. DOI:10.1038/gene.2013.61

[7] Du W, Pan Z, Chen X, *et al*. By targeting Stat3 microRNA-17-5p promotes cardiomyocyte apoptosis in response to ischemia followed by reperfusion[J]. Cell Physiol Biochem, 2014, 34(3): 955-965. DOI:10.1159/000366312

[8] Baumjohann D, Kageyama R, Clingan J M, *et al*. The microRNA cluster miR-17/92 promotes TFH cell differentiation and represses subset-inappropriate gene expression[J]. Nat Immunol, 2013, 14(8): 840-848. DOI:10.1038/ni.2642

[9] Cox M B, Cairns M J, Gandhi K S, *et al*. MicroRNAs miR-17 and miR-20a inhibit T cell activation genes and are under-expressed in MS whole blood[J]. PLoS One, 2010, 5(8): e12132.

[10] Kang S G, Liu W H, Lu P, *et al*. MicroRNAs of the miR-17/92 family are critical regulators of T(FH) differentiation[J]. Nat Immunol, 2013, 14(8): 849-857. DOI:10.1038/ni.2648

[11] Shan S W, Lee D Y, Deng Z, *et al*. MicroRNA MiR-17 retards tissue growth and represses fibronectin expression[J]. Nat Cell Biol, 2009, 11(8): 1031-1038.

[12] Philippe L, Alsaleh G, Pichot A, *et al*. MiR-20a regulates ASK1 expression and TLR4-dependent cytokine release in rheumatoid fibroblast-like synoviocytes[J]. Ann Rheum Dis, 2013, 72(6): 1071-1079. DOI: 10.1136/annrheumdis-2012-201654

[13] Poitz D M, Augstein A, Gradehand C, *et al*. Regulation of the Hif-system by micro-RNA 17 and 20a - role during monocyte-to-macrophage differentiation[J]. Mol Immunol, 2013, 56(4): 442-451. DOI:10.1016/j.molimm.2013.06.014

[14] Ventura A, Young A G, Winslow M M, *et al*. Targeted deletion reveals essential and overlapping functions of the miR-17 through 92 family of miRNA clusters[J]. Cell, 2008, 132(5): 875-886.

[15] Zhang M, Liu Q, Mi S, *et al*. Both miR-17-5p and miR-20a alleviate suppressive potential of myeloid-derived suppressor cells by modulating STAT3 expression[J]. J Immunol, 2011, 186(8): 4716-4724.

[16] Essop M F. Cardiac metabolic adaptations in response to chronic hypoxia[J]. J Physiol, 2007, 584(Pt 3): 715-726.

[17] Heather LC, Cole M A, Tan J J, *et al*. Metabolic adaptation to chronic hypoxia in cardiac mitochondria[J]. Basic Res Cardiol, 2012, 107(3): 268. DOI:10.1007/s00395-012-0268-2

[18] Boengler K, Hilfiker-Kleiner D, Drexler H, *et al*. The myocardial JAK/STAT pathway: from protection to failure[J]. Pharmacol Ther, 2008, 120(2): 172-185. DOI:10.1016/j.pharmthera.2008.08.002

[19] Osugi T, Oshima Y, Fujio Y, *et al*. Cardiac-specific activation of signal transducer and activator of transcription 3 promotes vascular formation in the heart[J]. J Biol Chem, 2002, 277(8): 6676-6681.

(收稿:2015-07-28;修回:2015-11-02)

(编辑 栾 嘉)