DOI: 10.14188/j.1671-8852.2025.0956 **文章编号** 1671-8852(2025)11-1381-07

CTRP9通过抑制内皮细胞向间质转化改善糖尿病诱导的心脏纤维化

李 威 贺立群 张 帆
武汉市第一医院心内科 湖北 武汉 430022

摘要 目的：研究C1q/肿瘤坏死因子相关蛋白-9(CTRP9)在糖尿病诱导的内皮-间质转化(EndMT)中的潜在作用和机制。方法：将实验小鼠随机分为4组(Control、DM、Ad-GFP+DM、Ad-CTRP9+DM)，在相应组16周龄小鼠尾静脉注射Ad-CTRP9(1×10^9 pfu)或Ad-GFP(1×10^9 pfu)，首次腺病毒注射4周后进行心脏超声检测，在20周龄时麻醉处死小鼠，获取小鼠心脏组织、Masson染色、免疫组化染色。通过蛋白印迹法(Western Blot)、定量实时PCR(RT-PCR)检测EndMT相关标志物(CD31、α-SMA、FSP1、Collagen Ⅰ、Collagen Ⅲ、TGF-β1、CTGF)。结果：糖尿病小鼠血浆中CTRP9表达水平有所下降，高血糖促进EndMT的进展并加重了体内胶原沉积，而CTRP9过表达后能改善这一过程，且不影响糖尿病小鼠的心脏功能。结论：CTRP9能减轻糖尿病诱导的EndMT。

关键词 CTRP9；糖尿病；内皮-间质转化；纤维化
中图分类号 R541.4
文献标识码 A **开放科学(资源服务)标识码(OSID)：**

CTRP9 improves diabetes-induced cardiac fibrosis by inhibiting endothelial-to-mesenchymal transition

LI Wei, HE Liqun, ZHANG Fan
Department of Cardiology, Wuhan No. 1 Hospital, Wuhan 430022, Hubei, China

Abstract

Objective: To investigate the potential role and mechanism of C1q/tumor necrosis factor-related protein-9 (CTRP9) in diabetes-induced endothelial-mesenchymal transition (EndMT). **Methods:** The experimental mice were randomly divided into four groups (Control, DM, Ad-GFP+DM, and Ad-CTRP9+DM). At 16 weeks of age, the mice were injected with Ad-CTRP9 (1×10^9 pfu) or Ad-GFP (1×10^9 pfu) via the tail vein. Four weeks after the first adenovirus injection, a cardiac ultrasound was performed. Then, the mice were anesthetized and sacrificed at the age of 20 weeks. The heart tissues were obtained for Masson staining and immunohistochemical staining. The EndMT-related markers (CD31, α-SMA, FSP1, Collagen Ⅰ, Collagen Ⅲ, TGF-β1, and CTGF) were detected by Western Blot and quantitative real-time PCR (RT-PCR). **Results:** The plasma level of CTRP9 was decreased in diabetic mice. Hyperglycemia promoted endothelial-to-mesenchymal transition (EndMT) and exacerbated collagen deposition *in vivo*, whereas CTRP9 overexpression attenuated these effects without influencing cardiac function in diabetic mice. **Conclusion:** The CTRP9 can

课题来源：湖北省卫生健康委科研项目(编号：WJ2023F043)
作者简介：李威，男，1992—，医学硕士，主要从事冠心病的发生发展及机制研究，E-mail:8869363054@qq.com
通信作者：张帆，男，1978—，医学硕士，副主任医师，主要从事心血管疾病的研究，E-mail:13720277068@126.com

alleviate diabetes-induced EndMT.

Key Words CTRP9; Diabetes Mellitus; Endothelial-Mesenchymal Transition; Fibrosis

糖尿病(diabetes mellitus,DM)与心脏纤维化(cardiac fibrosis,CF)相关,并独立于冠状动脉疾病、高血压和动脉粥样硬化增加心肌病的风险,这些因素可能降低心肌顺应性,导致心力衰竭的发生,而CF是心力衰竭(heart failure,HF)患者发病率和死亡率的独立预测因子[1]。糖尿病心肌病(diabetic cardiomyopathy,DCM)是世界范围内心衰的主要原因。大多数研究[2]集中在氧化应激在DCM进展中的作用,而CF被低估了。

最近,除了心脏间质纤维化,新出现的证据[1,3]表明DCM与内皮-间质转化(endothelial-mesenchymal transition,EndMT)明显相关。EndMT是一个以内皮细胞CD31、血管内皮(vascular endothelial,VE)-cadherin等标志蛋白失去表达,获得α-平滑肌肌动蛋白(alpha-smooth muscle actin,α-SMA)和成纤维细胞特异性蛋白1(ferroptosis suppressor protein 1,FSP1)等间充质表型特异性标志物,并伴有细胞形态改变为特征的过程[4]。众所周知,EndMT有助于CF的进展[5]。过多的CF是导致心功能障碍发病的基本机制。糖尿病后减少EndMT可能是一种更有效的治疗方法,可以降低DCM患者HF的风险[6]。

C1q/肿瘤坏死因子相关蛋白-9(C1q/tumor necrosis factor-related protein-9,CTRP9)作为一种分泌的糖蛋白,是一种新的高度保守的脂联素类似物,在心脏中,特别是在心脏内皮细胞中大量表达[7]。糖尿病小鼠心脏CTRP9表达显著降低,CTRP9过表达可显著下调血清葡萄糖水平[8-9]。同时,CTRP9治疗可通过PKA途径显著抑制心肌梗死(myocardial infarction,MI)后间质纤维化[10]。然而,也有相互矛盾的观点[7,11]认为CTRP9激活的信号分子ERK1/2和ERK5具有促纤维化作用。鉴于这些证据,CTRP9是否通过调节EndMT影响糖尿病小鼠心脏纤维化仍有待进一步研究。

因此,在本研究中,我们研究了CTRP9在预防糖尿病小鼠心脏中EndMT的作用。

1 材料与方法

1.1 实验动物模型与分组 过表达CTRP9的纯化腺病毒(Ad-CTRP9,NM_183175)和对照病毒(Ad-GFP)均购自上海Genechem有限公司。转染前,将腺病毒稀释至各实验组指定剂量。既往研究[3,12]将db/db糖尿病小鼠作为心脏和肾脏EndMT的理想疾病模型,本研究基于此以db/db糖尿病小鼠作为本实验的研究对象。C57BL/Ks基因的雄性db/db小鼠和C57BL/Ks基因的对照小鼠均购自南京大学南京生物医学研究所,实验程序符合美国国立卫生研究院发布的《实验动物护理和使用指南》(第8版,NRC 2011),并通过武汉大学实验动物中心伦理要求批准(伦理编号:WDRM20240211)。将对照组和db/db小鼠(DM)随机分为4组(Control、DM、Ad-GFP+DM、Ad-CTRP9+DM),在相应组16周龄小鼠尾静脉注射Ad-CTRP9(1×10^9 pfu)或Ad-GFP(1×10^9 pfu),根据以往研究[13],第1次注射腺病毒2周后重复腺病毒转移。首次腺病毒注射4周后,这些小鼠被麻醉,然后在20周龄时处死。

1.2 超声心动图 在2%异氟醚麻醉下测量心室内径和心功能,超声心动图使用MyLab 30CV成像系统(Biosound Esaote, Inc.,意大利)和10 mHz探头以二维M模式分别测量室间隔厚度(IVSd)、左室后壁厚度(LVPWd)、左室收缩末期内径(LVDs)、左室舒张末期内径(LVDd)、左室射血分数(LVEF)、缩短分数(FS)。

1.3 组织学和免疫组织化学 小鼠心脏用4%多聚甲醛固定,组织样品包埋在石蜡中,然后切成4 μm切片,心脏切片用Masson三色染色和天狼星红染色检查血管和血管周围胶原沉积的阳性区域比例,免疫组织化学染色(immunohistochemistry,IHC)检测心肌组织中淋巴细胞、巨噬细胞、中性粒细胞的浸润情况。每只小鼠处理了三个切片进行组织学分析。在每个样品的5个随机选择的视野中测量纤维化区域,并使用Image-Pro Plus 6.0软件进行分析。

1.4 羟脯氨酸分析 通过羟脯氨酸测定法测定心脏左心室组织的胶原含量,左心室心肌组织在110 ℃烘箱中干燥48 h,向每个样品中加入2 mL、6 mol·L^{-1} HCl,在110 ℃下干燥24 h,每个样品用2 mL PBS重新溶解,并将pH调整至6.0,上清液使用ELISA试剂盒(F15649;Westang Bio-Tech,上海)检测羟脯氨酸,通过557 nm波长的光密度(*OD*)值测定标准品和样品,并计算羟脯氨酸水平。

1.5 定量实时PCR RNA分离和RT-PCR按照

文献[14]描述的方案进行，使用 TRIzol 试剂（15596-026，Invitrogen™，美国）提取总 RNA，并使用 M-MLV 逆转录酶（EQ002，Elkbiotech，武汉）根据制造商的说明从总 RNA 合成第一链 cDNA。RT-PCR 在 StepOne™实时 PCR 检测系统（Invitrogen™，美国）上使用 SYBR Premix Ex Taq Ⅱ（TaKaRa，日本）和特定引物（表 1）进行。

表 1　定量实时 PCR 引物

Gene name	Forward Sequence(5′—3′)	Reverse Sequence(5′—3′)
h-CD31	ACCAAGATAGCCTCAAAGTCGG	TAAGAAATCCTGGGCTGGGAG
h-VE-cadherin	AAGGACATAACACCACGAAACG	GAGATGACCACGGGTAGGAAG
h-α-SMA	CTATGCCTCTGGACGCACAAC	CCCATCAGGCAACTCGTAACTC
h-FSP1	GGTGTCCACCTTCCACAAGTAC	TCCTGGGCTGCTTATCTGG
h-Collagen Ⅰ	AAGACAGTGATTGAATACAAAACCAC	GGGAGTTTACAGGAAGCAGACAG
h-Collagen Ⅲ	CAAGGCTGAAGGAAATAGCAAA	TCTCACAGCCTTGCGTGTTC
h-TGF-β1	CAGCAACAATTCCTGGCGATA	GCTAAGGCGAAAGCCCTCAAT
h-CTGF	TCTTCGGTGGTACGGTGTACC	AACGTGTCTTCCAGTCGGTAAG
h-β-actin	GTCCACCGCAAATGCTTCTA	TGCTGTCACCTTCACCGTTC
m-CD31	ATTTCAGCAAGATCGCCGAG	TTGCTGGGTCATTGGAGGTC
m-VE-cadherin	CGGTCAAGTATGGGCAGTTTA	CTCCTCACAGAAGGTGAACTCG
m-α-SMA	CTGCCGAGCGTGAGATTGT	TGATGCTGTTATAGGTGGTTTCG
m-FSP1	GGTGTAGTTTGCCAGTGGGGG	TGCGAAGAAGCCAGAGTAAGGC
m-Collagen Ⅰ	CTGACTGGAAGAGCGGAGAG	CGGCTGAGTAGGGAACACAC
m-Collagen Ⅲ	CTCAAGAGTGGAGAATACTGGGTT	GGTATGTAATGTTCTGGGAGGC
m-TGF-β1	AGAGCCCTGGATACCAACTATTG	TGCGACCCACGTAGTAGACG
m-CTGF	TGTTCTAAGACCTGTGGGATGG	CCGCAGAACTTAGCCCTGTAT
m-β-actin	CTGAGAGGGAAATCGTGCGT	CCACAGGATTCCATACCCAAGA

1.6　Western Blot　Western Blot 分析按照前述方法[14]进行，冷冻的心脏组织和培养的细胞在含有蛋白酶抑制剂 PMSF（AS1006，ASPEN，武汉）的 RIPA 裂解缓冲液（AS1004，ASPEN，武汉）中裂解，细胞裂解物和匀浆在 4 ℃下以 12 000 *g* 离心 5 min，收集上清液，－80 ℃储存以备进一步分析。等量蛋白质（50 μg）通过 10% SDS-PAGE（AS1012，ASPEN）分离，并转移到 PVDF 膜（IPVH00010，Millipore，美国）上。在封闭和洗涤后，使用针对 TGF-β1（1∶1 000）、CTGF（1∶1 000）、CD31（1∶500）、VE-钙黏蛋白（1∶1 000）、α-SMA（1∶5 000）、FSP1（1∶500）、Snail（1∶1 500）、磷酸化（p）-Smad2/3（1∶500）、Smad2/3（1∶1 500）和 CTRP9（1∶500）的抗体，然后与 HRP 标记的二抗（1∶10 000）孵育。免疫反应条带通过增强化学发光（ECL）显影。CD31、VE-钙黏蛋白、α-SMA、FSP1、Snail、CTRP9 蛋白水平归一化为 β-肌动蛋白，磷酸化蛋白归一化为总蛋白。

1.7　统计学分析　使用单因素方差分析（ANOVA）和 Tukey 多重比较检验确定三个或更多独立组之间的显著性，数据表示为均数±标准差（$\bar{x}\pm s$），$P<0.05$ 被认为差异具有统计学意义。使用 GraphPad Prism 5 软件进行分析。

2　结果

2.1　CTRP9 对 db/db 小鼠心功能的影响　研究[8-9]表明，高脂饮食诱导的糖尿病小鼠心脏和血浆中 CTRP9 表达水平显著降低，然而 db/db 糖尿病小鼠模型心脏和血浆中 CTRP9 中表达的影响尚未明确，因此我们分析了 db/db 小鼠血浆 CTRP9 水平，发现 20 周龄的 db/db 小鼠血浆 CTRP9 水平显著降低，在 DM 组中腺病毒 CTRP9 补充 4 周后，血浆 CTRP9 水平增加（图 1A）。超声心动图评估 CTRP9 对 db/db 小鼠心脏结构和功能的影响，与对照组相比，20 周龄 DM 小鼠的心脏功能和结构（包括 IVSD、LVPWd、LVDs、LVDd、LVEF 和 FS）没有显著差异，CTRP9 也没有影响同龄 DM 小鼠的心脏功能和结构（图 1B～1H）。与 Ad-GFP 组相比，Ad-CTRP9 组的体质量（BW）有下降趋势，但两组之间的差异无统计学意义[Ad-GFP：（49.11±1.41）g *vs* Ad-CTRP9：（47.13±1.60）g，$P>0.05$]；我们在小鼠心脏重量（HW）上也得到了

相似的结果[Ad-GFP:(113.7±1.91) mg *vs* (112.2±2.11) mg,$P>0.05$]。因此,结果表明CTRP9对20周龄db/db小鼠的心脏功能没有明显影响。

2.2 CTRP9改善糖尿病引起的心脏血管周围纤维化 为了研究不同年龄的糖尿病db/db小鼠CF的可能变化,我们检测了12周、16周和20周时纤维化标志物胶原Ⅰ、胶原Ⅲ以及促纤维化刺激物转化生长因子-β1(TGF-β1)和结缔组织生长因子(CTGF)的mRNA水平。胶原Ⅰ、胶原Ⅲ、TGF-β1和CTGF的mRNA水平的定量分析显示,12周时对照组和db/db小鼠的心脏样本之间没有差异;相比之下,16周时db/db小鼠的胶原Ⅲ和TGF-β1增加,但胶原Ⅰ和CTGF没有增加;20周龄db/db的胶原Ⅰ、胶原Ⅲ、TGF-β1和CTGF的表达显著增加(图2A~2D)。Masson染色和天狼星红染色的图像和定量分析显示,与对照组相比,DM组的血管和血管周围胶原沉积显著增加,Ad-CTRP9治疗在20周龄时减少了胶原沉积,免疫组化分析也观察到纤维化标志物胶原Ⅰ表达的类似效果(图3A),同时,db/db小鼠的羟脯氨酸水平显著高于对照组,Ad-CTRP9组的羟脯氨酸水平显著降低(图3I)。此外,DM组心脏中胶原Ⅰ、胶原Ⅲ、TGF-β1和CTGF的表达水平升高,CTRP9逆转了糖尿病后的纤维化反应(图3B~3H)。这些结果表明,CTRP9减轻了糖尿病小鼠CF的发展。

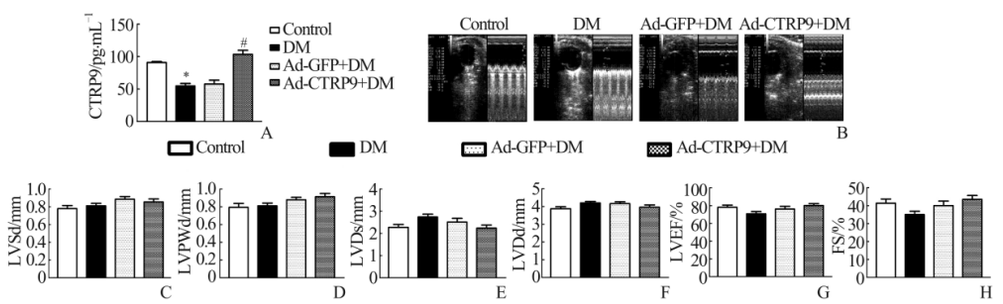


图1 补充腺相关病毒载CTRP9后心脏结构和功能变化及CTRP9表达情况

A. ELISA分析各组小鼠的血浆中CTRP9的表达水平,与对照组比较,$^{*}P<0.05$;与Ad-GFP组比较,$^{\#}P<0.05$;B~H. 各组小鼠超声心动图结果。

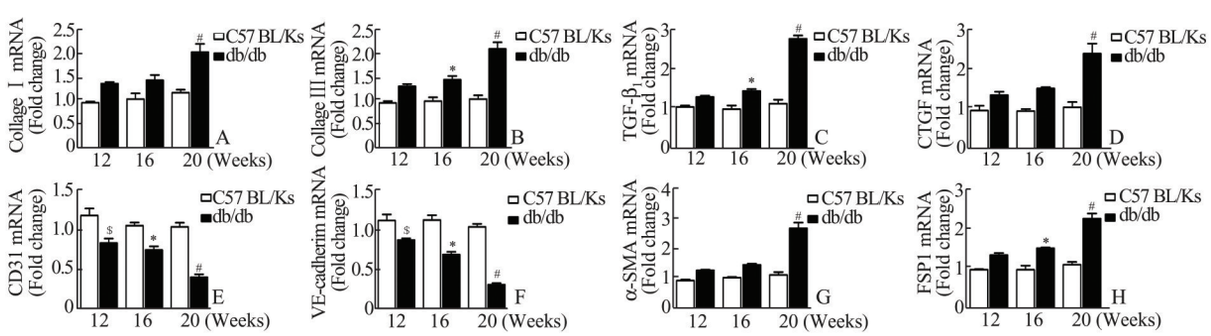


图2 不同周龄小鼠心脏内皮间质转化和纤维化的变化

A~D. 左心室纤维化相关指标Collagen Ⅰ、Collagen Ⅲ、TGF-β1、CTGF的mRNA表达水平;E~H. 小鼠心脏内皮间质转化相关指标CD31、VE-cadherin、α-SMA、FSP1的mRNA表达水平。分别与相同周龄对照组比较,$^{\$}P<0.05$,$^{*}P<0.05$,$^{\#}P<0.05$。

2.3 CTRP9抑制糖尿病心脏中的EndMT EndMT的特征是内皮细胞获得间质细胞标志物,结果显示,20周龄的糖尿病小鼠左心室CD31和VE-钙黏蛋白的mRNA水平显著降低,而α-SMA和FSP1增加(图2E~2H)。通过免疫荧光(IF)检测,我们发现Ad-GFP组中内皮标志物CD31的表达减少,并观察到心脏微血管内皮层中CD31和α-SMA表达的部分共定位,而Ad-CTRP9转染在糖尿病小鼠中部分抑制了这些变化(图4A)。同样在Western Blot分析中也观察到了相同结果,通过Western Blot检测心脏中EndMT生物标志物的蛋白表达水平,结果显示db/db小鼠中CD31和VE-钙黏蛋白显著降低,而α-SMA和FSP1增加,CTRP9显著上调了CD31和VE-钙黏蛋白,并下调了α-SMA和FSP1(图4B~4F)。这些结果表明,CTRP9可改善内皮细胞向成纤维细胞标志物转化的过程。

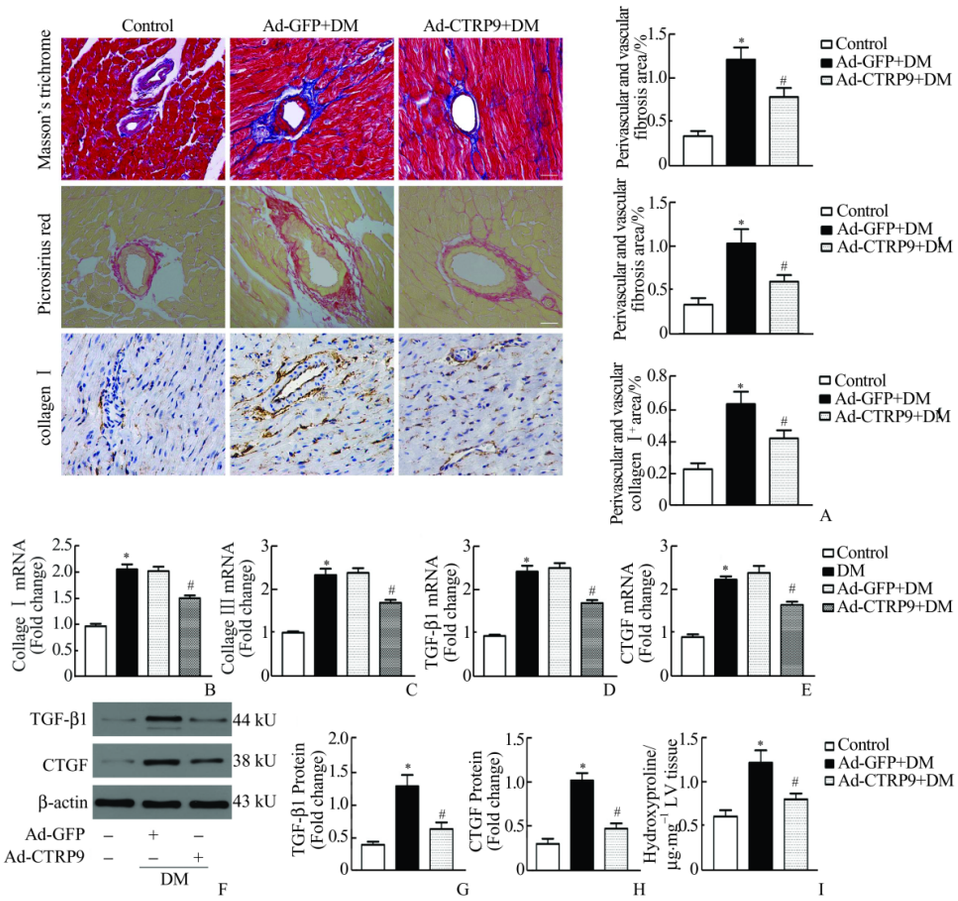


图 3　CTRP9 对糖尿病诱导的心脏血管纤维化的影响

A. 各组心脏切片的代表性图像(左)及血管周围纤维化面积定量(右):马松染色(蓝色染色),天狼星红染色(红色染色),Ⅰ型胶原免疫组化染色(棕色染色);B～E. 各组纤维化相关基因 Collagen Ⅰ、Collagen Ⅲ、TGF-β1 和 CTGF 的表达水平;F～H. Western Blot 检测 TGF-β1 和 CTGF 的表达水平;I. 各组小鼠心脏组织中羟脯氨酸的表达水平。与对照组比较,$^{*}P<0.05$;与 Ad-GFP 组比较,$^{\#}P<0.05$。

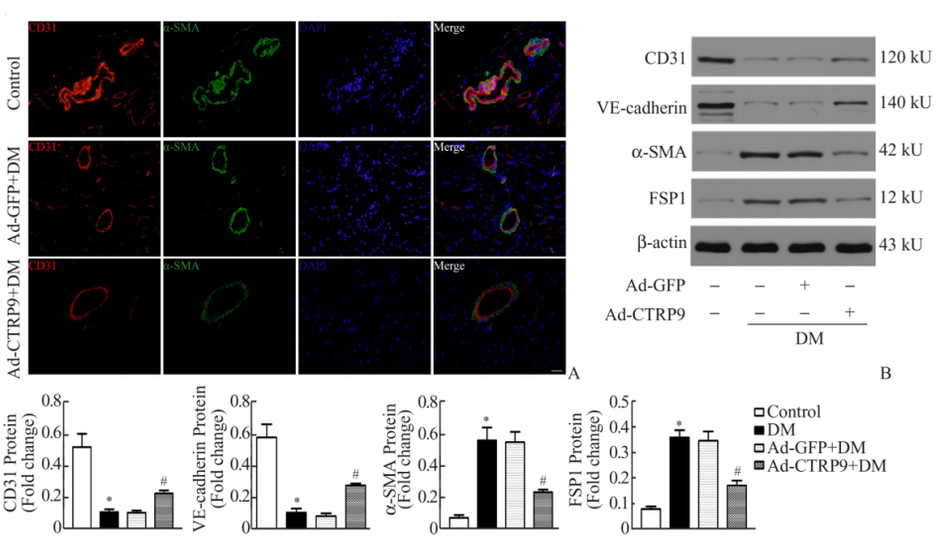


图 4　CTRP9 对糖尿病小鼠 EndMT 的影响

A. 各组心脏组织中免疫荧光染色代表图:CD31(红色)、α-SMA(绿色)、DAPI(蓝色);B～F. Western Blot 结果:各组心脏组织中 CD31、VE-Cadherin、α-SMA 和 FSP1 的表达量;与对照组比较,$^{*}P<0.05$;与 Ad-GFP 组比较,$^{\#}P<0.05$。

3 讨论

本研究证实,20周龄db/db小鼠无论是否接受CTRP9干预,其心功能均无显著改变,CTRP9治疗可抑制高糖诱导的EndMT。结果表明,CTRP9在EndMT介导的心脏纤维化中发挥重要作用。糖尿病早期即存在内皮功能障碍,且早于心肌细胞病理改变[3]。除成纤维细胞外,内皮细胞通过EndMT分化为活化肌成纤维细胞,直接参与纤维化进程[5,15]。糖尿病通过增强EndMT的发生在心血管疾病进展中起最重要的作用[6,16]。考虑到2型糖尿病占糖尿病的大多数,在本实验中,我们使用典型的2型糖尿病模型db/db小鼠作为研究对象,其病理进程与人类DCM高度相似。20周龄db/db小鼠心功能接近正常,与18周龄小鼠结果一致[17],但不同于24周龄小鼠的心功能下降[3]。此特点使我们便于聚焦于糖尿病对EndMT的影响,避免心功能不全及血流动力学异常对结果的干扰。值得注意的是,糖尿病相关纤维化心肌重构常伴随射血分数保留型心衰(HFpEF)[18-19]。尽管已有研究[3,12]采用24周龄db/db小鼠作为EndMT模型,但本研究发现20周龄小鼠的EndMT标志物变化较16周龄更为显著。早期抑制EndMT病理进程有助于延缓心肌纤维化,为糖尿病心衰提供治疗靶点。

糖尿病诱导的左心室血管周围纤维化表现为胶原纤维沉积及Ⅰ型胶原表达增加,后者通过损害冠脉血流最终导致心衰[20]。CTRP9可逆转糖尿病心脏组织中Ⅰ型、Ⅲ型胶原表达升高,提示其抗纤维化作用,糖尿病心肌病以TGF-β1高表达为特征[21],后者通过诱导成纤维细胞分化及EndMT促进纤维化,抑制TGF-β1可缓解纤维化[22-23]。EndMT样细胞分泌的CTGF可刺激成纤维细胞向肌成纤维细胞转分化,降低CTGF可抑制胶原沉积[24]。因此,CTRP9可能通过下调TGF-β1及CTGF发挥抗纤维化作用,为探究CTRP9抑制血管周围纤维化的机制,我们通过生化分析及免疫荧光检测了糖尿病模型中内皮标志物(CD31、VE-钙黏蛋白)和间质标志物(α-SMA、FSP1)的表达,16~20周龄db/db小鼠心脏已出现病理性EndMT,高糖可诱导内皮细胞向成纤维样细胞转化并刺激胶原生成[3,6]。因此,我们认为CTRP9通过抑制EndMT改善糖尿病心脏纤维化。

综上所述,CTRP9可通过抑制EndMT减轻20周龄db/db小鼠心脏纤维化,CTRP9或可作为糖尿病心脏纤维化的潜在治疗靶点。

参考文献

[1] RUSSO I, FRANGOGIANNIS N G. Diabetes-associated cardiac fibrosis: Cellular effectors, molecular mechanisms and therapeutic opportunities[J]. J Mol Cell Cardiol, 2016, 90: 84-93.

[2] FARIA A, PERSAUD S J. Cardiac oxidative stress in diabetes: Mechanisms and therapeutic potential[J]. Pharmacol Ther, 2017, 172: 50-62.

[3] WANG M R, LI Y S, LI S, et al. Endothelial dysfunction and diabetic cardiomyopathy[J]. Front Endocrinol, 2022, 13: 851941.

[4] GONG H, LYU X, WANG Q, et al. Endothelial to mesenchymal transition in the cardiovascular system[J]. Life Sci, 2017, 184: 95-102.

[5] PENG Q M, SHAN D, CUI K, et al. The role of endothelial-to-mesenchymal transition in cardiovascular disease[J]. Cells, 2022, 11(11): 1834.

[6] LIU X, MUJAHID H, RONG B, et al. Irisin inhibits high glucose-induced endothelial-to-mesenchymal transition and exerts a dose-dependent bidirectional effect on diabetic cardiomyopathy[J]. J Cell Mol Med, 2018, 22(2): 808-822.

[7] APPARI M, BREITBART A, BRANDES F, et al. C1q-TNF-related protein-9 promotes cardiac hypertrophy and failure[J]. Circ Res, 2017, 120(1): 66-77.

[8] RUAN S Y, LI J, LEI S Y, et al. Knockout of C1q/tumor necrosis factor-related protein-9 aggravates cardiac fibrosis in diabetic mice by regulating YAP-mediated autophagy[J]. Front Pharmacol, 2024, 15: 1407883.

[9] GUAN H, WANG L, GENG Z Y, et al. CTRP9 promotes brown adipose tissue lipolysis in mice fed a high-fat diet[J]. Front Biosci, 2024, 29(6): 236.

[10] SUN Y, YI W, YUAN Y X, et al. C1q/tumor necrosis factor-related protein-9, a novel adipocyte-derived cytokine, attenuates adverse remodeling in the ischemic mouse heart *via* protein kinase A activation[J]. Circulation, 2013, 128(11 Suppl 1): S113-S120.

[11] YAN W J, GUO Y Z, TAO L, et al. C1q/tumor necrosis factor-related protein-9 regulates the fate of implanted mesenchymal stem cells and mobilizes their protective effects against ischemic heart injury *via* multiple novel signaling pathways[J]. Circulation, 2017, 136(22): 2162-2177.

[12] ZHAO Y R, YIN Z W, LI H P, et al. MiR-30c protects diabetic nephropathy by suppressing epithelial-to-mesenchymal transition in db/db mice[J]. Aging Cell, 2017, 16(2): 387-400.

[13] TI Y, XIE G L, WANG Z H, et al. TRB3 gene silencing alleviates diabetic cardiomyopathy in a type 2 di-

abetic rat model[J]. Diabetes, 2011, 60(11): 2963-2974.

[14] LIU M X, LI W, WANG H B, et al. CTRP9 ameliorates atrial inflammation, fibrosis, and vulnerability to atrial fibrillation in post-myocardial infarction rats[J]. J Am Heart Assoc, 2019, 8(21): e013133.

[15] SINGH A, BHATT K S, NGUYEN H C, et al. Endothelial-to-mesenchymal transition in cardiovascular pathophysiology[J]. Int J Mol Sci, 2024, 25(11): 6180.

[16] WANG E, CHEN S L, WANG H L, et al. Non-coding RNA-mediated endothelial-to-mesenchymal transition in human diabetic cardiomyopathy, potential regulation by DNA methylation[J]. Cardiovasc Diabetol, 2023, 22(1): 303.

[17] DANIELS A, VAN BILSEN M, JANSSEN B A, et al. Impaired cardiac functional reserve in type 2 diabetic db/db mice is associated with metabolic, but not structural, remodelling[J]. Acta Physiol, 2010, 200(1): 11-22.

[18] ZENG H, CHEN J X. Microvascular rarefaction and heart failure with preserved ejection fraction[J]. Front Cardiovasc Med, 2019, 6: 15.

[19] SANDESARA P B, O'NEAL W T, KELLI H M, et al. The prognostic significance of diabetes and microvascular complications in patients with heart failure with preserved ejection fraction[J]. Diabetes Care, 2018, 41(1): 150-155.

[20] SEVERINO P, D'AMATO A, PROSPERI S, et al. Coronary microcirculation in myocardial ischemia: A genetic perspective[J]. J Mol Cell Cardiol, 2025, 203: 67-75.

[21] SONG H B, WU F, ZHANG Y, et al. Irisin promotes human umbilical vein endothelial cell proliferation through the ERK signaling pathway and partly suppresses high glucose-induced apoptosis[J]. PLoS One, 2014, 9(10): e110273.

[22] MA J, VAN DER ZON G, GONÇALVES M A F V, et al. TGF-β-induced endothelial to mesenchymal transition is determined by a balance between SNAIL and ID factors[J]. Front Cell Dev Biol, 2021, 9: 616610.

[23] YUAN S, WANG Z M, YAO S, et al. Knocking out USP7 attenuates cardiac fibrosis and endothelial-to-mesenchymal transition by destabilizing SMAD3 in mice with heart failure with preserved ejection fraction[J]. Theranostics, 2024, 14(15): 5793-5808.

[24] FLORES-VERGARA R, OLMEDO I, ARÁNGUIZ P, et al. Communication between cardiomyocytes and fibroblasts during cardiac ischemia/reperfusion and remodeling: Roles of TGF-β, CTGF, the renin angiotensin axis, and non-coding RNA molecules[J]. Front Physiol, 2021, 12: 716721.

（2025-08-20 收稿）
编辑　沈建国