

CTRP6 在心脏纤维化和内皮向间质转化中的作用研究

向家培 雷玉华

【摘要】 目的:探讨 CTRP6 在心肌纤维化和内皮向间质转化中的作用和机制。

方法:将雄性 C57BL/6J 小鼠随机分为对照组、心肌梗死组和治疗组。心肌梗死组和治疗组均采用冠状动脉左前降支结扎的方法建立小鼠心肌梗死模型,治疗组小鼠给予 0.2 mg/kg CTRP6 皮下注射(从术后第 3 天到第 28 天)。采用小动物超声检查心功能,病理染色检测心肌梗死面积,RT-PCR 检测纤维化和内皮间质转化相关因子的转录水平,免疫荧光染色检测内皮间质转化标志物。分离培养原代小鼠心脏微血管内皮细胞,将细胞随机分为以下 5 组:对照组、转化生长因子(TGF)- β 1 刺激组,治疗组 1(给予 TGF- β 1 + 1 μ g/mL CTRP6 处理),治疗组 2(给予 TGF- β 1 + 2 μ g/mL CTRP6 处理),治疗组 3(给予 TGF- β 1 + 4 μ g/mL CTRP6 处理)。**结果:**在心肌梗死模型建立 4 周后,治疗组小鼠死亡率明显低于心肌梗死组(40%对 60%, $P < 0.05$),梗死面积小于心肌梗死组[(48.7 \pm 3.2)%对(58.8 \pm 3.2)%, $P < 0.05$],左室射血分数,左室短轴缩短率明显高于心肌梗死组,左室舒张末期内径,左室收缩末期内径明显低于心肌梗死组(P 均 < 0.05);小鼠心脏胶原沉积,I 型胶原、III 型胶原和 TGF- β 的 mRNA 表达水平明显低于心肌梗死组(P 均 < 0.05)。免疫荧光染色显示治疗组心脏平滑肌肌动蛋白 α (α -SMA)表达低于心肌梗死组,内皮 CD31 蛋白表达高于心肌梗死组。治疗组心脏内皮间质转化标志物 snail1、snail2、twist1 和 twist2 的 mRNA 表达水平低于心肌梗死组(P 均 < 0.05)。细胞实验示 TGF- β 1 刺激组内皮细胞内皮间质转化明显增多,各 CTRP6 治疗组内皮间质转化明显减少。**结论:**CTRP6 通过抑制内皮向间质转化,减少心肌纤维化的发展。

【关键词】 CTRP6;心肌纤维化;内皮间质转化

doi:10.3969/j.issn.1673-6583.2020.05.011

The effect of CTRP6 on cardiac fibrosis and endothelial-to-mesenchymal transition XIANG Jiapei, LEI Yuhua Department of Cardiology, Central Hospital of Enshi Tujia and Miao Autonomous Prefecture, Hubei 445000, China

【Abstract】 Objective: To explore the role and mechanism of CTRP6 in myocardial fibrosis and endothelial-to-mesenchymal transition (EndMT). **Methods:** C57BL/6J male mice were randomly divided into three groups: control group, myocardial infarction group and treatment group. The model of myocardial infarction in mice was established by ligation of left anterior descending coronary artery. Mice in the treatment group were injected subcutaneously with 0.2 mg/kg CTRP6 (from the 3rd day to the 25th day after operation). Ultrasound was used to detect cardiac function. Pathological staining was used to detect myocardial infarct area. Quantitative real-time PCR (qRT-PCR) was used to detect the expression level of fibrosis and EndMT markers. Immunofluorescence staining was used to detect EndMT markers. Primary mouse cardiac microvascular endothelial cells were isolated and cultured. The cells were randomly divided into the following five groups: control group, transforming growth factor- β 1 (TGF- β 1) stimulation group, treatment group 1 (dealt with TGF- β 1 and 1 μ g/mL CTRP6), treatment

group 2 (dealt with TGF- β 1 and 2 μ g/mL CTRP6), and treatment group 3 (dealt with TGF- β 1 and 4 μ g/mL CTRP6). **Results:** Four weeks after successful modeling, the mortality rate of mice in the treatment group was significantly lower than that in the myocardial infarction group (40% vs. 60%, $P < 0.05$), with less infarct area [(48.7 \pm 3.2)% vs. (58.8 \pm 3.2)%, $P < 0.05$]. Left ventricular ejection fraction and the left ventricular fractional shortening in the treatment group were significantly higher than those in the myocardial infarction group, while left ventricular end-diastolic diameter and left ventricular end-systolic diameter in the treatment group were significantly lower than those in the myocardial infarction group (all $P < 0.05$). Level of collagen deposition in treatment group was significantly lower than that in myocardial infarction group ($P < 0.05$). The mRNA expression levels of collagen type I, collagen type III and TGF- β in treatment group were lower than those of myocardial infarction group (all $P < 0.05$). Immunofluorescence staining showed that the expression of α -smooth muscle actin was lower and CD31 was higher in treatment group than those in myocardial infarction group. The mRNA expression levels of snail1, snail2, twist1 and twist2 were lower in treatment group than those in myocardial infarction group (all $P < 0.05$). **Conclusions:** CTRP6 can slow down the progression of myocardial fibrosis by inhibiting the EndMT.

【Key words】 CTRP6; Cardiac fibrosis; Endothelial-to-mesenchymal transition

心肌纤维化是心脏在多种刺激因素下的适应性反应^[1]。心肌梗死发生后,心肌纤维化过程立即启动,大量死亡的心肌细胞被激活的成纤维细胞替代,胶原瘢痕形成,保证了心脏组织的完整性^[2]。心肌梗死早期纤维化瘢痕形成有助于心肌梗死患者渡过危险期,此时若纤维化不足可导致心脏破裂,患者死亡^[3]。心肌梗死后期,大量的心肌纤维化会使室壁压力增加,单个心肌细胞所承受的压力增大,室壁僵硬增加,若此时纤维化持续发生将引起心力衰竭(心衰)^[4-5]。在心脏纤维化过程中,除了心脏固有的成纤维细胞发挥作用外,大量其他来源的成纤维细胞也发挥重要作用,其中内皮向间质转化占主导作用。研究阻断纤维化以及内皮向间质转化的药物,对减少心肌梗死后心衰的患病率和病死率有重要意义。

CTRP6 是一类与脂联素同源的脂肪因子^[6],在心血管疾病中发挥一定作用^[7]。研究发现,CTRP6 可以保护自发性高血压大鼠的内皮细胞,从而抑制高血压的病理过程^[8]。然而 CTRP6 在心肌纤维化尤其是内皮向间质转化中的作用尚无研究报道。本研究采用人重组 CTRP6 治疗小鼠心肌梗死后心脏纤维化,以此来探寻治疗心肌纤维化的新方法。

1 材料与方法

1.1 实验动物

将购买于南京医科大学实验室动物中心的雄性 C57BL/6J 小鼠(8~10 周龄,SPF 级,体质量 24~27 g)采用随机数字表法完全随机分为对照组($n=10$)、心肌梗死组($n=20$)和治疗组($n=20$)。

1.2 心肌梗死模型制备

采用冠状动脉左前降支结扎术建立心肌梗死模型。用 3%戊巴比妥钠腹腔注射麻醉小鼠,在胸骨左缘纵行切开皮肤 1.5 cm,暴露心脏,在左心耳下缘 2~3 mm 处用 8-0 聚丙烯缝线结扎冠状动脉,心电图 ST 段抬高确定心肌缺血形成。迅速将心脏送回胸腔,缝合胸壁。治疗组在心肌梗死手术后第 3 天开始给予皮下注射人重组 CTRP6 (0.2 mg/kg),直至术后第 28 天。

1.3 超声心动图检测

使用高频率超声系统 Vevo 2100 (加拿大 VisualSonics 公司)检测小鼠心脏功能。M 型短轴二维超声心动图测量左室收缩末期内径(LVESD)、左室舒张末期内径(LVEDD)、左室射血分数(LVEF)、左室短轴缩短率(LVFS)。

1.4 病理染色

小鼠断椎处死,取心脏置于中性福尔马林中固定,脱水石蜡包埋后制作成厚度为 3 μ m 的组织切片,苏木精-伊红(HE)染色后计算心肌梗死面积和细胞横截面积,采用天狼猩红(PSR)染色显示胶原沉积程度。每个心脏选取位置大致相同的心室截面,用 ImageJ 软件计算心肌梗死面积、细胞横截面积和胶原容积分数。心肌梗死阳性面积百分率 = 心肌梗死阳性面积/检测视野面积 $\times 100\%$,取各组阳性面积百分率平均值。

1.5 原代小鼠心脏微血管内皮细胞提取

取 6~8 周小鼠心脏,去除右心室,将心脏剪成 1 mm³ 的小块,采用 0.125%的胰酶消化,过滤后取上清,离心细胞悬液,用含 10%胎牛血清的 DMEM-

F12 重悬细胞,采用 CD31 磁珠分选内皮细胞,得到的内皮细胞接种于包埋明胶的培养板中。

1.6 细胞处理

将内皮细胞分为 5 组:转化生长因子(TGF)-β1 刺激组,给予 TGF-β1(10 ng/mL,溶于 0.1%BSA)处理 48 h;治疗组 1,TGF-β1 处理后的 12 h 同时给予 1 μg/mL CTRP6;治疗组 2,TGF-β1 处理后的 12 h同时给予 2 μg/mL CTRP6;治疗组 3,TGF-β1 处理后的 12 h 同时给予 4 μg/mL CTRP6;对照组,给予等体积的 0.1%BSA 溶液处理 48 h。

1.7 实时荧光定量聚合酶链反应(RT-qPCR)检测 RT-qPCR 检测小鼠心脏中I型胶原、III型胶原、TGF-β1 和内皮细胞中 snail1、snail2、twist1、twist2 的 mRNA 表达水平。TRIzol(Invitrogen 公司)提取心脏梗死远端区的总 RNA,反转录试剂盒(Roche 公司)将总 RNA 逆转录为 cDNA。利用 LightCycler 480 SYBR Green 荧光定量 PCR 仪进行 PCR 反应。采用 LightCycler 480 SYBR®Green 1 Master Mix 体系进行 PCR 扩增:95 ℃变性 5 min;95 ℃ 10 s,60 ℃ 20 s,72 ℃ 20 s,共 42 个循环。PCR 结果使用双重标准化曲线量化,以 β-actin 的 mRNA 表达进行校准。

1.8 细胞免疫荧光染色

细胞处理后采用 4%多聚甲醛进行固定,采用 0.02% TritonX-100 进行破膜,8%羊血清封闭后,抗 CD31 抗体和抗平滑肌肌动蛋白 α(α-SMA)抗体孵育 1 h,采用荧光二抗进行标记,DAPI 对细胞核进行染色,荧光显微镜拍照。

1.9 统计学分析

使用 SPSS 17.0 软件进行统计学分析,计数资

料以例数或百分比表示,组间比较采用卡方检验。计量资料数据用均数 ± 标准差表示,正态检验及方差齐性检验后,两组之间的比较用非配对 *t* 检验或 Mann-Whitney 检验,多组之间的比较用单因素方差分析或非参数检验。采用 Kaplan-Meier 法绘制生存曲线图。*P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 CTRP6 降低小鼠心肌梗死死亡率和梗死面积,改善心功能

采用 Kaplan-Meier 法绘制生存曲线图,可见治疗组小鼠死亡率显著低于心肌梗死组(40%对 60%,*P* < 0.05),见图 1。病理染色示治疗组小鼠梗死面积明显低于心肌梗死组(*P* < 0.05)。治疗组小鼠心功能明显优于心肌梗死组:LVEF 和 LVFS 明显高于心肌梗死组,LVEDD 和 LVESD 明显低于心肌梗死组(*P* 均 < 0.05),见表 1。

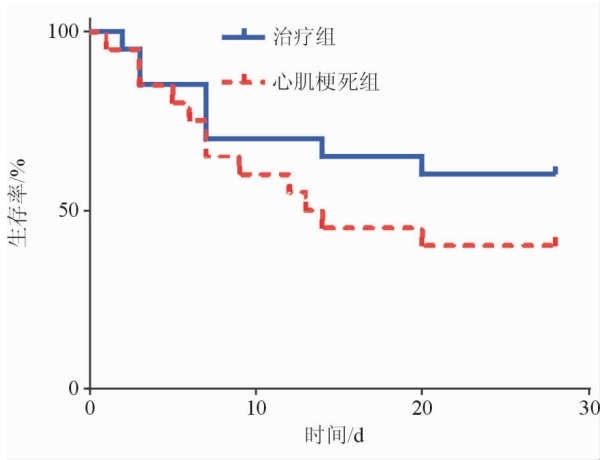


图 1 心肌梗死后 28 d 两组小鼠的死亡率曲线

表 1 各组小鼠心肌梗死面积和心功能比较

组别	心肌梗死面积/%	LVEF/%	LVFS/%	LVEDD/mm	LVESD/mm
对照组	—	56.5 ± 2.6	32.8 ± 2.5	3.20 ± 0.23	2.76 ± 0.32
心肌梗死组	58.8 ± 3.2	37.6 ± 3.2	17.3 ± 4.3	5.23 ± 0.43	4.89 ± 0.35
治疗组	48.7 ± 3.2 ⁽¹⁾	45.3 ± 3.5 ⁽¹⁾	21.5 ± 2.1 ⁽¹⁾	4.56 ± 0.31 ⁽¹⁾	3.45 ± 0.21 ⁽¹⁾
<i>F</i> 值	14.35	17.76	14.54	9.87	9.23
<i>P</i> 值	<0.001	<0.001	<0.001	0.01	0.01

注:与心肌梗死组相比,⁽¹⁾*P* < 0.05

2.2 CTRP6 减少心肌纤维化和纤维化相关基因的转录

天狼星红染色提示治疗组小鼠心脏胶原沉积明显低于心肌梗死组(*P* 均 < 0.05)。实时定量

PCR 结果显示,治疗组小鼠心脏 I 型胶原、III 型胶原和 TGF-β1 的 mRNA 表达水平低于心肌梗死组(*P* 均 < 0.05),见表 2。

表 2 各组小鼠心肌胶原蛋白沉积及心脏纤维化标志物 mRNA 水平比较

组别	胶原沉积/%	I 型胶原	Ⅲ型胶原	TGF-β1
对照组	2.30±0.23	1.00±0.04	1.00±0.05	1.00±0.03
心肌梗死组	9.75±0.54	16.40±0.05	12.30±0.07	4.23±0.01
治疗组	6.53±0.46 ⁽¹⁾	8.70±0.03 ⁽¹⁾	7.86±0.06 ⁽¹⁾	2.23±0.04 ⁽¹⁾
F 值	21.34	23.24	22.12	15.67
P 值	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

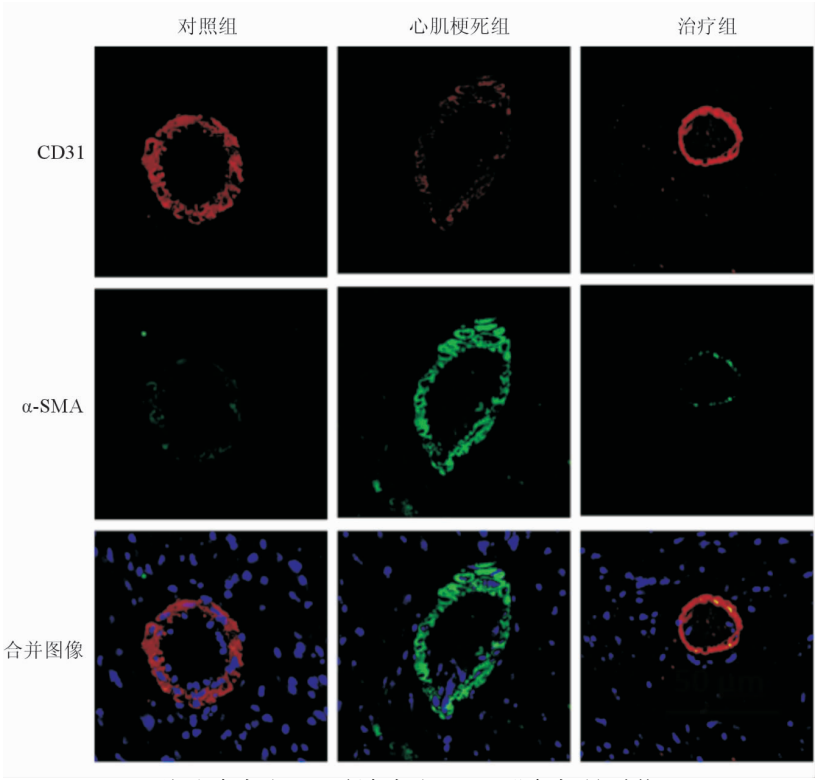
注:与心肌梗死组相比,⁽¹⁾P<0.05

2.3 CTRP6 减少内皮向间质转化

CD31 和 α-SMA 免疫荧光双染色结果显示,与对照组相比,心肌梗死组小鼠心脏组织微血管 CD31 表达减少,而 α-SMA 表达增多;治疗组小鼠心脏组织微血管 CD31 表达高于心肌梗死组,而 α-SMA 表达低于心肌梗死组,见图 2。

采用 qRT-PCR 检测内皮向间质转化标志物

snail1、snail2、twist1 和 twist2 的 mRNA 表达水平,结果显示心肌梗死组小鼠心脏组织 snail1、snail2、twist1 和 twist2 的 mRNA 表达水平均明显高于对照组(P 均<0.05);治疗组中小鼠心脏组织 snail1、snail2、twist1 和 twist2 的 mRNA 表达水平均明显低于心肌梗死组(P 均<0.05),见表 3。



注:红色表示 CD31,绿色表示 α-SMA,蓝色表示细胞核

图 2 各组小鼠心脏组织 CD31 和 α-SMA 免疫荧光双染色(×200)

表 3 各组小鼠心脏组织内皮间质转化标志物 mRNA 水平比较

组别	snail1	snail2	twist1	twist2
对照组	1.00±0.04	1.00±0.07	1.00±0.09	1.00±0.10
心肌梗死组	8.21±0.09	6.45±0.10	8.76±0.08	9.07±0.11
治疗组	3.23±0.04 ⁽¹⁾	4.65±0.09 ⁽¹⁾	2.87±0.11 ⁽¹⁾	2.76±0.10 ⁽¹⁾
F 值	15.45	12.34	25.45	25.87
P 值	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注:与心肌梗死组相比,⁽¹⁾P<0.05

2.4 CTRP6 对微血管内皮细胞的影响

CD31 和 α -SMA 免疫荧光双染色结果显示, TGF- β 1 刺激组细胞 CD31 的表达低于对照组, α -SMA 的表达高于对照组。治疗组 1、治疗组 2 和治疗组 3 细胞 CD31 的表达均明显高于 TGF- β 1 刺激组, α -SMA 的表达均低于 TGF- β 1 刺激组, 见图 3。

采用 RT-PCR 检测内皮向间质转化标志物的 mRNA 表达水平, 可见 TGF- β 1 刺激组细胞 snail1、snail2、twist1 和 twist2 的 mRNA 表达水平均明显高于对照组, 治疗组 1、治疗组 2 和治疗组 3 细胞 snail1、snail2、twist1 和 twist2 的 mRNA 表达水平均明显低于 TGF- β 1 刺激组 (P 均 <0.05), 见表 4。

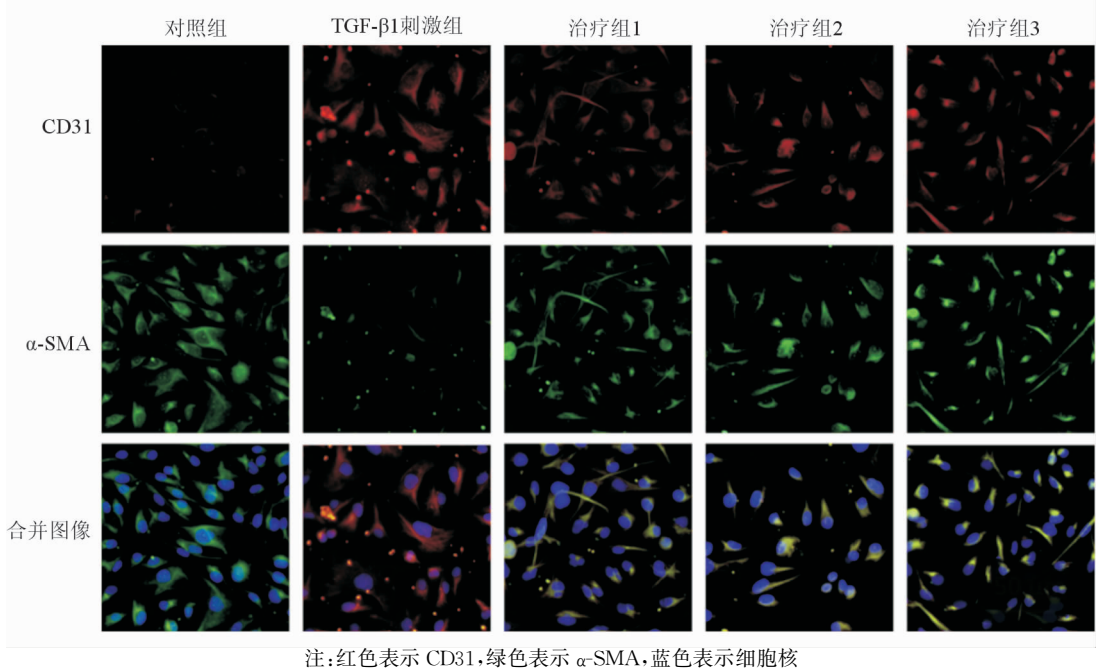


图 3 各处理组心脏微血管内皮细胞 CD31 和 α -SMA 免疫荧光双染色 ($\times 200$)

表 4 各处理组心脏微血管内皮细胞内皮间质转化标志物 mRNA 水平比较				
组别	snail1	snail2	twist1	twist2
对照组	1.00 \pm 0.04	1.00 \pm 0.07	1.00 \pm 0.09	1.00 \pm 0.10
TGF- β 1 刺激组	3.42 \pm 0.05	3.11 \pm 0.03	2.89 \pm 0.02	3.02 \pm 0.06
治疗组 1	2.54 \pm 0.02 ⁽¹⁾	2.12 \pm 0.08 ⁽¹⁾	2.09 \pm 0.05 ⁽¹⁾	2.34 \pm 0.08 ⁽¹⁾
治疗组 2	2.12 \pm 0.03 ⁽¹⁾	1.78 \pm 0.06 ⁽¹⁾	1.77 \pm 0.05 ⁽¹⁾	1.56 \pm 0.09 ⁽¹⁾
治疗组 3	1.67 \pm 0.06 ⁽¹⁾	1.44 \pm 0.08 ⁽¹⁾	1.34 \pm 0.03 ⁽¹⁾	1.54 \pm 0.05 ⁽¹⁾
F 值	14.32	11.71	14.63	13.74
P 值	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注:与 TGF- β 1 刺激组相比, ⁽¹⁾ $P < 0.05$

3 讨论

心衰是多种心血管疾病的终末病理状态,以间质纤维化、心室壁顺应性降低、心室重构为主要特征。急性心肌梗死后存活的患者多会发展为心衰。在心肌梗死发展为心衰的病理过程中,心脏成纤维细胞大量激活,促进细胞外基质沉积,降低心脏组织顺应性,加速心衰的发生^[4-5]。多种细胞参与心肌纤维化的发生发展,包括心脏成纤维细胞、内皮细胞、造血干细胞等,其中内皮细胞向间质细胞转

化在心肌纤维化中发挥重要作用^[9-10]。多项研究发现抑制内皮间质转化可以抑制心肌纤维化的发展^[11-13]。本研究发现,人重组脂肪因子 CTRP6 能够减小心肌梗死面积,减少心肌梗死后的心肌纤维化水平,从而改善心肌梗死后心功能。我们发现 CTRP6 通过减少内皮间质转化抑制心肌梗死后心肌纤维的发展,离体实验进一步发现 CTRP6 直接作用于内皮细胞,抑制 TGF- β 1 诱导的内皮间质转化。

内皮细胞失去内皮标志物(如 CD31、CD34),获得间充质或肌纤维母细胞表型,表达间质细胞产物(如 α -SMA 和 I 型胶原),获得浸润性生长以及迁徙能力,这一过程称为内皮间质转化^[14]。内皮间质转化参与多种疾病的发生,如肿瘤的侵袭转移、肿瘤恶变以及心肌纤维化^[11]。研究发现在压力负荷诱导的心肌重构中,有 27%~33% 的成纤维细胞来源于发生内皮间质转化的内皮细胞,这促进了心肌纤维化的发生发展^[15]。抑制内皮间质转化可以缓解多种疾病状态下的心肌纤维化和心脏重构^[11-13]。Liu 等^[12]发现柴胡皂甙 A 通过抑制内皮间质转化减轻压力超负荷诱导的心肌纤维化。Wang 等^[11]发现微小 RNA(miRNA)-222 通过抑制内皮间质转化减轻糖尿病心病的心肌纤维化。Zhang 等^[16]发现色素上皮衍生因子通过抑制内皮间质转化减轻急性心肌梗死大鼠心肌纤维化。因此抑制内皮间质转化可能是治疗心血管疾病心肌纤维化的靶点。CTRP6 主要来源于脂肪细胞和内皮细胞^[6],可以抑制多种刺激因素引起的高血压病理进程^[8]。CTRP6 缺失可导致小鼠胰岛素抵抗和炎症反应^[17]。本研究发现,CTRP6 能够减少心肌梗死面积,减轻梗死后的心肌纤维化,改善心功能,而 CTRP6 是通过减少内皮间质转化发挥抗纤维化作用的。

心肌梗死后,损伤的心肌细胞通过分泌损伤相关分子促进多种炎症因子和促纤维化因子大量释放,其中 TGF- β 1 是最强的致纤维化因子之一^[18]。TGF- β 1 可以直接激活纤维化相关基因的转录,包括 I 型胶原、III 型胶原、纤维连接蛋白、结缔组织生长因子等,直接参与纤维化过程^[18]。此外,TGF- β 1 可以结合内皮细胞表面的 TGF- β 1 受体,通过 Smad 和非 Smad 通路促进内皮间质转化基因 snail1、snail1、twist1 和 twist2 的转录,这些基因可促进内皮细胞高表达间质标志物 α -SMA 和波形蛋白,同时减少内皮标志物 CD31 的表达^[19]。本研究发现,在心肌梗死后心肌纤维化的过程中,内皮间质转化明显增加;人重组 CTRP6 可以通过直接作用于内皮细胞,抑制 TGF- β 1 诱导的内皮向间质转化,减少心肌纤维化的发展,这提示 CTRP6 通过抑制 TGF- β 1 诱导的内皮向间质转化,发挥心脏保护作用。

参 考 文 献

[1] Ong SB, Hernández-Reséndiz S, Crespo-Avilan GE, et al.

- Inflammation following acute myocardial infarction: multiple players, dynamic roles, and novel therapeutic opportunities[J]. *Pharmacol Ther*, 2018, 186:73-87.
- [2] Nielsen SH, Mouton AJ, Deleon-Pennell KY, et al. Understanding cardiac extracellular matrix remodeling to develop biomarkers of myocardial infarction outcomes[J]. *Matrix Biol*, 2019, 75/76:43-57.
- [3] Schirone L, Forte M, Palmerio S, et al. A review of the molecular mechanisms underlying the development and progression of cardiac remodeling[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2017, 2017:3920195.
- [4] Bhatt AS, Ambrosy AP, Velazquez EJ. Adverse remodeling and reverse remodeling after myocardial infarction[J]. *Curr Cardiol Rep*, 2017, 19(8):71.
- [5] Frangogiannis NG. The extracellular matrix in myocardial injury, repair, and remodeling[J]. *J Clin Invest*, 2017, 127(5):1600-1612.
- [6] Bai B, Ban B, Liu Z, et al. Circulating C1q complement/TNF-related protein (CTRP) 1, CTRP9, CTRP12 and CTRP13 concentrations in type 2 diabetes mellitus: in vivo regulation by glucose [J]. *PLoS One*, 2017, 12(2):e0172271.
- [7] Wang W, Lau WB, Wang Y, et al. Reduction of CTRP9, a novel anti-platelet adipokine, contributes to abnormal platelet activity in diabetic animals[J]. *Cardiovasc Diabetol*, 2016, 15:6.
- [8] Su H, Yuan Y, Wang XM, et al. Inhibition of CTRP9, a novel and cardiac-abundantly expressed cell survival molecule, by TNF α -initiated oxidative signaling contributes to exacerbated cardiac injury in diabetic mice[J]. *Basic Res Cardiol*, 2013, 108(1):315.
- [9] Sun X, Nkenkor B, Mastikhina O, et al. Endothelium-mediated contributions to fibrosis[J]. *Semin Cell Dev Biol*, 2020, 101:78-86.
- [10] Zhang M, Weng H, Zheng J. NAD⁺ repletion inhibits the endothelial-to-mesenchymal transition induced by TGF- β in endothelial cells through improving mitochondrial unfolded protein response [J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2019, 117:105635.
- [11] Wang Z, Wang Z, Gao L, et al. miR-222 inhibits cardiac fibrosis in diabetic mice heart via regulating Wnt/ β -catenin-mediated endothelium to mesenchymal transition[J]. *J Cell Physiol*, 2020, 235(3):2149-2160.
- [12] Liu Y, Gao L, Zhao X, et al. Saikosaponin A protects from pressure overload-induced cardiac fibrosis via inhibiting fibroblast activation or endothelial cell EndMT[J]. *Int J Biol Sci*, 2018, 14(13):1923-1934.
- [13] Li Q, Yao Y, Shi S, et al. Inhibition of miR-21 alleviated cardiac perivascular fibrosis via repressing EndMT in T1DM[J]. *J Cell Mol Med*, 2020, 24(1):910-920.
- [14] Hulshoff MS, Del Monte-Nieto G, Kovacic J, et al. Non-coding RNA in endothelial-to-mesenchymal transition[J].

Cardiovasc Res, 2019, 115(12):1716-1731.

- [15] Chen X, Ge W, Hu J, et al. Inhibition of prostaglandin E2 receptor 4 by lnc000908 to promote the endothelial-mesenchymal transition participation in cardiac remodelling[J]. J Cell Mol Med, 2019, 23(9):6355-6367.
- [16] Zhang H, Hui H, Li Z, et al. Pigment epithelium-derived factor attenuates myocardial fibrosis via inhibiting endothelial-to-mesenchymal transition in rats with acute myocardial infarction[J]. Sci Rep, 2017, 7:41932.
- [17] Peterson JM, Wei Z, Seldin MM, et al. CTRP9 transgenic mice are protected from diet-induced obesity and metabolic

dysfunction[J]. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol, 2013, 305(5):R522-R533.

- [18] Khalil H, Kanisicak O, Prasad V, et al. Fibroblast-specific TGF- β -Smad2/3 signaling underlies cardiac fibrosis[J]. J Clin Invest, 2017, 127(10):3770-3783.
- [19] Pardali E, Sanchez-Duffhues G, Gomez-Puerto MC, et al. TGF- β -induced endothelial-mesenchymal transition in fibrotic diseases[J]. Int J Mol Sci, 2017, 18(10):2157.

(收稿:2020-01-06 修回:2020-06-07)

(本文编辑:胡晓静)

**To cure sometimes,
to relieve often,
to comfort always.**

—Edward Livingston Trudeau

有时，去治愈，
常常，去帮助，
总是，去安慰。

——爱德华·利文斯顿·特鲁多

