

3'tRF-PheGAA 对 Ang II 诱导的心肌细胞肥大的调控作用及其机制

程雪丽 王凯 赵炎 王昆

(青岛大学转化医学研究院, 山东 青岛 266073)

[摘要] 目的 探讨 3'tRF-PheGAA 对血管紧张素 II (Ang II) 诱导的心肌细胞肥大的调控作用及其机制。方法 获取小鼠乳鼠的原代心肌细胞, 培养 24 h 以后分为 A~G 组。其中 A 组使用 DMEM/F12 完全培养液培养心肌细胞 36 h; B 组使用 NC 转染心肌细胞 36 h; C 组使用 agomir-3'tRF-PheGAA 转染心肌细胞 36 h; D 组使用 DMEM/F12 完全培养液培养心肌细胞 84 h; E 组在心肌细胞中加入终浓度为 1 $\mu\text{mol/L}$ 的 Ang II 处理 48 h; F 组使用 anta-NC 转染心肌细胞 36 h, 随后加入终浓度 1 $\mu\text{mol/L}$ 的 Ang II 处理 48 h; G 组使用 anta-3'tRF-PheGAA 转染心肌细胞 36 h, 随后加入终浓度 1 $\mu\text{mol/L}$ 的 Ang II 处理 48 h。采用实时荧光定量 PCR (RT-qPCR) 技术检测各组心肌细胞中 3'tRF-PheGAA 及心房钠利尿肽 (ANP)、脑钠肽 (BNP)、 β -重链肌球蛋白 (β -MHC) 基因表达水平; 使用罗丹明标记鬼笔环肽对各组心肌细胞中 F-肌动蛋白进行染色并计算心肌细胞骨架表面积。结果 RT-qPCR 检测结果显示, A~C 组心肌细胞中 3'tRF-PheGAA 及 ANP、BNP、 β -MHC 基因水平差异具有显著性 ($F = 137.10 \sim 1\ 061.00, P < 0.05$), 其中与 A 组相比, C 组 3'tRF-PheGAA 及 ANP、BNP、 β -MHC 基因水平显著上调 ($P < 0.05$); D~G 组心肌细胞 3'tRF-PheGAA 及 ANP、BNP、 β -MHC 基因表达水平差异具有显著性 ($F = 117.60 \sim 572.30, P < 0.05$), 其中与 E 组相比, G 组 3'tRF-PheGAA 及 ANP、BNP、 β -MHC 基因表达水平显著降低 ($P < 0.05$)。罗丹明标记的鬼笔环肽染色结果显示, A~C 组心肌细胞骨架表面积差异具有显著性 ($F = 35.06, P < 0.05$), 其中与 A 组相比, C 组细胞骨架表面积显著增加 ($P < 0.05$); D~G 组心肌细胞骨架表面积差异具有显著性 ($F = 48.05, P < 0.05$), 其中与 E 组相比, G 组细胞骨架表面积显著减少 ($P < 0.05$)。结论 3'tRF-PheGAA 通过抑制自身表达, 从而缓解 Ang II 诱导的心肌细胞肥大。

[关键词] RNA, 非翻译小片段; 血管紧张素 II; 肌细胞, 心脏; 心脏扩大

[中图分类号] R541 **[文献标志码]** A

Regulatory effect of 3'-tRF-PheGAA on Ang II-induced cardiomyocyte hypertrophy and its mechanism

CHENG Xueli, WANG Kai, ZHAO Yan, WANG Kun (Institute of Translational Medicine, Qingdao University, Qingdao 266073, China)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the regulatory effect of 3'-tRF-PheGAA on angiotensin II (Ang II)-induced cardiomyocyte hypertrophy and its mechanism. **Methods** Primary cardiomyocytes of neonatal mice were obtained and cultured for 24 h, and were then divided into groups A to G. The cardiomyocytes in group A were cultured with DMEM/F12 complete culture medium for 36 h. The cardiomyocytes in group B were transfected with negative control (NC) for 36 h. The cardiomyocytes in group C were transfected with agomir-3'-tRF-PheGAA for 36 h. The cardiomyocytes in group D were cultured with DMEM/F12 complete culture medium for 84 h. The cardiomyocytes in group E were treated with Ang II at a final concentration of 1 $\mu\text{mol/L}$ for 48 h. The cardiomyocytes in group F were transfected with anta-NC for 36 h and then treated with Ang II at a final concentration of 1 $\mu\text{mol/L}$ for 48 h. The cardiomyocytes in group G were transfected with anta-3'-tRF-PheGAA for 36 h and then treated with Ang II at a final concentration of 1 $\mu\text{mol/L}$ for 48 h. Reverse transcription-quantitative polymerase chain reaction (RT-qPCR) was used to determine the gene expression levels of 3'-tRF-PheGAA, atrial natriuretic peptide (ANP), brain natriuretic peptide (BNP), and β -myosin heavy chain (β -MHC) in the cardiomyocytes in each group. Rhodamine-labeled phalloidin was used to stain F-actin in the cardiomyocytes in each group and calculate the skeletal surface area of cardiomyocytes. **Results** The RT-qPCR results showed significant differences between groups A to C in the gene expression levels of 3'-tRF-PheGAA, ANP, BNP, and β -MHC in cardiomyocytes ($F = 137.10 - 1\ 061.00, P < 0.05$). The gene expression levels of 3'-tRF-PheGAA, ANP, BNP, and β -MHC were significantly upregulated in group C compared to group A ($P < 0.05$). There were significant differences between groups D to G in gene expression levels of 3'-tRF-PheGAA, ANP, BNP, and β -MHC in cardiomyocytes ($F = 117.60 - 572.30, P < 0.05$). The gene expression levels of 3'-tRF-PheGAA, ANP, BNP, and β -MHC were significantly decreased in group G compared to group E ($P < 0.05$). The staining results of rhodamine-labeled phalloidin showed significant differences between groups A to C in

the skeletal surface area of cardiomyocytes ($F = 35.06, P < 0.05$).

The skeletal surface area was significantly increased in group C compared to group A ($P < 0.05$). There were significant differences

[收稿日期] 2024-04-27; **[修订日期]** 2024-06-12

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(82070313)

[通讯作者] 王昆, Email: wangk696@qdu.edu.cn

between groups D to G in skeletal surface area of cardiomyocytes ($F=48.05, P<0.05$); the skeletal surface area was significantly reduced in group G compared to group E ($P<0.05$). **Conclusion** 3'-tRF-PheGAA inhibit its expression to alleviate Ang II-induced cardiomyocyte hypertrophy by inhibiting 3'-tRF-PheGAA expression.

[KEY WORDS] RNA, small untranslated; Angiotensin II; Myocytes, cardiac; Cardiomegaly

近年来随着社会工作节奏加快和人民生活水平提高,青年人心血管疾病的发病率和死亡率逐年上升^[1]。心肌肥厚是由于心脏为适应超负荷工作而导致的病理性肥厚,其最终可导致患者心律失常、心力衰竭甚至死亡。随着高通量 RNA 测序广泛应用,越来越多的非编码 RNA 被发现。tsRNA 是一种新发现的功能性非编码小 RNA,是 tRNA 的衍生片段(tRFs),由特定的核酸酶裂解而成^[2]。根据前体或者成熟 tRNA 的切割位置不同,tsRNA 一般可分为 5'RNA 半体、3'tRNA 半体、tRF-1、5'UtRF、3'tRF、5'tRF 和 tiRNA^[3-4]。有研究发现 tsRNAs 可以调节细胞和组织的基因表达、蛋白质翻译及应激反应,并在细胞周期、细胞间通讯、表观遗传及抗细胞凋亡等基本生物学过程中发挥作用^[5-8],同时 tsRNAs 可能参与心肌细胞肥大的病理生理过程^[9]。血管紧张素(Ang)是心脏肥大和心力衰竭的生物标志物,也属于核糖核酸内切酶家族,可调节 tsRNAs 的生物发生和降解^[9]。本课题组前期实验发现 3'tRF-PheGAA 在肥大心肌组织及 Ang II 诱导的心肌细胞中均呈高表达,但其具体作用尚不清楚。本研究旨在探究 3'tRF-PheGAA 在 Ang II 诱导的心肌细胞肥大中的调控作用及其机制。

1 材料与方 法

1.1 实验材料

1~3 日龄雌雄不限的小鼠乳鼠购自青岛大任富城畜牧有限公司,DMEM/F12 培养基购自武汉谱诺赛生物科技有限公司,RNA 逆转录试剂盒购自杭州艾科瑞生物科技有限公司,SYBR Green qPCR Master Mix 购买于苏州莫纳生物科技有限公司,GAPDH 和 U6 购自上海生工生物工程技术有限公司,Lipo8000™转染试剂购自上海碧云天生物技术股份有限公司,罗丹明标记鬼笔环肽购自上海翊圣生物科技有限公司,胎牛血清购自苏州依科赛生物科技股份有限公司,II 型胶原酶购买于美国 Worthington 公司,胰液素购自美国西格玛公司,青/链霉素购自北京索莱宝生物科技有限公司,4%多聚甲醛购自广州赛国生物科技有限公司。

1.2 小鼠乳鼠原代心肌细胞的获取及培养

使用体积分数 0.75 的乙醇溶液清洁小鼠乳鼠,

并置于冰砖上低温麻醉,接着使用弯剪剪开小鼠左胸腔,取出小鼠心脏置于磷酸缓冲盐溶液(PBS)中清洗,然后剪碎并收集到锥形瓶中。在锥形瓶中加入 5 mL 由 2 mL II 型胶原酶(0.2 g/L)、700 μ L 胰液素(0.14 g/L)和 47.3 mL PBS 配制的消化液,将锥形瓶在 37 $^{\circ}$ C 水浴锅中消化 7 min,收集上清液至装有体积分数 0.05 的胎牛血清的离心管中,置于冰上备用。重复上述消化步骤 7~8 次至组织块消失以后,将收集的所有上清液以 1 000 r/min 离心 5 min,弃上清液,沉淀中加入 DMEM/F12 培养液重悬。再以 1 000 r/min 离心 5 min,弃上清液,沉淀中加入 DMEM/F12 完全培养液(含体积分数 0.05 的胎牛血清及体积分数 0.01 的青/链霉素混合液)重悬。使用 300 目过滤网过滤重悬液,收集滤液至培养皿,在 37 $^{\circ}$ C 含体积分数 0.05 的 CO₂ 的培养箱中差速贴壁培养 1.5 h,未贴壁的上清液即为小鼠乳鼠原代心肌细胞,已贴壁的细胞为成纤维细胞。将两种细胞根据后续实验需求接种于培养皿中,贴壁 24 h 后换液,用于后续实验。

1.3 小鼠乳鼠心肌细胞的分组及转染

将小鼠乳鼠心肌细胞分别接种于 6、24 孔板中,当细胞融合度达 70%~80%时,按照 Lipo8000™转染试剂说明书进行转染。具体步骤如下:A 组使用 DMEM/F12 完全培养液培养小鼠乳鼠心肌细胞 36 h;B 组使用 NC 转染心肌细胞 36 h;C 组使用 agomir-3'tRF-PheGAA 转染心肌细胞 36 h;D 组使用 DMEM/F12 完全培养液培养心肌细胞 84 h;E 组在心肌细胞中加入终浓度 1 μ mol/L 的 Ang II 处理 48 h^[10];F 组使用 anta-NC 转染心肌细胞 36 h,随后加入终浓度 1 μ mol/L 的 Ang II 处理 48 h;G 组使用 anta-3'tRF-PheGAA 转染心肌细胞 36 h,随后加入终浓度 1 μ mol/L 的 Ang II 处理 48 h。另取一部分 1.2 中得到的成纤维细胞和心肌细胞,分别接种于 6 孔板中,使用 DMEM/F12 完全培养液培养 24 h 以后,用于实时荧光定量 PCR(RT-qPCR)检测。

1.4 RT-qPCR 技术检测各组小鼠乳鼠心肌细胞和成纤维细胞中 3'tRF-PheGAA 及心肌肥大标志物基因表达水平

使用 Trizol 法提取 1.3 中得到的 A~G 组心肌

细胞总 RNA, 反转录获得 cDNA, 随后使用 RT-qPCR 技术检测心肌细胞中 3'tRF-PheGAA(U6 为内参)和心肌肥大标志物心房钠尿肽(ANP)、脑钠肽(BNP)、β-重链肌球蛋白(β-MHC)(GAPDH 为内参)mRNA 表达水平。提取 1.3 中培养 24 h 的成纤维细胞和心肌细胞总 RNA, 反转录获得 cDNA, 随后检测 3'tRF-PheGAA 的表达水平。结果取 3 次实验均值。引物名称及序列见表 1。

表 1 引物序列及长度

名称	序列	长度 (bp)
3'tRF-PheGAA	RT:5'-GTCGTATCCAGTGCAGGGTCCGAGG-TATTTCGCACTGGATACGACTGGTGC-3'	50
	F:5'-CGCGTCCCGGGTTTCA-3'	16
	R:5'-AGTGCAGGGTCCGAGGTATT-3'	20
ANP	F:5'-CTCCGATAGATCTGCCCTCTTGAA-3'	24
	R:5'-GGTACCGGAAGCTGTTGCAGCCTA-3'	24
BNP	F:5'-GCTCTTGAAGGACCAAGGCCTCAC-3'	24
	R:5'-GATCCGATCCGGTCTATCTTGTGC-3'	24
β-MHC	F:5'-CAGACATAGAGACCTACCTTC-3'	21
	R:5'-CAGCATGTCTAGAAGCTCAGG-3'	21
U6	F:5'-CTTCGGCAGCACATATACTAA-3'	21
	R:5'-AACGCTTCACGAATTTGCGT-3'	21
GAPDH	R:5'-AGGTCCGTGTGAACGGATTTG-3'	21
	F:5'-TGTAGACCATGTAGTTGAGGTCA-3'	21

1.5 小鼠乳鼠心肌细胞骨架表面积计算

将步骤 1.3 的 24 孔板中各组心肌细胞用 PBS 洗涤 3 次后, 使用 4% 多聚甲醛固定 15 min, 根据罗丹明标记鬼笔环肽说明书中的要求进行染色, 封片后于 -20 °C 条件下保存, 通过普通荧光显微镜观察细胞骨架并拍照, 使用 Image J 软件测量纤维状肌动蛋白(F-肌动蛋白)染色表面积以评估心肌细胞肥大情况。实验重复 5 次, 结果取均值。

1.6 统计学分析

使用 GraphPad Prism 9.0 软件对数据进行统计学分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 多组间比较采用单因素方差分析, 组间两两比较采用 Turkey 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 小鼠乳鼠心肌细胞和成纤维细胞中 3'tRF-

PheGAA 相对表达水平比较

RT-qPCR 结果显示, 3'tRF-PheGAA 在心肌细胞和成纤维细胞中表达水平分别为 1.00 ± 0.02 、 0.26 ± 0.03 , 心肌细胞中 3'tRF-PheGAA 表达水平较成纤维细胞显著升高 ($t = 35.90, P < 0.05$)。

2.2 A~C 组小鼠心肌细胞中 3'tRF-PheGAA 及 ANP、BNP、β-MHC 的 mRNA 表达水平及细胞骨架表面积比较

RT-qPCR 技术检测结果显示, 三组心肌细胞中 3'tRF-PheGAA 及 ANP、BNP、β-MHC 表达水平差异有显著性 ($F = 137.10 \sim 1\ 061.00, P < 0.05$), 其中与 A 组相比, C 组上述指标表达水平均显著增加 ($P < 0.05$)。罗丹明标记鬼笔环肽染色结果显示, 三组心肌细胞骨架表面积分别为 (1.00 ± 0.10)、(1.03 ± 0.10) 和 (1.66 ± 0.19) μm^2 , 三组比较差异有显著性 ($F = 35.06, P < 0.05$), 其中与 A 组相比, C 组细胞骨架表面积显著增加 ($P < 0.05$)。见表 2、图 1A~C。

表 2 A~C 组中 3'tRF-PheGAA 及心肌肥大标志物基因表达水平比较 ($n = 3, \bar{x} \pm s$)

组别	3'tRF-PheGAA	ANP	BNP	β-MHC
A 组	1.00 ± 0.05	1.00 ± 0.08	1.00 ± 0.03	1.00 ± 0.06
B 组	0.93 ± 0.08	0.99 ± 0.15	0.92 ± 0.06	1.00 ± 0.07
C 组	6.66 ± 0.68	4.80 ± 0.37	4.05 ± 0.45	4.47 ± 0.16

2.3 D~G 组小鼠心肌细胞中 3'tRF-PheGAA 及 ANP、BNP、β-MHC 的 mRNA 表达水平及细胞骨架表面积比较

RT-qPCR 技术检测结果显示, D~G 组细胞中 3'tRF-PheGAA 及 ANP、BNP、β-MHC 的 mRNA 表达水平差异有显著性 ($F = 117.60 \sim 572.30, P < 0.05$); 与 E 组相比, G 组上述指标表达水平显著降低 ($P < 0.05$)。罗丹明标记鬼笔环肽染色结果显示, D~G 组心肌细胞骨架表面积分别为 (1.00 ± 0.13)、(1.65 ± 0.13)、(1.68 ± 0.07) 和 (1.26 ± 0.07) μm^2 , 四组比较差异具有显著意义 ($F = 48.05, P < 0.05$), 其中与 E 组相比, G 组细胞的骨架表面积显著减小 ($P < 0.05$)。见图 1D~G、表 3。

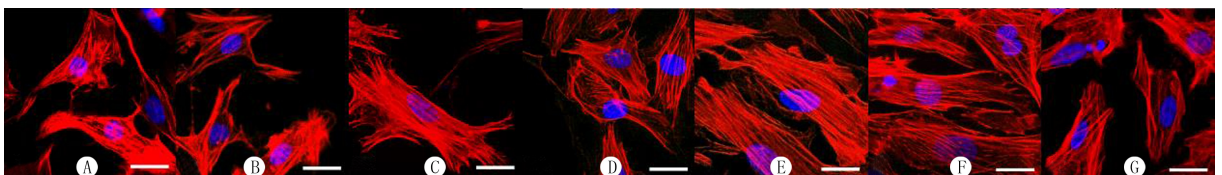


图 1 A~G 组心肌细胞罗丹明标记鬼笔环肽染色结果 (400 倍)

表 3 D~G 组小鼠心肌细胞中 3'tRF-PheGAA 及心肌肥大标志物基因表达水平比较 (n=3, $\bar{x} \pm s$)

组别	3'tRF-PheGAA	ANP	BNP	β -MHC
D 组	1.07±0.08	1.00±0.12	1.00±0.14	1.01±0.12
E 组	3.01±0.20	4.08±0.19	3.45±0.19	4.43±0.26
F 组	2.83±0.23	4.19±0.09	3.61±0.09	4.13±0.26
G 组	1.14±0.13	1.06±0.08	1.31±0.09	1.79±0.09

3 讨 论

我国目前是全球心血管疾病负担最重的国家之一^[11]。由于现在人类生活方式的改变,心血管疾病流行情况也在发生变化,农村居民较城镇占比更高,发病人群也越来越年轻化^[12]。心脏肥厚分为病理性肥厚和生理性肥厚,病理性肥厚多由高血压、心肌梗死、结构性心脏疾病等造成^[13],此时心肌肥大细胞中 ANP、BNP、 β -MHC 表达水平会明显上调,细胞表面积变大^[14]。然而,持续病理超负荷会引起心脏适应不良及重塑,导致心力衰竭^[15]。目前对心肌肥大机制的研究还不够深入,因此对心肌肥大分子机制的研究具有重要意义。

近年来,新类别的非编码 RNA 正在逐渐被发现^[16-17]。长期以来,tRNA 被认为是参与蛋白质翻译过程的重要组分,其衍生片段 tsRNA 包括 tiRNA 和 tRFs,参与细胞的增殖、分化、凋亡,以及基因的调控、转座子抑制等细胞生物学过程,从而影响疾病的发生发展^[7,18-19]。tsRNA 调节 mRNA 的失稳、翻译及逆转录和转录后过程。SHEN 等^[21]研究发现,tRF-5 在异丙肾上腺素诱导的大鼠肥大心肌中高表达,而 tRFs1 和 tRFs2 的过表达则导致了心肌肥大标志物 ANP、BNP、 β -MHC 基因的上调。在小鼠胚胎成纤维细胞中,过表达的 tsRNA 通过竞争性结合细胞色素 C,可抑制成纤维细胞凋亡^[20]。SHEN 等^[21]研究表明,tRFs 在异丙肾上腺素诱导的大鼠心脏肥大中可能参与了心肌肥大的代际遗传,且 tRFs 对于心肌肥大的影响在大鼠后代中更加明显。低蛋白饮食小鼠父系睾丸生殖细胞中活性氧的产生增加,可通过激活 ATF7 和 H3K9me2 的表达调节 tsRNA 转录^[22]。有研究也发现,应激反应条件(如氧化应激、缺氧、衰老和代谢紊乱等等)可诱导人及小鼠心肌组织中 tsRNA 异常表达^[23-25]。在心脏肥大、心肌缺血、动脉粥样硬化、静脉曲张和肺动脉高压等疾病中,心脏组织 tsRNA 表达水平均发生变化^[9]。根据特定类型 tsRNA 在心血管疾病发生发展中发挥的积极或消极作用,tsRNA 可能为

该类疾病新型治疗靶点或特定生物标志物的研究提供新思路。但是目前心血管疾病中的 tsRNA 的作用靶点、结合位点、诱导剂和调节因子仍不清楚,其结合方式、修饰类型、作用机制更是知之甚少。

本研究前期实验发现,3'tRF-PheGAA 在 Ang II 诱导的小鼠乳鼠心肌肥大细胞中表达明显上调,并且心肌细胞比成纤维细胞中的表达水平更高。本研究通过表达以及抑制小鼠乳鼠原代心肌细胞的 3'tRF-PheGAA,通过检测心肌细胞中 3'tRF-PheGAA 及 ANP、BNP、 β -MHC mRNA 表达水平及测量心肌细胞骨架表面积大小等指标,探讨心肌细胞肥大与 3'tRF-PheGAA 表达的关系。研究结果显示,C 组心肌细胞中 3'tRF-PheGAA 表达明显上调,心肌细胞肥大指标 ANP、BNP、 β -MHC mRNA 也明显上调,且 C 组心肌细胞骨架表面积较 A 组表面积明显增大,表明过表达 3'tRF-PheGAA 可诱导小鼠乳鼠心肌细胞肥大。在 D~G 组中,G 组心肌细胞中 3'tRF-PheGAA 表达相较于 E 组明显下调,心肌肥大指标 ANP、BNP、 β -MHC mRNA 也明显下调,细胞骨架表面积相较于 E、F 组则明显减小,表明抑制 3'tRF-PheGAA 表达可缓解 Ang II 诱导的心肌细胞肥大。

综上所述,抑制小鼠乳鼠原代心肌细胞当中的 3'tRF-PheGAA 表达能够缓解 Ang II 诱导的心肌细胞肥大,3'tRF-PheGAA 可能是潜在的治疗心肌细胞肥大的靶点,但其具体分子机制还有待后续深入研究。

伦理批准和动物权利声明:本研究涉及的所有动物实验均已通过青岛大学实验动物福利伦理委员会的审核批准(文件号 20220220-C579020230725017)。所有实验过程均遵照《青岛大学动物福利伦理守则》的条例进行。

作者声明:程雪丽、王凯、赵炎参与了研究设计;程雪丽、王昆参与了论文的写作和修改。所有作者均阅读并同意发表该论文,且均声明不存在利益冲突。

[参考文献]

[1] ANTZA C, GALLO A, BOUTARI C, et al. Prevention of cardiovascular disease in young adults: Focus on gender differences. A collaborative review from the EAS Young Fellows [J]. *Atherosclerosis*, 2023,384:117272.

[2] WEN J T, HUANG Z H, LI Q H, et al. Research progress on the tsRNA classification, function, and application in gynecological malignant tumors[J]. *Cell Death Discov*, 2021,7(1): 388.

[3] SELITSKY S R, SETHUPATHY P. tDRmapper: Challenges

- and solutions to mapping, naming, and quantifying tRNA-derived RNAs from human small RNA-sequencing data[J]. *BMC Bioinformatics*, 2015,16:354.
- [4] LI S Q, XU Z P, SHENG J H. tRNA-derived small RNA: A novel regulatory small non-coding RNA[J]. *Genes*, 2018,9(5):246.
- [5] CHEN Q, ZHANG X D, SHI J C, et al. Origins and evolving functionalities of tRNA-derived small RNAs[J]. *Trends Biochem Sci*, 2021,46(10):790-804.
- [6] ZHANG Y F, ZHANG X D, SHI J C, et al. Dnmt2 mediates intergenerational transmission of paternally acquired metabolic disorders through sperm small non-coding RNAs[J]. *Nat Cell Biol*, 2018,20(5):535-540.
- [7] CHEN Q, YAN M H, CAO Z H, et al. Sperm tsRNAs contribute to intergenerational inheritance of an acquired metabolic disorder[J]. *Science*, 2016,351(6271):397-400.
- [8] YOSHIDA K, MAEKAWA T, LY N H, et al. ATF7-dependent epigenetic changes are required for the intergenerational effect of a paternal low-protein diet[J]. *Mol Cell*, 2020,78(3):445-458.e6.
- [9] WANG S X, LUO Z Y, YUAN L D, et al. tRNA-derived small RNAs: Novel insights into the pathogenesis and treatment of cardiovascular diseases[J]. *J Cardiovasc Transl Res*, 2023,16(2):300-309.
- [10] ZHOU Q L, PAN L L, XUE R C, et al. The anti-microbial peptide LL-37/CRAMP levels are associated with acute heart failure and can attenuate cardiac dysfunction in multiple pre-clinical models of heart failure [J]. *Theranostics*, 2020,10(14):6167-6181.
- [11] THE WCOTROCHADIC. Report on cardiovascular health and diseases in China 2022; An updated summary[J]. *Biomed Environ Sci*, 2023,36(8):669-701.
- [12] ZHAO D, LIU J, WANG M, et al. Epidemiology of cardiovascular disease in China; Current features and implications [J]. *Nat Rev Cardiol*, 2019,16(4):203-212.
- [13] OKA T, AKAZAWA H, NAITO A T, et al. Angiogenesis and cardiac hypertrophy; Maintenance of cardiac function and causative roles in heart failure[J]. *Circ Res*, 2014,114(3):565-571.
- [14] CAMACHO LONDOÑO J E, TIAN Q H, HAMMER K, et al. A background Ca²⁺ entry pathway mediated by TRPC1/TRPC4 is critical for development of pathological cardiac remodeling[J]. *Eur Heart J*, 2015,36(33):2257-2266.
- [15] ZHUANG L F, JIA K N, CHEN C, et al. DYRK1B-STAT3 drives cardiac hypertrophy and heart failure by impairing mitochondrial bioenergetics[J]. *Circulation*, 2022,145(11):829-846.
- [16] GIRALDEZ M D, SPENGLER R M, ETHERIDGE A, et al. Erratum: Comprehensive multi-center assessment of small RNA-seq methods for quantitative miRNA profiling[J]. *Nat Biotechnol*, 2018,36(9):899.
- [17] LIU Q, DING C J, LANG X Q, et al. Small noncoding RNA discovery and profiling with sRNA tools based on high-throughput sequencing[J]. *Brief Bioinform*, 2021,22(1):463-473.
- [18] PENG E Y, SHU Y, WU Y K, et al. Presence and diagnostic value of circulating tsncRNA for ovarian tumor[J]. *Mol Cancer*, 2018,17(1):163.
- [19] KIM H K, FUCHS G, WANG S C, et al. A transfer-RNA-derived small RNA regulates ribosome biogenesis[J]. *Nature*, 2017,552(7683):57-62.
- [20] WANG H J, ZHU J, JIANG L P, et al. Mechanism of Heshouwu Yin inhibiting the Cyt c/Apaf-1/Caspase-9/Caspase-3 pathway in spermatogenic cell apoptosis[J]. *BMC Complement Med Ther*, 2020,20(1):180.
- [21] SHEN L Y, GAN M L, TAN Z D, et al. A novel class of tRNA-derived small non-coding RNAs respond to myocardial hypertrophy and contribute to intergenerational inheritance[J]. *Biomolecules*, 2018,8(3):54.
- [22] ZHANG X D, CHEN Q. A twist between ROS and sperm-mediated intergenerational epigenetic inheritance[J]. *Mol Cell*, 2020,78(3):371-373.
- [23] FU H J, FENG J J, LIU Q, et al. Stress induces tRNA cleavage by angiogenin in mammalian cells[J]. *FEBS Lett*, 2009,583(2):437-442.
- [24] WANG J, HAN B, YI Y C, et al. Expression profiles and functional analysis of plasma tRNA-derived small RNAs in children with fulminant myocarditis[J]. *Epigenomics*, 2021,13(13):1057-1075.
- [25] YANG Z Y, LI P F, LI Z Q, et al. Altered expression of transfer-RNA-derived small RNAs in human with rheumatic heart disease[J]. *Front Cardiovasc Med*, 2021,8:716716.

(本文编辑 范睿心 厉建强)

(上接第 193 页)

- [18] KIM K K, SHEPPARD D, CHAPMAN H A. TGF-β1 signaling and tissue fibrosis[J]. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2018,10(4):a022293.
- [19] YUAN Q, TANG B, ZHANG C. Signaling pathways of chronic kidney diseases, implications for therapeutics[J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2022,7(1):182.
- [20] MASSAGUÉ J, SHEPPARD D. TGF-β signaling in health and disease[J]. *Cell*, 2023,186(19):4007-4037.
- [21] SUN C Y, CHANG S C, WU M S. Uremic toxins induce kidney fibrosis by activating intrarenal renin-angiotensin-aldosterone system associated epithelial-to-mesenchymal transition [J]. *PLoS One*, 2012,7(3):e34026.
- [22] CAI H D, WANG J, LUO Y Y, et al. *Lindera aggregata* intervenes adenine-induced chronic kidney disease by mediating metabolism and TGF-β/Smad signaling pathway[J]. *Biomedicine Pharmacother*, 2021,134:111098.

(本文编辑 耿波)