

安徽医科大学学报

Acta Universitatis Medicinalis Anhui

ISSN 1000-1492, CN 34-1065/R

《安徽医科大学学报》网络首发论文

题目: CTRP3 介导 UCHL1 增强 SeVGMT 重编程 CFs 保护 MI 小鼠心功能的研究
作者: 宋延彬, 张云清, 刘惠玉, 陈俊明
收稿日期: 2025-07-20
网络首发日期: 2025-09-12
引用格式: 宋延彬, 张云清, 刘惠玉, 陈俊明. CTRP3 介导 UCHL1 增强 SeVGMT 重编程 CFs 保护 MI 小鼠心功能的研究[J/OL]. 安徽医科大学学报.
<https://link.cnki.net/urlid/34.1065.R.20250912.0958.007>



网络首发: 在编辑部工作流程中, 稿件从录用到出版要经历录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿等阶段。录用定稿指内容已经确定, 且通过同行评议、主编终审同意刊用的稿件。排版定稿指录用定稿按照期刊特定版式(包括网络呈现版式)排版后的稿件, 可暂不确定出版年、卷、期和页码。整期汇编定稿指出版年、卷、期、页码均已确定的印刷或数字出版的整期汇编稿件。录用定稿网络首发稿件内容必须符合《出版管理条例》和《期刊出版管理规定》的有关规定; 学术研究成果具有创新性、科学性和先进性, 符合编辑部对刊文的录用要求, 不存在学术不端行为及其他侵权行为; 稿件内容应基本符合国家有关书刊编辑、出版的技术标准, 正确使用和统一规范语言文字、符号、数字、外文字母、法定计量单位及地图标注等。为确保录用定稿网络首发的严肃性, 录用定稿一经发布, 不得修改论文题目、作者、机构名称和学术内容, 只可基于编辑规范进行少量文字的修改。

出版确认: 纸质期刊编辑部通过与《中国学术期刊(光盘版)》电子杂志社有限公司签约, 在《中国学术期刊(网络版)》出版传播平台上创办与纸质期刊内容一致的网络版, 以单篇或整期出版形式, 在印刷出版之前刊发论文的录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿。因为《中国学术期刊(网络版)》是国家新闻出版广电总局批准的网络连续型出版物(ISSN 2096-4188, CN 11-6037/Z), 所以签约期刊的网络版上网络首发论文视为正式出版。

CTRP3 介导 UCHL1 增强 SeVGMT 重编程 CFs 保护 MI 小鼠心功能的研究

宋延彬¹, 张云清², 刘惠玉³, 陈俊明¹

(延安大学附属医院¹心血管中心、²病理科、³骨科, 延安 716000)

摘要 **目的** 探究 C1q 肿瘤坏死因子相关蛋白 3 (CTRP3) 增强仙台病毒 (SeV) 载体过表达 Gata4、Mef2c 和 Tbx5 (SeVGMT) 重编程心脏纤维母细胞 (CFs) 治疗心肌梗死 (MI) 小鼠的作用机制, 并分析泛素羧基末端水解酶 L1 (UCHL1) 是否介导该治疗途径。**方法** 将小鼠分为 7 组 ($n=12$): Sham 组、MI 组、SeVGMT 组、CTRP3-Lv 组、UCHL1-sh 组、SeVGMT+CTRP3-Lv 组和 SeVGMT+CTRP3-Lv+UCHL1-sh 组。Sham 组小鼠仅切开皮肤不结扎, 其他组小鼠在左心耳下方 2~3 mm 处结扎冠状动脉。结扎 30 min 后, Sham 组和 MI 组小鼠 MI 边界 3 个点分别注射 PBS; 其他组小鼠按分组情况分别注射 SeVGMT、CTRP3-Lv 或 UCHL1-sh。治疗 4 周后, 检测小鼠短轴缩短率 (FS)、射血分数 (EF)、左室舒张末期内径 (LVIDd)、左心室收缩末期内径 (LVIDs)、心率 (HR)、平均动脉压 (MAP)、血清肌酸激酶同工酶 MB (CK-MB)、心肌肌钙蛋白 I (cTnI) 和乳酸脱氢酶 (LDH) 水平、心肌肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白介素 (IL)-1 β 和 IL-6 水平。采用 2,3,5-三苯基氯化四氮唑 (TTC)、苏木精-伊红 (HE)、Masson 三色和末端脱氧核苷酸转移酶介导的 dUTP 缺口末端标记法 (TUNEL) 染色检测心肌组织病理变化。采用 qRT-PCR 检测心肌中 CTRP3 和 UCHL1 的 mRNA 表达水平。采用 Western blot 或免疫组化染色检测心肌 CTRP3、UCHL1、I 型胶原蛋白 (collagen I)、III 型胶原蛋白 (collagen III)、Bcl-2 相关 X 蛋白 (Bax) 和 B 细胞淋巴瘤/白血病-2 (Bcl-2) 的蛋白表达水平。**结果** 与 SeVGMT 组和 CTRP3-Lv 组比较, SeVGMT+CTRP3-Lv 组小鼠的 EF、FS、HR 和 MAP 水平升高 ($P<0.05$), LVIDd、LVIDs、CK-MB、cTnI、LDH、TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 水平均降低 ($P<0.05$); MI 面积、纤维化面积和 TUNEL 阳性率均降低 ($P<0.05$), collagen I、collagen III 和 Bax 蛋白水平降低 ($P<0.05$), Bcl-2 蛋白水平升高 ($P<0.05$); CTRP3 和 UCHL1 的 mRNA 和蛋白水平以及相对染色强度均升高 ($P<0.05$)。与 SeVGMT+CTRP3-Lv 组比较, 加用 UCHL1-sh 处理 (SeVGMT+CTRP3-Lv+UCHL1-sh 组) 显著削弱了 SeVGMT+CTRP3-Lv 对上述指标的影响 ($P<0.05$)。**结论** CTRP3 介导 UCHL1 增强了 SeVGMT 重编程 CFs 对小鼠 MI 的治疗作用。

2025-07-20 接收

基金项目: 国家自然科学基金项目 (编号: 81960080、81760069)

作者简介: 宋延彬, 男, 博士, 主任医师, 副教授, 博士生导师, 通信作者, E-mail: SongDrYB@163.com

关键词 心肌梗死; C1q 肿瘤坏死因子相关蛋白 3; SeVGMT; 重编程; 心脏纤维母细胞;
泛素羧基末端水解酶 L1; UCHL1

中图分类号 R 542.2+2

文献标志码 A

doi:

Study on CTRP3-mediated UCHL1 enhancing SeVGMT reprogramming of CFs to protect cardiac function in MI mice

Song Yanbin¹, Zhang Yunqing², Liu Huiyu³, Chen Junming¹

(¹ Cardiovascular Center, ² Dept of Pathology, ³ Dept of Orthopedics, Yan'an University Affiliated
Hospital, Yan'an 716000)

Abstract Objective To investigate the effects of C1q tumor necrosis factor-related protein 3 (CTRP3)-enhanced *Sendai virus* (SeV) vector-overexpressing Gata4, Mef2c, and Tbx5 (SeVGMT) in the treatment of myocardial infarction (MI) mice and to analyze whether ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase L1 (UCHL1) mediates this therapeutic pathway. **Methods** The mice were divided into 7 groups ($n=12$): Sham group, MI group, SeVGMT group, CTRP3-Lv group, UCHL1-sh group, SeVGMT+CTRP3-Lv group, and SeVGMT+CTRP3-Lv+UCHL1-sh group. In the Sham group, only the skin was incised without ligation, while the coronary artery was ligated 2-3 mm below the left atrial appendage in mice in other groups. PBS was injected at three points in the myocardial infarction boundary in the Sham and MI groups 30 minutes after ligation. Mice in other groups were injected with SeVGMT, CTRP3-Lv, or UCHL1-sh according to their grouping. Four weeks after treatment, fractional shortening (FS), ejection fraction (EF), left ventricular end-diastolic diameter (LVIDd), left ventricular end-systolic diameter (LVIDs), heart rate (HR), mean arterial pressure (MAP), serum creatine kinase isoenzyme MB (CK-MB), myocardial troponin I (cTnI) and lactate dehydrogenase (LDH) levels, and myocardial tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin-1 β (IL-1 β) and interleukin-6 (IL-6) levels in mice were detected. The pathological changes of myocardial tissue were detected by 2,3,5-triphenyltetrazolium chloride (TTC), hematoxylin-eosin (HE), Masson trichrome and terminal deoxynucleotidyl transferase-mediated dUTP nick end labeling (TUNEL) staining. The

mRNA expressions of CTRP3 and UCHL1 were detected by qRT-PCR. The protein expressions of CTRP3, UCHL1, collagen I, collagen III, Bcl-2-associated X (Bax) and B-cell lymphoma/leukemia-2 (Bcl-2) in myocardial tissue were detected by Western blot or immunohistochemical staining. **Results** Compared with SeVGMT group and CTRP3-Lv group, the levels of EF, FS, HR and MAP in SeVGMT+CTRP3-Lv group increased ($P<0.05$). The levels of LVIDd, LVIDs, CK-MB, cTnI, LDH, TNF- α , IL-1 β and IL-6 decreased ($P<0.05$). MI area, fibrosis area and TUNEL positive rate decreased ($P<0.05$), the protein levels collagen I, collagen III and Bax decreased ($P<0.05$), and Bcl-2 protein levels increased ($P<0.05$). The mRNA and protein levels and relative staining intensity of CTRP3 and UCHL1 increased ($P<0.05$). Compared with SeVGMT+CTRP3-Lv group, the addition of UCHL1-sh treatment (SeVGMT+CTRP3-Lv+UCHL1-sh group) significantly weakened the influence of SeVGMT+CTRP3-Lv on the above indexes ($P<0.05$). **Conclusion** CTRP3 mediated UCHL1 enhances the therapeutic effect of SeVGMT reprogrammed CFs on MI in mice.

Key words Myocardial infarction; C1q tumor necrosis factor-related protein 3; SeVGMT; reprogramming; cardiac fibroblasts; ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase L1; UCHL1

Found programs National Natural Science Foundation of China (Nos. 81960080, 81760069)

Corresponding author Song Yanbin, E-mail: SongDrYB@163.com

心肌梗死 (myocardial infarction, MI) 是一种急性危重疾病, 若不及时治疗, 可能危及生命^[1]。近年来, 将心脏纤维母细胞 (cardiac fibroblasts, CFs) 重编程为心肌样细胞 (induced cardiomyocyte-like cells, iCMs) 是心脏病治疗的热点领域^[2]。利用逆转录病毒 (retrovirus vectors, ReV) 载体过表达转录因子 (transcription factors, TFs) GATA 结合蛋白 4 (GATA binding protein 4, Gata4)、肌细胞增强因子 2C (myocyte enhancer factor 2C, Mef2c) 和 T 盒转录因子 5 (T-box transcription factor 5, Tbx5) (GMT) (ReVGMT) 可将 CFs 重编程为 iCMs, 利用重编程的 iCMs 治疗 MI 小鼠, 可明显改善小鼠心功能并减少梗死面积^[3]。然而, ReVGMT 的重编程效率有限, 离体实验中仅有部分心肌细胞重编程^[4]。Miyamoto et al^[5]研究表明仙台病毒 (sendai virus, SeV) 载体比 Rev 载体更快速和更高效表达 TFs。因此, 利用 SeV 载体过表达 GMT (sendai virus vector overexpressing GMT, SeVGMT) 可能有助于将 CFs 重编程为 iCMs。该课题组在前期实验中表明 C1q 肿瘤坏死因子相关蛋白 3 (C1q tumornecrosis factor related protein 3, CTRP3) 可能是增强 SeVGMT 重编程 CFs 的候选分子。该课题组进一步

在体外实验中表明 CTRP3 可增强 SeVGMT 重编程 CFs 为 iCMs，而在前期进行的小分子高通量筛选发现泛素羧基末端水解酶 L1 (ubiquitin C-terminal hydrolase L1, UCHL1) 可增强 SeVGMT 心脏重编程。该课题组推测 UCHL1 可能作为 CTRP3 下游分子调控 SeVGMT 重编程 CFs。因此，本研究旨在揭示 CTRP3 调控 SeVGMT 重编程 CFs 为 iCMs 后对 MI 小鼠的治疗效果，并分析可能的作用机制，从而提高 iCMs 重编程技术在 MI 及 HF 治疗中的应用效率。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验试剂 SeVGMT、CTRP3 过表达慢病毒 (CTRP3 overexpression lentivirus, CTRP3-Lv) 和 UCHL1-shRNA (UCHL1-sh) 委托上海吉凯基因化学技术有限公司制备。肌酸激酶同工酶 MB (creatin kinase-MB, CK-MB) (批号: SEKM-0152)、乳酸脱氢酶 (lactate dehydrogenase, LDH) (批号: BC0685)、心肌肌钙蛋白 I (cardiac troponin I, cTnI) (批号: SEKM-0153) 试剂盒、2,3,5-三苯基氯化四氮唑 (2,3,5-triphenyltetrazolium chloride, TTC) (批号: G3005)、苏木精-伊红 (hematoxylin-eosin, HE) (批号: G1120)、Masson 三色 (批号: G1340) 和末端脱氧核苷酸转移酶介导的 dUTP 缺口末端标记法 (terminal deoxynucleotidyl transferase-mediated dUTP nick end labeling, TUNEL) 染色试剂盒 (批号: T2196) 均购自北京索莱宝科技有限公司。肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) (批号: EMC102a)、白介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β , 批号: EMC001b.96) 和 IL-6 (批号: EMC004) 的 ELISA 试剂盒购自深圳欣博盛生物科技有限公司。逆转录试剂盒 (批号: RR036A) 和 SYBR Premix Ex Taq™ II (批号: RR820A) 购自日本 Takara 公司。CTRP3 (批号: ab36870)、UCHL1 (批号: ab314058)、I 型胶原蛋白 (collagen I, 批号: ab138492)、III 型胶原蛋白 (collagen III, 批号: ab184993)、Bcl-2 相关 X 蛋白 (Bcl2-associated X, Bax) (批号: ab32503)、B 细胞淋巴瘤/白血病-2 (B-cell lymphoma/leukemia-2, Bcl-2) (批号: ab182858) 和 β -actin (批号: ab8227) 一抗以及山羊抗兔 IgG H&L (HRP) 二抗 (批号: ab6721) 均购自英国 Abcam 公司。

1.1.2 实验动物 120 只 8 周龄雄性 SPF 级 NOD-SCID 小鼠 (体质量约 18~20 g) 购自北京维通利华实验动物技术有限公司 [生产许可证号: SCXK (京) 2021-0011], 小鼠于 SPF 级环境中饲养 [(23 $\pm$ 2) °C、(55 $\pm$ 5) %湿度、12 h 循环照明], 不限制饮食。本研究动物实验经过延安大学附属医院医学伦理委员会审批通过 [编号 (No): 2019-08]。

1.2 方法

1.2.1 小鼠 MI 模型构建 采用 2%异氟烷吸入麻醉小鼠，连接小动物呼吸机，于小鼠左侧胸壁做长约 1.2 cm 的斜行切口，暴露第 3 肋间隙，在第 3 肋间隙开一小孔进入胸腔，撑开肋骨，撕破心包，探查左心耳，使用 8.0 带针缝线于左心耳下方 2~3 mm 中外 1/3 进针，左心耳右侧外源出针，打结。结扎后可见心肌局部苍白，心电图示 ST 段抬高表明 MI 小鼠模型成功。假手术组小鼠只开胸不结扎。

1.2.2 实验分组及处理 将小鼠分为 7 组 ($n=12$): Sham 组、MI 组、SeVGMT 组、CTRP3-Lv 组、UCHL1-sh 组、SeVGMT+CTRP3-Lv 组和 SeVGMT+CTRP3-Lv+UCHL1-sh 组。结扎 30 min 后，Sham 组和 MI 组小鼠在梗死边界 3 个点分别一次性注射 20 μ L 的 PBS；SeVGMT 组、CTRP3-Lv 组、UCHL1-sh 组小鼠在梗死边界 3 个点分别一次性注射 20 μ L 的 SeVGMT (1×10^8 PFU/mL)、CTRP3-Lv (1×10^8 TU/mL) 和 UCHL1-sh (1×10^8 TU/mL)；SeVGMT+CTRP3-Lv 组同时注射 SeVGMT 和 CTRP3-Lv；SeVGMT+CTRP3-Lv+UCHL1-sh 组同时注射 SeVGMT、CTRP3-Lv 和 UCHL1-sh；处理结束 4 周后进行样本采集和指标检测。

1.2.3 超声检测心功能指标 采用加拿大 VisualSonics 公司 Vevo2100 超高分辨率小动物超声影像系统检测小鼠短轴缩短率 (fractional shortening, FS)、射血分数 (ejection fraction, EF)、左室舒张末期内径 (left ventricular end diastolic diameter, LVIDd) 和左心室收缩末期内径 (left ventricular end systolic diameter, LVIDs)。

1.2.4 血流动力学检测 经小鼠右侧颈总动脉将 1.4F Millar 导管传感器插入左心室，动脉夹固定后采用成都泰盟软件有限公司 BL-420F 信号采集及分析系统记录小鼠心率 (heart rate, HR) 和平均动脉压 (mean arterial pressure, MAP)。

1.2.5 血清心肌损伤标志物检测 采用 2%异氟烷吸入麻醉小鼠，采集小鼠腹主动脉血，离心后取血清，按照 ELISA 试剂盒说明步骤检测 CK-MB 和 cTnI 水平，采用微量法检测 LDH 水平。

1.2.6 心肌组织 TTC、HE、Masson 三色和 TUNEL 染色检测 采用脊椎脱臼法处死小鼠，快速分离心脏，生理盐水冲洗。按试剂盒说明书步骤进行 TTC、HE、Masson 三色染色和 TUNEL 染色，采用 Image J 软件分析心肌纤维化面积和 TUNEL 阳性染色率。

1.2.7 心肌炎症因子检测 分离的心肌组织剪碎后与 PBS 混合并在冰上研磨匀浆，离心取上清液，采用 ELISA 法测定心肌组织中 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 水平。

1.2.8 心肌 CTRP3 和 UCHL1 免疫组化染色 心肌组织石蜡切片于烤箱中 60 $^{\circ}$ C 烤片 30 min，然后脱蜡和水化，3% H_2O_2 室温孵育 10 min，在 0.01 mol/L 的枸橼酸钠缓冲液 (pH 6.0) 中煮沸 5 min，PBS 清洗后将切片与 5%山羊血清室温孵育 10 min。再与 CTRP3 (1:100)

和 UCHL1 (1:100) 一抗于 4 °C 孵育过夜。加入生物素标记的 IgG 二抗 (1:500) 室温下孵育 30 min。DAB 显色, 苏木精复染, 封片, 显微镜下观察。

1.2.9 qRT-PCR 检测 CTRP3 和 UCHL1 的 mRNA 水平 使用 TRIzol 提取心肌组织总 RNA, 采用逆转录试剂盒进行 cDNA 合成, 采用 SYBR Premix Ex Taq™ II 试剂盒和 ABI 9700 PCR 扩增仪完成 PCR 反应。反应条件为 95 °C 120 s; 94 °C 5 s, 60 °C 60 s, 72 °C 30 s, 40 个循环; 72 °C 5 min。引物序列如下, CTRP3: F: 5'-CATCTGGTGGCACCTGCTG-3', R: 5'-TGACACAGGCAAAATGGGAG-3'; UCHL1: F: 5'-CCCCGAAGATAGAGCCAAG-3', R: 5'-ATGGTTCACTGGAAAGGG-3'; β -actin: F: 5'-GGCTGTATTCCCCTCCATCG-3', R: 5'-CCAGTTGGTAACAATGCCATGT-3'。以 β -actin 为内参, 采用 $2^{-\Delta\Delta C_T}$ 法检测基因相对水平。

1.2.10 Western blot 检测蛋白表达水平 使用 RIPA 缓冲液裂解心肌组织提取总蛋白, 并经过 BCA 试剂盒蛋白定量分析, 采用 10% SDS-PAGE 分离蛋白, 转移 PVDF 膜后 5% 脱脂牛奶封闭 1 h, 将膜与 CTRP3、UCHL1、collagen I、collagen III、Bax、Bcl-2 和 β -actin 一抗 (1:1000) 于 4 °C 孵育过夜, 然后与二抗 (1:1000) 室温孵育 1 h。ECL 显影, 成像后拍照, 以 β -actin 为内参, 采用 Image J 软件进行灰度值分析。

1.3 统计学处理 SPSS 22.0 软件用于统计分析。所有实验均设置 6 个重复。本研究中检测的指标均为计量资料, 数据经正态分布检验后均采用单因素方差分析进行整体差异比较, 采用 Tukey 事后检验进行两两比较。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 CTRP3 增强 SeVGMT 重编程 CFs 对 MI 小鼠心功能的影响 与 Sham 组比较, MI 组的 EF 和 FS 水平降低 ($P < 0.05$), LVIDd 和 LVIDs 水平升高 ($P < 0.05$)。与 MI 组比较, SeVGMT 组和 CTRP3-Lv 组的 EF 和 FS 水平升高 ($P < 0.05$), LVIDd 和 LVIDs 水平降低 ($P < 0.05$), UCHL1-sh 组的 EF 和 FS 水平降低 ($P < 0.05$), LVIDd 和 LVIDs 水平升高 ($P < 0.05$)。与 SeVGMT 组和 CTRP3-Lv 组比较, SeVGMT+CTRP3-Lv 组的 EF 和 FS 水平升高 ($P < 0.05$), LVIDd 和 LVIDs 水平降低 ($P < 0.05$)。与 SeVGMT+CTRP3-Lv 组比较, SeVGMT+CTRP3-Lv+UCHL1-sh 组的 EF 和 FS 水平降低 ($P < 0.05$), LVIDd 和 LVIDs 水平升高 ($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 CTRP3 增强 SeVGMT 重编程 CFs 对 MI 小鼠心功能参数的影响 ($n=12$, $\bar{x} \pm s$)

Tab. 1 The effects of CTRP3 enhanced SeVGMT reprogrammed CFs on cardiac function parameters of

MI mice ($n=12$, $\bar{x} \pm s$)

Group	EF (%)	LVIDd (mm)	LVIDs (mm)	FS (%)
Sham	88.42±7.29	5.47±0.47	2.48±0.18	54.55±3.75
MI	64.53±6.47 *	8.15±0.74 *	5.67±0.39 *	29.97±7.15 *
SeVGMT	74.91±7.98 **	7.22±0.66 **	4.10±0.39 **	42.67±9.09 **
CTRP3-Lv	68.32±5.96 **	7.57±0.53 **	4.76±0.63 **	36.75±9.54 **
UCHL1-sh	58.37±4.33 **	8.72±0.85 **	6.44±0.51 **	25.74±7.20 **
SeVGMT+CTRP3-Lv	76.55±7.17 **&△	6.67±0.72 **&△	3.39±0.27 **&△	48.60±7.61 **&△
SeVGMT+CTRP3-Lv+UCHL1-sh	66.78±4.23 **▲	7.70±0.67 **▲	4.38±0.36	42.69±6.71 **▲
<i>F</i> value	28.556	29.657	124.884	21.850
<i>P</i> value	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

**P*<0.05 vs Sham group; #*P*<0.05 vs MI group; &*P*<0.05 vs SeVGMT group; △*P*<0.05 vs CTRP3-Lv group;

▲*P*<0.05 vs SeVGMT+CTRP3-Lv group.

2.2 CTRP3 增强 SeVGMT 重编程 CFs 对 MI 小鼠血流动力学的影响 与 Sham 组比较, MI 组的 HR 和 MAP 降低 (*P*<0.05)。与 MI 组比较, SeVGMT 组和 CTRP3-Lv 组的 HR 和 MAP 升高(*P*<0.05), UCHL1-sh 组的 HR 和 MAP 降低(*P*<0.05)。与 SeVGMT 组和 CTRP3-Lv 组比较, SeVGMT+CTRP3-Lv 组的 HR 和 MAP 升高 (*P*<0.05)。与 SeVGMT+CTRP3-Lv 组比较, SeVGMT+CTRP3-Lv+UCHL1-sh 组的 HR 和 MAP 降低 (*P*<0.05)。见表 2。

表 2 CTRP3 增强 SeVGMT 重编程 CFs 对 MI 小鼠血流动力学参数的影响 (*n*=12, $\bar{x} \pm s$)

Tab. 2 The effects of CTRP3 enhanced SeVGMT reprogrammed CFs on hemodynamic parameters of MI

mice (*n*=12, $\bar{x} \pm s$)

Group	HR (beat/min)	MAP (mmHg)
Sham	336.97±31.29	117.74±3.74
MI	298.66±34.90 *	92.80±6.22 *
SeVGMT	308.41±30.81 **	100.56±4.63 **
CTRP3-Lv	299.05±38.47 **	94.83±5.34 **
UCHL1-sh	264.39±18.90 **	83.98±6.11 **
SeVGMT+CTRP3-Lv	326.39±28.62 **&△	105.37±7.32 **&△
SeVGMT+CTRP3-Lv+UCHL1-sh	305.60±35.98 **▲	95.26±8.57 **▲

<i>F</i> value	6.340	36.127
<i>P</i> value	<0.001	<0.001

**P*<0.05 vs Sham group; #*P*<0.05 vs MI group; &*P*<0.05 vs SeVGMT group; Δ*P*<0.05 vs CTRP3-Lv group;

▲*P*<0.05 vs SeVGMT+CTRP3-Lv group.

2.3 CTRP3 增强 SeVGMT 重编程 CFs 对 MI 小鼠血清心肌损伤标志物的影响 与 Sham 组比较, MI 组血清 CK-MB、cTnI 和 LDH 水平升高 (*P*<0.05)。与 MI 组比较, SeVGMT 组和 CTRP3-Lv 组血清 CK-MB、cTnI 和 LDH 水平降低(*P*<0.05), UCHL1-sh 组血清 CK-MB、cTnI 和 LDH 水平升高 (*P*<0.05)。与 SeVGMT 组和 CTRP3-Lv 组比较, SeVGMT+CTRP3-Lv 组血清 CK-MB、cTnI 和 LDH 水平降低 (*P*<0.05)。与 SeVGMT+CTRP3-Lv 组比较, SeVGMT+CTRP3-Lv+UCHL1-sh 组血清 CK-MB、cTnI 和 LDH 水平升高 (*P*<0.05)。见表 3。

表 3 CTRP3 增强 SeVGMT 重编程 CFs 对 MI 小鼠血清心肌损伤标志物的影响 (*n*=12, $\bar{x} \pm s$)

Tab. 3 The effects of CTRP3 enhanced SeVGMT reprogrammed CFs on serum markers of myocardial injury in MI mice (*n*=12, $\bar{x} \pm s$)

Group	CK-MB (U/L)	cTnI (U/L)	LDH (U/L)
Sham	95.60±8.43	0.98±0.11	208.28±17.81
MI	499.28±42.89 *	6.73±0.81 *	1 140.90±113.68 *
SeVGMT	242.96±21.56 *#	3.02±0.30 *#	402.08±35.12 *#
CTRP3-Lv	270.99±40.92 *#	4.18±0.26 *#	518.15±47.39 *#
UCHL1-sh	637.95±49.75 *#	9.21±0.48 *#	1 300.04±86.47 *#
SeVGMT+CTRP3-Lv	152.49±13.05 *#&Δ	1.95±0.24 *#&Δ	310.63±34.67 *#&Δ
SeVGMT+CTRP3-Lv+UCHL1-sh	316.85±39.19 *#▲	3.86±0.28 *#▲	525.51±44.41 *#▲
<i>F</i> value	374.071	565.431	544.794
<i>P</i> value	<0.001	<0.001	<0.001

**P*<0.05 vs Sham group; #*P*<0.05 vs MI group; &*P*<0.05 vs SeVGMT group; Δ*P*<0.05 vs CTRP3-Lv group;

▲*P*<0.05 vs SeVGMT+CTRP3-Lv group.

2.4 CTRP3 增强 SeVGMT 重编程 CFs 对 MI 小鼠 MI 面积和心肌损伤的影响 与 Sham 组比较, MI 组的 MI 面积升高 (*P*<0.05)。与 MI 组比较, SeVGMT 组和 CTRP3-Lv 组的

MI 面积降低 ($P<0.05$), UCHL1-sh 组的 MI 面积升高 ($P<0.05$)。与 SeVGMT 组和 CTRP3-Lv 组比较, SeVGMT+CTRP3-Lv 组的 MI 面积降低 ($P<0.05$)。与 SeVGMT+CTRP3-Lv 组比较, SeVGMT+CTRP3-Lv+UCHL1-sh 组的 MI 面积升高 ($P<0.05$), 见图 1。HE 染色结果显示, Sham 组心肌细胞形态正常, 排列规则。MI 组心肌细胞变形和肥大, 排列不规则, 心肌组织出现明显坏死, 伴有大量炎性细胞浸润。与 MI 组比较, SeVGMT 组和 CTRP3-Lv 组的心肌损伤明显减轻, UCHL1-sh 组的心肌损伤明显加重。与 SeVGMT 组和 CTRP3-Lv 组比较, SeVGMT+CTRP3-Lv 组的心肌损伤明显减轻。与 SeVGMT+CTRP3-Lv 组比较, SeVGMT+CTRP3-Lv+UCHL1-sh 组的心肌损伤明显加重, 见图 2。

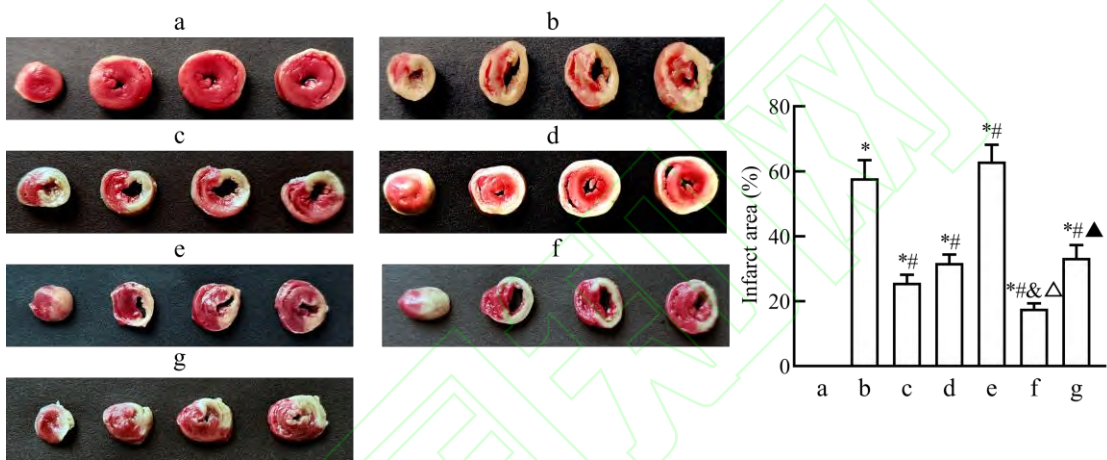


图 1 CTRP3 增强 SeVGMT 重编程 CFs 对 MI 小鼠 MI 面积的影响

Fig.1 The effects of CTRP3 enhanced SeVGMT reprogrammed CFs on MI size in MI mice

a: Sham group; b: MI group; c: SeVGMT group; d: CTRP3-Lv group; e: UCHL1-sh group; f: SeVGMT+CTRP3-Lv group; g: SeVGMT+CTRP3-Lv+UCHL1-sh group; * $P<0.05$ vs Sham group; # $P<0.05$ vs MI group; & $P<0.05$ vs SeVGMT group; Δ $P<0.05$ vs CTRP3-Lv group; ▲ $P<0.05$ vs SeVGMT+CTRP3-Lv group.

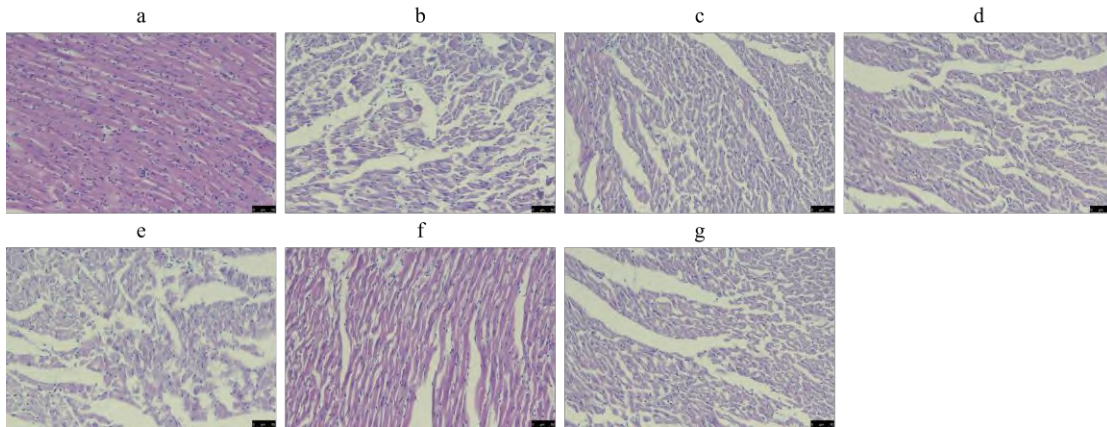


图 2 各组小鼠心肌 HE 染色图像 ×200

Fig.2 HE staining images of myocardium in each group ×200

a: Sham group; b: MI group; c: SeVGMT group; d: CTRP3-Lv group; e: UCHL1-sh group; f: SeVGMT+CTRP3-Lv group; g: SeVGMT+CTRP3-Lv+UCHL1-sh group.

2.5 CTRP3 增强 SeVGMT 重编程 CFs 对 MI 小鼠心肌纤维化的影响 与 Sham 组比较, MI 组的心肌纤维化面积、collagen I 和 collagen III 蛋白表达水平均升高 ($P<0.05$)。与 MI 组比较, SeVGMT 组和 CTRP3-Lv 组的心肌纤维化面积、collagen I 和 collagen III 蛋白表达水平降低 ($P<0.05$), UCHL1-sh 组的心肌纤维化面积、collagen I 和 collagen III 蛋白表达水平升高 ($P<0.05$)。与 SeVGMT 组和 CTRP3-Lv 组比较, SeVGMT+CTRP3-Lv 组的心肌纤维化面积、collagen I 和 collagen III 蛋白表达水平降低 ($P<0.05$)。与 SeVGMT+CTRP3-Lv 组比较, SeVGMT+CTRP3-Lv+UCHL1-sh 组的心肌纤维化面积、collagen I 和 collagen III 蛋白表达水平升高 ($P<0.05$)。见图 3、4。

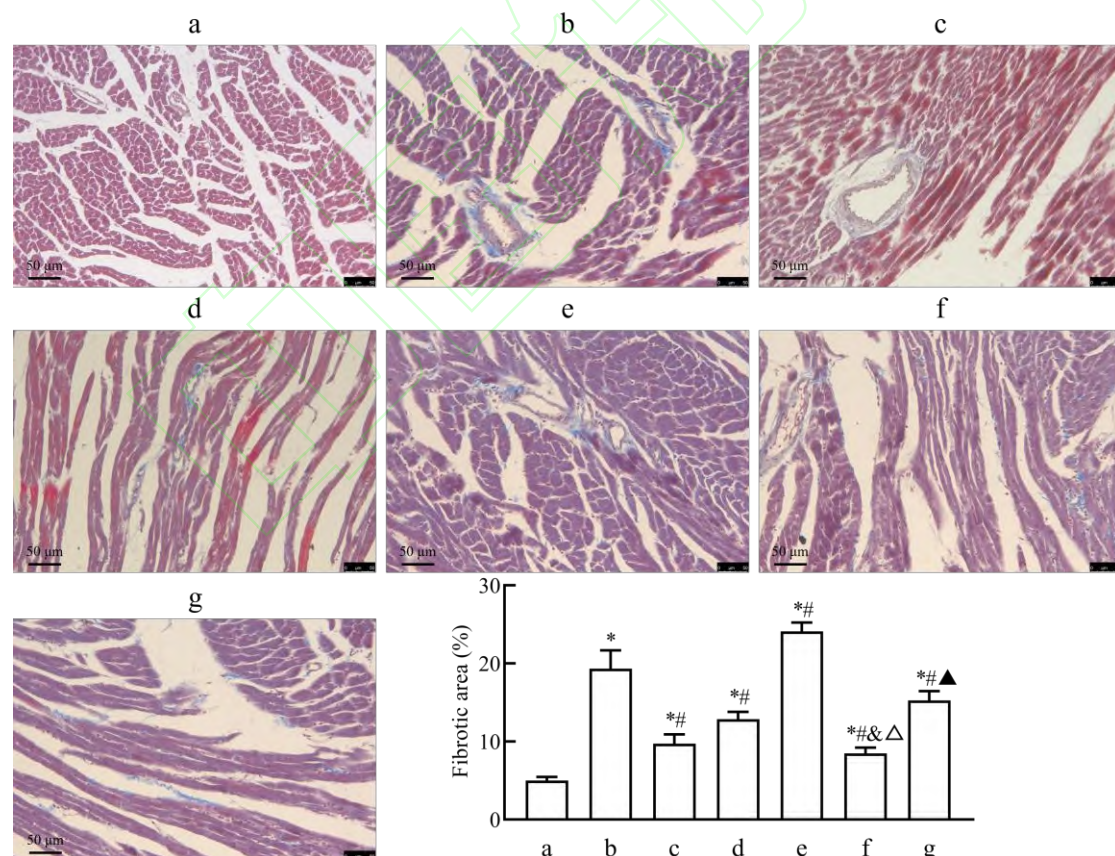


图 3 各组小鼠心肌 Masson 三色染色检测 ×200

Fig.3 Masson trichrome staining images of myocardium in each group ×200

a: Sham group; b: MI group; c: SeVGMT group; d: CTRP3-Lv group; e: UCHL1-sh group; f:

SeVGMT+CTRP3-Lv group; g: SeVGMT+CTRP3-Lv+UCHL1-sh group; * $P<0.05$ vs Sham group; # $P<0.05$ vs MI group; & $P<0.05$ vs SeVGMT group; $\Delta P<0.05$ vs CTRP3-Lv group; $\blacktriangle P<0.05$ vs SeVGMT+CTRP3-Lv group.

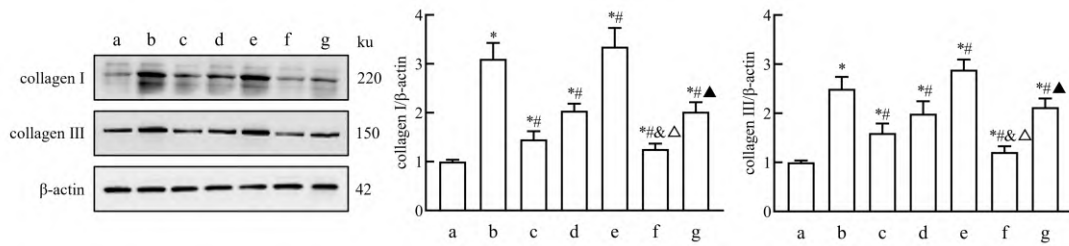


图 4 各组小鼠心肌 collagen I 和 collagen III 蛋白相对表达水平

Fig.4 Relative protein expression levels of collagen I and collagen III in myocardium of mice in each group

a: Sham group; b: MI group; c: SeVGMT group; d: CTRP3-Lv group; e: UCHL1-sh group; f: SeVGMT+CTRP3-Lv group; g: SeVGMT+CTRP3-Lv+UCHL1-sh group; * $P<0.05$ vs Sham group; # $P<0.05$ vs MI group; & $P<0.05$ vs SeVGMT group; $\Delta P<0.05$ vs CTRP3-Lv group; $\blacktriangle P<0.05$ vs SeVGMT+CTRP3-Lv group.

2.6 CTRP3 增强 SeVGMT 重编程 CFs 对 MI 小鼠心肌细胞凋亡的影响 与 Sham 组比较, MI 组的 TUNEL 阳性率和 Bax 蛋白表达水平升高 ($P<0.05$), Bcl-2 蛋白表达水平降低 ($P<0.05$)。与 MI 组比较, SeVGMT 组和 CTRP3-Lv 组的 TUNEL 阳性率和 Bax 蛋白表达水平降低 ($P<0.05$), Bcl-2 蛋白表达水平升高 ($P<0.05$); UCHL1-sh 组的 TUNEL 阳性率和 Bax 蛋白表达水平升高 ($P<0.05$), Bcl-2 蛋白表达水平降低 ($P<0.05$)。与 SeVGMT 组和 CTRP3-Lv 组比较, SeVGMT+CTRP3-Lv 组的 TUNEL 阳性率和 Bax 蛋白表达水平降低 ($P<0.05$), Bcl-2 蛋白表达水平升高 ($P<0.05$)。与 SeVGMT+CTRP3-Lv 组比较, SeVGMT+CTRP3-Lv+UCHL1-sh 组的 TUNEL 阳性率和 Bax 蛋白表达水平升高 ($P<0.05$), Bcl-2 蛋白表达水平降低 ($P<0.05$)。见图 5、6。

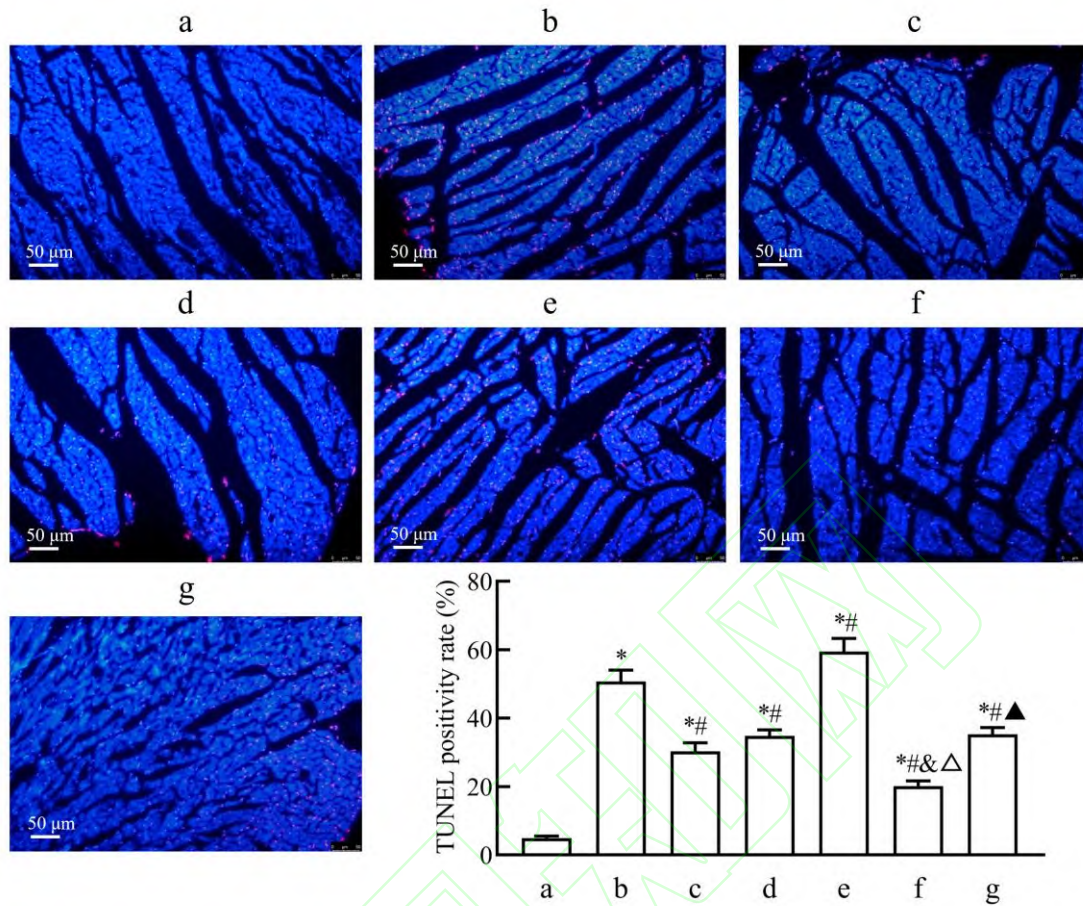


图5 各组小鼠心肌组织 TUNEL 染色检测 ×200

Fig.5 TUNEL staining images of myocardium in each group ×200

a: Sham group; b: MI group; c: SeVGMT group; d: CTRP3-Lv group; e: UCHL1-sh group; f: SeVGMT+CTRP3-Lv group; g: SeVGMT+CTRP3-Lv+UCHL1-sh group; * $P<0.05$ vs Sham group; # $P<0.05$ vs MI group; & $P<0.05$ vs SeVGMT group; △ $P<0.05$ vs CTRP3-Lv group; ▲ $P<0.05$ vs SeVGMT+CTRP3-Lv group.

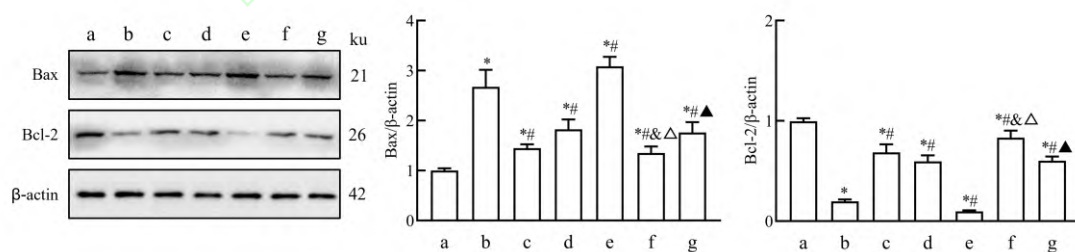


图6 各组小鼠心肌 Bax 和 Bcl-2 蛋白相对表达水平

Fig.6 Relative protein expression levels of Bax and Bcl-2 in myocardium of mice in each group

a: Sham group; b: MI group; c: SeVGMT group; d: CTRP3-Lv group; e: UCHL1-sh group; f: SeVGMT+CTRP3-Lv group; g: SeVGMT+CTRP3-Lv+UCHL1-sh group; * $P<0.05$ vs Sham group; # $P<0.05$ vs MI

group; [&] $P<0.05$ vs SeVGMT group; [△] $P<0.05$ vs CTRP3-Lv group; [▲] $P<0.05$ vs SeVGMT+CTRP3-Lv group.

2.7 CTRP3 增强 SeVGMT 重编程 CFs 对 MI 小鼠心肌炎症的影响 与 Sham 组比较, MI 组的 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 水平升高 ($P<0.05$)。与 MI 组比较, SeVGMT 组和 CTRP3-Lv 组的 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 水平降低 ($P<0.05$), UCHL1-sh 组的 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 水平升高 ($P<0.05$)。与 SeVGMT 组和 CTRP3-Lv 组比较, SeVGMT+CTRP3-Lv 组的 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 水平降低 ($P<0.05$)。与 SeVGMT+CTRP3-Lv 组比较, SeVGMT+CTRP3-Lv+UCHL1-sh 组的 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 水平升高 ($P<0.05$)。见表 4。

表 4 CTRP3 增强 SeVGMT 重编程 CFs 对 MI 小鼠心肌炎症的影响 ($n=12$, $\bar{x}\pm s$)

Tab. 4 The effects of CTRP3 enhanced SeVGMT reprogrammed CFs on myocardial inflammation in MI

mice ($n=12$, $\bar{x}\pm s$)				
Group	TNF- α (pg/mg prot)	IL-1 β (pg/mg prot)	IL-6 (pg/mg prot)	
Sham	29.83 $\pm$ 1.49	20.15 $\pm$ 2.67	14.60 $\pm$ 1.03	
MI	80.78 $\pm$ 9.19 *	68.52 $\pm$ 8.17 *	43.45 $\pm$ 2.59 *	
SeVGMT	48.75 $\pm$ 4.57 ^{##}	39.89 $\pm$ 4.46 ^{##}	25.07 $\pm$ 1.50 ^{##}	
CTRP3-Lv	59.13 $\pm$ 4.45 ^{##}	41.71 $\pm$ 4.51 ^{##}	29.26 $\pm$ 3.67 ^{##}	
UCHL1-sh	87.04 $\pm$ 7.22 ^{##}	83.98 $\pm$ 8.76 ^{##}	53.88 $\pm$ 3.49 ^{##}	
SeVGMT+CTRP3-Lv	38.93 $\pm$ 3.54 ^{##&△}	29.27 $\pm$ 3.92 ^{##&△}	20.05 $\pm$ 1.68 ^{##&△}	
SeVGMT+CTRP3-Lv+UCHL1-sh	82.47 $\pm$ 5.01 ^{##▲}	46.28 $\pm$ 3.26 ^{##▲}	30.68 $\pm$ 3.43 ^{##▲}	
<i>F</i> value	202.662	190.183	308.134	
<i>P</i> value	<0.001	<0.001	<0.001	

* $P<0.05$ vs Sham group; ^{##} $P<0.05$ vs MI group; [&] $P<0.05$ vs SeVGMT group; [△] $P<0.05$ vs CTRP3-Lv group;
[▲] $P<0.05$ vs SeVGMT+CTRP3-Lv group.

2.8 CTRP3 增强 SeVGMT 重编程 CFs 对 MI 小鼠心肌 CTRP3 和 UCHL1 表达的影响 与 Sham 组比较, MI 组 CTRP3 的 mRNA 和蛋白表达水平以及相对染色强度均降低 ($P<0.05$), UCHL1 的 mRNA 和蛋白表达水平以及相对染色强度升高 ($P<0.05$)。与 MI 组比较, SeVGMT 组和 CTRP3-Lv 组 CTRP3 和 UCHL1 的 mRNA 和蛋白表达水平以及相对染色强度均升高 ($P<0.05$), UCHL1-sh 组 CTRP3 和 UCHL1 的 mRNA 和蛋白表达水平以及相对染色强度均

降低($P<0.05$)。与 SeVGMT 组和 CTRP3-Lv 组比较,SeVGMT+CTRP3-Lv 组 CTRP3 和 UCHL1 的 mRNA 和蛋白表达水平意见相对染色强度均升高 ($P<0.05$)。与 SeVGMT+CTRP3-Lv 组比较, SeVGMT+CTRP3-Lv+UCHL1-sh 组 CTRP3 和 UCHL1 的 mRNA 和蛋白表达水平以及相对染色强度均降低 ($P<0.05$)。见图 7-9。

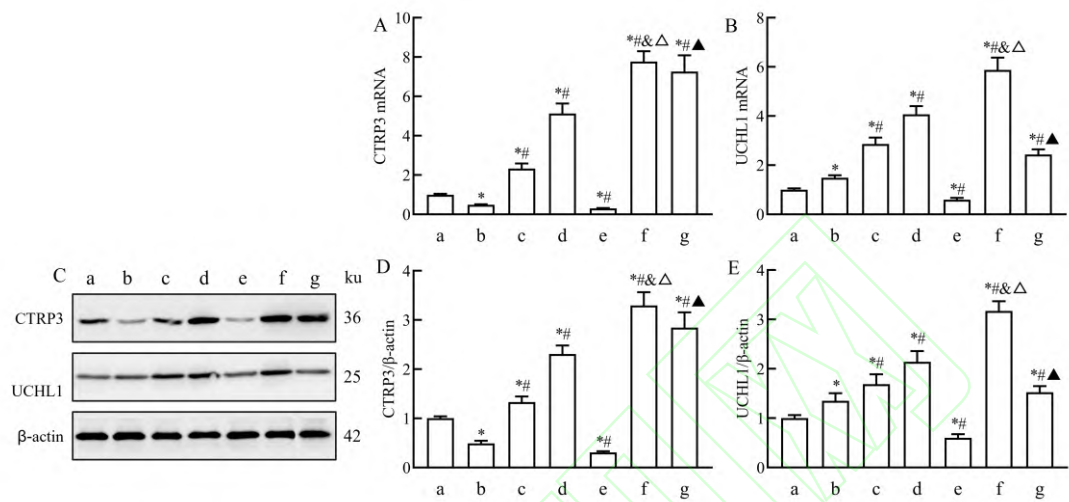


图 7 各组小鼠心肌 CTRP3 和 UCHL1 的 mRNA 和蛋白相对表达水平

Fig.7 Relative mRNA and protein expression levels of CTRP3 and UCHL1 in myocardium of mice in each group

A, B: Relative mRNA expression levels of CTRP3 and UCHL1 in myocardium, respectively; C-E: Relative protein expression levels of CTRP3 and UCHL1 in myocardium, respectively; a: Sham group; b: MI group; c: SeVGMT group; d: CTRP3-Lv group; e: UCHL1-sh group; f: SeVGMT+CTRP3-Lv group; g: SeVGMT+CTRP3-Lv+UCHL1-sh group; * $P<0.05$ vs Sham group; # $P<0.05$ vs MI group; & $P<0.05$ vs SeVGMT group; Δ $P<0.05$ vs CTRP3-Lv group; ▲ $P<0.05$ vs SeVGMT+CTRP3-Lv group.

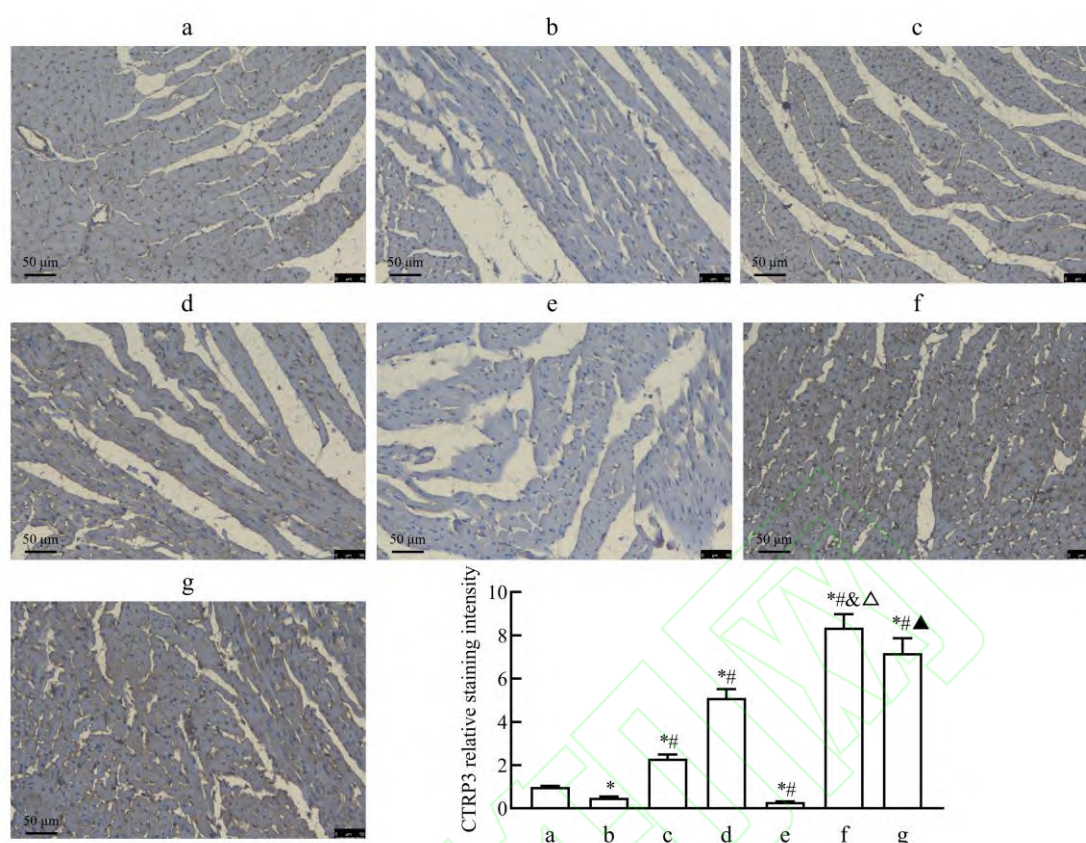


图 8 各组小鼠心肌 CTRP3 免疫组化染色 ×200

Fig.8 CTRP3 immunohistochemical staining images of myocardium of mice in each group ×200

a: Sham group; b: MI group; c: SeVGMT group; d: CTRP3-Lv group; e: UCLH1-sh group; f: SeVGMT+CTRP3-Lv group; g: SeVGMT+CTRP3-Lv+UCLH1-sh group; * $P < 0.05$ vs Sham group; # $P < 0.05$ vs MI group; & $P < 0.05$ vs SeVGMT group; Δ $P < 0.05$ vs CTRP3-Lv group; ▲ $P < 0.05$ vs SeVGMT+CTRP3-Lv group.

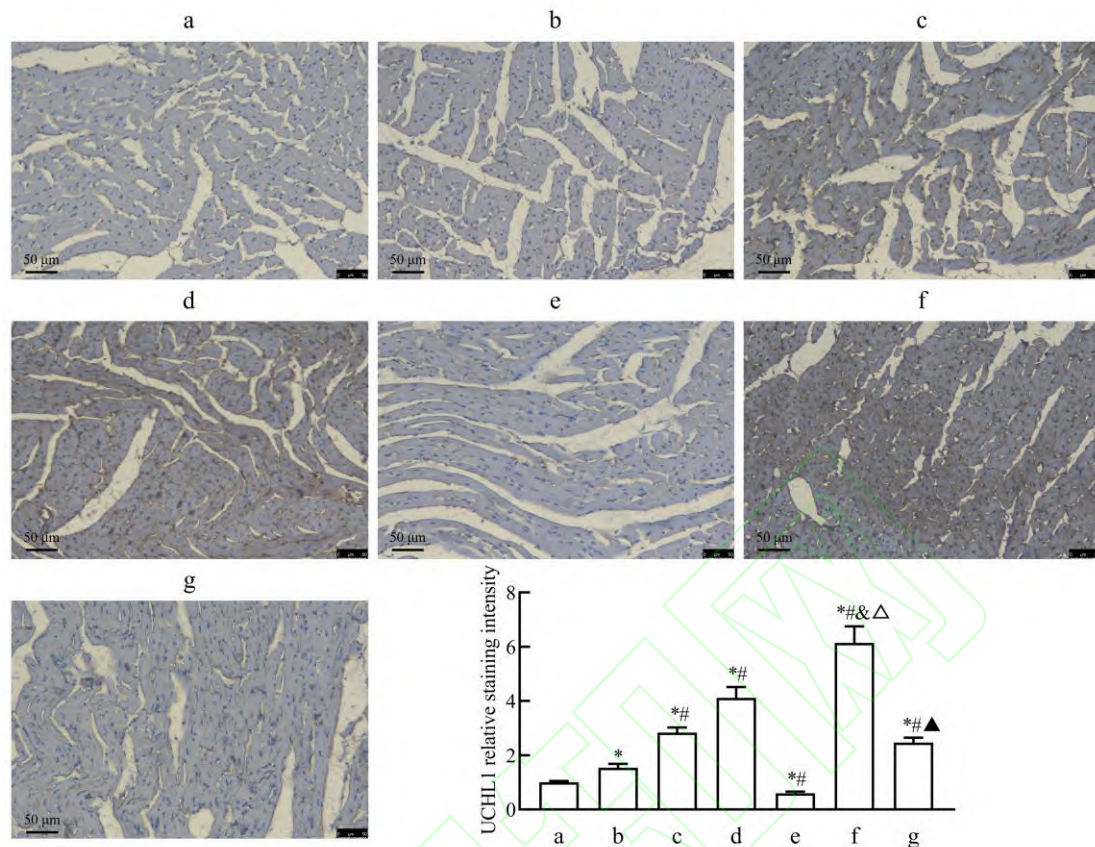


图9 各组小鼠心肌 UCHL1 免疫组化染色 ×200

Fig.9 UCHL1 immunohistochemical staining images of myocardium of mice in each group ×200

a: Sham group; b: MI group; c: SeVGMT group; d: CTRP3-Lv group; e: UCHL1-sh group; f: SeVGMT+CTRP3-Lv group; g: SeVGMT+CTRP3-Lv+UCHL1-sh group; * $P < 0.05$ vs Sham group; # $P < 0.05$ vs MI group; & $P < 0.05$ vs SeVGMT group; Δ $P < 0.05$ vs CTRP3-Lv group; ▲ $P < 0.05$ vs SeVGMT+CTRP3-Lv group.

3 讨论

该课题组在前期实验中通过高通量筛选增强 SeVGMT 重编程 CFs 的分子,发现 CTRP3 可能是增强 SeVGMT 重编程 CFs 的候选分子,在体外实验中进一步证实 CTRP3 可增强 SeVGMT 重编程 CFs 为 iCMs。因此,本研究探讨了 CTRP3 调控 SeVGMT 重编程 CFs 为 iCMs 后对 MI 小鼠的治疗效果,并分析可能的作用机制。结果显示,CTRP3 增强 SeVGMT 重编程 CFs 在治疗 MI 方面优于 SeVGMT 和 CTRP3-Lv 单独治疗。Song et al^[6]研究表明,CTRP3 在急性冠状动脉综合征 (acute coronary syndrome, ACS) 患者和心肌 I/R 小鼠中下调,CTRP3 的沉默加重了小鼠 I/R 引起的心脏功能障碍,而 CTRP3 的过表达改善了心脏功能。有报道^[7]表明,CTRP3 的过表达可以保护小鼠免受败血症诱导的心脏功能障碍,CTRP3 通过抑制

P2X7R-NLRP3 炎症体途径抑制 SHR 小鼠心肌纤维化^[8], CTRP3 通过靶向 Smad3 激活和抑制肌成纤维细胞分化来减轻梗死后心脏纤维化^[9]。结合本研究结果可知, CTRP3 不仅具有心脏保护作用, 而且可以通过增强 SeVGMT 重编程 CFs 为 iCMs 发挥良好的 MI 治疗效果。

泛素蛋白酶体系统 (ubiquitin-proteasome system, UPS) 是所有细胞 (包括心肌细胞) 中蛋白质功能的基本调节器, 参与蛋白质运输、细胞信号转导和降解^[10]。当 UPS 的组成部分正常运作时, 组成肌节、线粒体和细胞膜的蛋白质的完整性得以维持, 从而使心脏功能正常; 相反, UPS 功能的改变会直接导致心脏功能障碍^[11]。UCHL1 是 UPS 的重要成员, 是一种多功能蛋白, 可通过调节泛素化或非泛素化途径来控制细胞增殖、分化和细胞损伤^[12]。该课题组前期预实验证实, 过/抑制表达心肌细胞 CTRP3 可以增加/减少心肌细胞 UCHL1 的表达。因此, 该课题组推测 UCHL1 可能作为 CTRP3 下游分子调控 SeVGMT 重编程 CFs。本研究显示, 小鼠 MI 后 UCHL1 的 mRNA 和蛋白表达水平均升高, 该结果与 Geng et al^[13]研究结论一致, 该文献表明 MI 发生后小鼠和人类心肌细胞中的 UCHL1 表达水平显著升高。本研究还表明, CTRP3 的过表达上调了 UCHL1 的表达, 而沉默 UCHL1 则部分削弱了 CTRP3 增强 SeVGMT 重编程 CFs 对 MI 小鼠的治疗作用。Geng et al^[13]研究表明, 当使用 UCHL1 抑制剂 LDN-57444 治疗 MI 小鼠时, 与载体治疗相比, LDN-57444 损害了心脏功能, 表明 UCHL1 在 MI 中具有保护作用; 而对小鼠腹腔注射重组 UCHL1 可以显著保护 MI 后小鼠的心功能。Gao et al^[14]以小鼠成肌细胞 C2C12 为体外模型, 发现在细胞分化过程中, UCHL1 蛋白水平持续下降, 而沉默 UCHL1 表达会导致细胞增殖显著减少, 但显著加速细胞分化和肌管形成, 同时上调成肌调节因子和肌细胞生成素的表达, 这些数据表明, UCHL1 可能通过促进成肌细胞增殖和抑制分化在肌肉再生中发挥作用。上述结果说明, UCHL1 可能是介导 CTRP3 增强 SeVGMT 重编程 CFs 的分子之一, 进而介导其对 MI 的治疗作用。

综上所述, 本研究表明 CTRP3 介导 UCHL1 增强 SeVGMT 重编程 CFs 对小鼠 MI 的治疗作用。CTRP3 增强 SeVGMT 重编程 CFs 可能是治疗 MI 的候选疗法, 而 UCHL1 是调节心脏重编程 CFs 为 iCMs 的关键分子。

参考文献

[1] 王 毓, 彭建业, 朱明燕. MOTs-c 肽对心肌缺血再灌注大鼠心肌损伤的保护作用[J]. 安徽医科大学学报, 2024, 59(8): 1405-10. doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2024.08.017.

Wang Y, Peng J Y, Zhu M Y. Protective effect of MOTs-c peptide on myocardial injury in rats with myocardial ischemia reperfusion[J]. Acta Univ Med Anhui, 2024, 59(8): 1405-10.

doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2024.08.017.

- [2] 惠小珊, 张金生, 何庆勇, 等. Web of Science 数据库来源心肌细胞直接重编程研究热点: 文献计量学及可视化分析[J]. 中国组织工程研究, 2021, 25(32): 5123-31.
- Hui X S, Zhang J S, He Q Y, et al. Cardiomyocyte direct reprogramming: a scientometric and visualization analysis based on the Web of Science[J]. Chin J Tissue Eng Res, 2021, 25(32): 5123-31.
- [3] Qian L, Huang Y, Spencer C I, et al. *In vivo* reprogramming of murine cardiac fibroblasts into induced cardiomyocytes[J]. Nature, 2012, 485(7400): 593-8. doi:10.1038/nature11044.
- [4] Ieda M, Fu J D, Delgado-Olguin P, et al. Direct reprogramming of fibroblasts into functional cardiomyocytes by defined factors[J]. Cell, 2010, 142(3): 375-86. doi:10.1016/j.cell.2010.07.002.
- [5] Miyamoto K, Akiyama M, Tamura F, et al. Direct *in vivo* reprogramming with *Sendai virus* vectors improves cardiac function after myocardial infarction[J]. Cell Stem Cell, 2018, 22(1): 91-103.e5. doi:10.1016/j.stem.2017.11.010.
- [6] Song Y, Zhang Y, Wan Z, et al. CTRP3 alleviates myocardial ischemia/reperfusion injury in mice through activating LAMP1/JIP2/JNK pathway[J]. Int Immunopharmacol, 2022, 107: 108681. doi:10.1016/j.intimp.2022.108681.
- [7] Wei W Y, Ma Z G, Zhang N, et al. Overexpression of CTRP3 protects against sepsis-induced myocardial dysfunction in mice[J]. Mol Cell Endocrinol, 2018, 476: 27-36. doi:10.1016/j.mce.2018.04.006.
- [8] Liu N, Gong Z, Li Y, et al. CTRP3 inhibits myocardial fibrosis through the P2X7R-NLRP3 inflammasome pathway in SHR rats[J]. J Hypertens, 2024, 42(2): 315-28. doi:10.1097/HJH.0000000000003591.
- [9] Wu D, Lei H, Wang J Y, et al. CTRP3 attenuates post-infarct cardiac fibrosis by targeting Smad3 activation and inhibiting myofibroblast differentiation[J]. J Mol Med, 2015, 93(12): 1311-25. doi:10.1007/s00109-015-1309-8.
- [10] Rodríguez J E, Schisler J C, Patterson C, et al. Seek and destroy: the ubiquitin—proteasome system in cardiac disease[J]. Curr Hypertens Rep, 2009, 11(6): 396-405. doi:10.1007/s11906-009-0069-7.
- [11] Hu C, Tian Y, Xu H, et al. Inadequate ubiquitination-proteasome coupling contributes to myocardial ischemia-reperfusion injury[J]. J Clin Invest, 2018, 128(12): 5294-306. doi:10.1172/JCI98287.
- [12] Suong D N A, Thao D T P, Masamitsu Y, et al. Ubiquitin carboxyl hydrolase L1 significance for human diseases[J]. Protein Pept Lett, 2014, 21(7): 624-30. doi:10.2174/0929866521666140403125959.
- [13] Geng B, Wang X, Park K H, et al. UCHL1 protects against ischemic heart injury *via* activating HIF-1 α signal pathway[J]. Redox Biol, 2022, 52: 102295. doi:10.1016/j.redox.2022.102295.

- [14] Gao H, Hartnett S, Li Y. Ubiquitin C-Terminal Hydrolase L1 regulates myoblast proliferation and differentiation[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2017, 492(1): 96-102. doi:10.1016/j.bbrc.2017.08.027.

