

心力衰竭患者 Circ-PALLD 的高表达受转录因子 GATA4 的转录调控

黄卓^{1,2}, 曾振宇², 李佳², 蔡蕊^{1,2}, 贺文霞², 胡淑婷¹

¹宁夏医科大学基础医学院, 宁夏 银川 750004; ²海军军医大学附属长海医院心内科, 上海 200433

摘要:目的 确定环状RNA-Circ-PALLD在心力衰竭中的表达变化;初步探究Circ-PALLD的生物学发生。方法 通过现有分析人和鼠心衰样本中的二代测序结果,确定候选CircRNAs;PCR扩增后进行Sanger一代测序,比对测序结果,确定对应CircRNA的反向剪接方式;纳入我院心衰患者8例,提取RNA后进行PCR扩增,检测CircRNAs与线性RNA的表达;RT-qPCR检测在衰竭心肌中Circ-PALLD与PALLD的表达水平;生物信息学预测可能调控基因PALLD的转录因子;设计并合成针对GATA4的siRNA,确定转录因子GATA4对PALLD的调控作用。结果 Sanger测序和序列比对验证了Circ-VWA8, Circ-VMP1, Circ-PRDM5, Circ-PLCL2, Circ-PALLD, Circ-NFATC3, Circ-MLIP, Circ-FAM208A, Circ-ANKIB1, Circ-AGTPBP1的反向剪接,证明了其成环性,确定了反向剪接的外显子排列;半定量PCR结果表明Circ-PALLD, Circ-NFATC3和Circ-AGTPBP1在心衰患者的心肌组织中表达水平明显增加,而其中线性PALLD的表达水平明显降低,提示Circ-PALLD在慢性心衰中的潜在作用;通过生物信息学分析后发现PALLD的转录可能受转录因子GATA4所调控;RT-qPCR结果表明,Circ-PALLD在衰竭心肌中表达水平明显升高,而PALLD表达水平明显降低,其结果与半定量PCR结果一致;在原代乳鼠心肌细胞中敲降GATA4后Circ-PALLD与PALLD表达水平均降低。结论 Circ-PALLD在心衰中高表达,可作为慢性心衰的新型分子标志物,且转录因子GATA4在PALLD的转录中或有重要作用,因此Circ-PALLD可能为心力衰竭发生的分子机制提供新的研究方向并且为心衰治疗提供了潜在的药物靶点。

关键词:心力衰竭;GATA4;Circ-PALLD;生物标志物

High expression of Circ-PALLD in heart failure is transcriptionally regulated by the transcription factor GATA4

HUANG Zhuo^{1,2}, ZENG Zhenyu², LI Jia², CAI Rui^{1,2}, HE Wenxia², HU Shuting¹

¹School of Basic Medical Sciences, Ningxia Medical University, Yinchuan 750004, China; ²Department of Heart Medicine, Changhai Hospital, Naval Medical University, Shanghai 200433, China

Abstract: Objective To determine the changes in the expression of circular RNA Circ-PALLD in heart failure and explore the biogenesis of Circ-PALLD. **Methods** We analyzed second-generation sequencing results of human and murine heart failure samples to identify the candidate CircRNAs. Sanger generation sequencing was performed after PCR amplification, and the sequencing results were compared to determine the reverse splicing pattern of the corresponding CircRNAs. We further examined the expressions of CircRNAs and linear RNAs in 8 patients with heart failure admitted in our hospital, and RT-qPCR was performed to detect the expression levels of Circ-PALLD and PALLD in the failing myocardium. Bioinformatic analysis was performed to predict the transcription factors that may regulate PALLD. Small interfering RNAs (siRNAs) against GATA4 were used to determine the regulatory effect of the transcription factor GATA4 on PALLD. **Results** Sanger sequencing and sequence alignment verified the reverse splicing of Circ-VWA8, Circ-VMP1, Circ-PRDM5, Circ-PLCL2, Circ-PALLD, Circ-NFATC3, Circ-MLIP, Circ-FAM208A, Circ-ANKIB1, and Circ-AGTPBP1, demonstrated their loop-forming nature and determined the exon arrangement of reverse splicing. Semi-quantitative PCR results showed that the expression levels of Circ-PALLD, Circ-NFATC3 and Circ-AGTPBP1 were significantly increased while the expression level of linear PALLD was significantly decreased in the myocardial tissues of heart failure patients. Bioinformatic analysis suggested that the transcription of PALLD was regulated possibly by the transcription factor GATA4. RT-qPCR showed that the expression level of Circ-PALLD was significantly increased, while PALLD expression was significantly decreased in the failing myocardium, which was consistent with the results of semi-quantitative PCR. In primary mammary rat cardiomyocytes, GATA4 knockdown resulted in lowered expressions of both Circ-PALLD and PALLD. **Conclusion** Circ-PALLD is highly expressed in heart failure and can be used as a novel molecular marker for chronic heart failure, and GATA4 may play important role in regulating its transcription. Circ-PALLD points a new direction for investigating the molecular mechanism of heart failure and may also serve as a potential therapeutic target for heart failure.

Keywords: heart failure; GATA4; Circ-PALLD; biomarker

收稿日期:2023-02-28

基金项目:国家自然科学基金(81760076)

Supported by National Natural Science Foundation of China (81760076).

作者简介:黄卓,在读硕士研究生,E-mail: d18647053228@163.com

通信作者:胡淑婷,博士,教授,E-mail: hst7312@163.com

在真核生物基因组中,大约90%的基因是转录基因,在这些转录基因中只有1%~2%编码蛋白质,其他大多数转录为非编码RNA(ncRNA)。非编码RNA不编码蛋白质,但却在基因表达调控中发挥重要作用^[1]。最近研究表明,前体RNA(pre-mRNA)可以通过不同的选

择性剪接产生不同的RNA种类^[2]。前体mRNA可经反向剪接形成一种共价闭合的连续环,也就是CircRNAs。并且CircRNAs因其特殊的剪接方式,与线性RNA相比,缺少5'端甲基鸟苷帽子和3'端poly-A尾结构,并且CircRNAs的半衰期明显小于线性RNA分子^[3]。CircRNAs因其结构的特殊,可以抵抗核糖核酸外切酶的降解,以及对RNA折叠的限制^[4]。同时CircRNAs可以通过调节线性RNA转录,下游基因表达和蛋白质或肽翻译,在许多生物过程中起着至关重要的作用^[5]。据报道CircRNAs的异常调节是各种心血管疾病和代谢紊乱(包括肥胖,高血压)的主要变化之一^[6]。并且在心血管疾病中异常表达的CircRNAs可作为心血管疾病临床诊断和判断预后的分子标记物以及潜在的治疗靶点^[7]。

有报道称CircRNAs参与心力衰竭、心肌梗死和心脏重构的病理过程^[8],但只有少数CircRNAs被证明与心功能有关^[9],这些CircRNAs是否与慢性心衰有关,并且参与了心力衰竭的发病机制尚不清楚,有待进一步研究^[10]。到目前为止心血管系统中CircRNAs的调控机制与其在衰竭心肌中的表达情况的相关报道甚少。为了研究CircRNAs在心血管疾病中的功能和作用,本研究对已报道的在人和鼠的心衰样本中异常表达的10种CircRNAs分子进行测序^[11, 12],并设计引物,探讨CircRNAs与其线性RNA(linear RNA)在人心衰心肌的表达情况并做对比分析,从中筛选出在衰竭心肌中具有表达差异的CircRNAs——Circ-PALLD。现在很多研究表明,CircRNAs可以与转录因子结合调控基因的表达,但对调控CircRNAs的机制研究却知之甚少。本研究通过生物信息学对调控PALLD的转录因子进行预测,探讨在慢性心衰过程中Circ-PALLD潜在的生物学功能,加深对CircRNAs的了解。

1 资料和方法

1.1 研究对象

1.1.1 病例来源 所有病例来自于海军军医大学第一附属医院2021年5月1日~2023年2月15日期间出院诊断符合CHF的患者,年龄 ≥ 18 岁,心衰病史 ≥ 6 个月。均签署知情同意书。

1.1.2 实验动物 SPF级SD大鼠6只,1~3 d龄,购自上海市计划生育科学研究所实验动物经营部。SPF级动物房饲养,本文的动物实验操作均通过宁夏医科大学医学伦理审查委员会已批准(审批编号:2017-014)。

1.2 主要试剂

胶回收试剂盒(天根生化);75%酒精(国药集团);Hank's平衡盐溶液(上海源培生物科技);1% I型胶原酶,BrdU (Sigma);胎牛血清,RIPA裂解液(上海碧云

天生物);DMEM培养基(武汉普诺赛生命科技);Hieff Trans™脂质体核酸转染试剂,2×Hieff PCR Master Mix(翌圣生物科技);Trizol Reagent,PVDF膜(默克);反转录试剂盒HiScript III RT SuperMix for qPCR(+gDNA wiper)试剂盒,DNA marker(诺唯赞生物);SYBR® Green Pro Taq HS预混型qPCR试剂盒(爱科瑞生物);本研究中使用的抗体包括anti-GATA4,anti-GAPDH(ABclonal);辣根过氧化物酶偶联二抗(Abways);化学发光系统(新赛美生物科技);本研究使用的引物全部交由金维智公司合成;siRNA均由广州锐博生物公司设计合成;其他生化试剂均为进口分装或国产分析纯。

1.2 CircRNAs的Sanger测序

首先通过NCBI与Circbase数据库查找Circ-VWA8, Circ-VMP1, Circ-PRDM5, Circ-PLCL2, Circ-PALLD, Circ-NFATC3, Circ-MLIP, Circ-FAM208A, Circ-ANKIB1, Circ-AGTPBP1的前体序列,Primer3设计PCR引物,经PCR扩增得到以上CircRNAs序列,琼脂糖凝胶电泳后进行胶回收,并送至金维智公司进行Sanger测序,验证以上CircRNAs的反向剪接方式。引物序列见表1。

1.3 乳鼠原代心肌细胞的培养

将出生1~3 d的新生SD乳鼠于75%酒精中浸泡消毒,取出后置于超净工作台,取出心脏后迅速将心脏迅速置于预冷的HBSS平衡盐溶液中,用无菌眼科剪将心室剪成1 mm³左右组织块,清洗后将组织块转移至10 cm培养皿,加入8倍体积的含1% I型胶原酶的D-Hanks液,4℃孵育过夜。孵育完成后,无菌枪头充分吹打直至无组织块存在,移入离心管。离心10 min后弃掉上清,加入含有10%胎牛血清的DMEM培养基重悬细胞,移入10 cm培养皿,置37℃,5%的CO₂培养箱孵育2 h。2 h后取出培养皿,将上清培养基(心肌细胞)接种于6孔板,置37℃,5%的CO₂培养箱中培养48 h,待细胞贴壁后换液(含1% Brdu DMEM)。

1.4 细胞转染

GATA4 siRNA与对照siRNA参照说明书,使用Hieff Trans™脂质体核酸转染试剂进行细胞转染,将siRNA转染入12孔板中的原代乳鼠心肌细胞中。

1.5 聚合酶链式反应(PCR反应)

在研钵中加入液氮,再将组织剪成小块在液氮中磨成粉末,用液氮预冷的药匙取50~100 mg组织粉末加入已盛Trizol液的EP管中,充分混合均匀。室温放置5 min,使用Trizol Reagent从细胞/组织中提取RNA,应用反转录试剂盒HiScript III RT SuperMix for qPCR(+gDNA wiper)试剂盒合成cDNA,使用2×Hieff PCR Master Mix,进行聚合酶链式反应,35个循环后进行琼脂糖凝胶电泳,50×TAE缓冲液用去离子水稀释,倒入

表1 基因的引物序列

Tab.1 Primer sequence for the target genes

Gene	Species	Forward Primer	Reverse Primer
Circ-VWA8	Human	TCCCTGGCTTGAAATCGAGA	TGGAGGAAAGGGTTGTGGAA
Circ-VMP1	Human	TGTCTTCTGTTGGGCTTGGA	CAAGGTAATGAGCGGCTGTC
Circ-PRDM5	Human	AAGGTTTGTCTTCGCTGTGT	TTGTGGCCAGAAATTTGCCA
Circ-PLCL2	Human	ACCTTAGGCTCTGCATGTCA	AATGGAGCTGCAGGGAATTG
Circ-PALLD	Human	TTCTGTCATGTCTGAGAGGG	GCATTGCTACCAGGACAACC
	Rat	CTCCCAGAGTCAGAAAGC	AGCACTTCTGCCCTCTTC
Circ-NFATC3	Human	GGGACCACCTAATGGGCTAT	AAACTGAAGGTAGCCGAGGG
Circ-MLIP	Human	CCTGAGCTGTGCAGGAAAAT	GGAGTAATTCGCCAGTACC
Circ-FAM208A	Human	AGACACCCATGGAAGGACTG	ACAGAAAATCCCTCCAGCAC
Circ-ANKIB1	Human	TATTGTGCTGGTAGGGCTCC	TGGTATTCTCAGGGATCCC
Circ-AGTPBP1	Human	ATTGCCAGAATCCAGATG	CGACCAGGTGTTGCTTACAG
VWA8	Human	GGCTTAGCTCTCGATCATGG	TGGAGGAAAGGGTTGTGGAA
	Human	GCCCTTCTCATCTGGACAAA	CAAGGTAATGAGCGGCTGTC
PRDM5	Human	TTCAGGCTAAAAGCCAAATCA	TTGTGGCCAGAAATTTGCCA
PLCL2	Human	TGAAACAGCAGCAAAATGGA	AATGGAGCTGCAGGGAATTG
PALLD	Human	GGCACCTCAATGAACACCT	GCATTGCTACCAGGACAACC
	Rat	CCATTTCAGGAGCGATTCTTCAGACC	CCATTCTCAGGACCAGCATCTTG
NFATC3	Human	TGATTCGATGCACCTGGTAA	AAACTGAAGGTAGCCGAGGG
MLIP	Human	TCAGCATGTGAGAGGGTCTG	GGAGTAATTCGCCAGTACC
FAM208A	Human	GGTATCCTCGGTCTCCAAA	ACAGAAAATCCCTCCAGCAC
ANKIB1	Human	TACCCACTTGGTGGTGGAGT	TGGTATTCTCAGGGATCCC
AGTPBP1	Human	GGATTGTGTGCTGATTCCAA	CGACCAGGTGTTGCTTACAG
GATA4	Human	TCCAAACCAGAAAACGGAAG	CTGTGCCCGTAGTGAGATGA
	Rat	CTGTGCCAACTGCCAGACTA	AGATTCTTGGGCTCCGTTT
GAPDH	Human	CGAGATCCCTCCAAAATCAA	TTCACACCCATGACGAACAT
	Rat	ATGGGAAGCTGGTCATCAAC	GTGGTTCACACCCATCAACA

样品槽中。用移液枪将样品和DNA marker加入已经准备好的样品孔中。30 min后,停止电泳,紫外下观察显影并拍照,使用 GAPDH 作为circRNA或linear RNA的检测内参。引物序列见表1。

1.6 qRT-PCR

使用SYBR® Green Pro Taq HS 预混型 qPCR 试剂盒在实时检测系统进行qRT-PCR 检测。使用 GAPDH 作为circRNA或linear RNA的检测内参,采用 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 法计算基因表达。引物序列见表1。

1.7 Western blot

使用含有苯甲基磺酰氟的RIPA裂解液在冰上裂解提取蛋白。将蛋白质萃取物转移至4%~12%的十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶进行电泳分离,然后将凝胶上的蛋白转移至PVDF膜。经过5%脱脂奶粉封闭2h后,使用相应一抗在4℃孵育过夜。然后用辣根过氧化物酶偶联二抗在室温下孵育2h。使用化学发光系统对蛋白印迹进行可视化。所有蛋白条带以GAPDH作为检

测内参。

1.8 生物信息学预测与Circ-PALLD有相关性的转录因子

通过生物信息学预测与Circ-PALLD有相关性的转录因子。 R^2 越接近1及相关性越强。

1.9 数据处理与统计学分析

用Image pro plus 软件对条带进行灰度值检测(IOD)归一化后依据相应比值作为统计数据。应用GraphPad Prism8.0统计软件进行数据分析。数据采用均数±标准差表示,两组间的差异比较采用t检验。以 $P<0.05$ (双侧)为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 CircRNAs分子反向剪接成环

CircRNAs通过反向剪接的形式形成环状结构(图1)。通过Sanger测序法得出以上环状分子的RNA序列,我们发现Circ-VWA8通过外显子4与外显子3反

向剪接方式成环; Circ-VMP1 通过外显子 5 与外显子 2 反向剪接方式成环; Circ-PRDM5 通过外显子 13 与外显子 7 反向剪接成环; Circ-PLCL2 通过外显子 4 与外显子 3 反向剪接成环; Circ-PALLD 通过外显子 2 首尾反向剪接成环; Circ-NFATC3 通过外显子 3 与外显子 2 反向剪接成环; Circ-MLIP 通过外显子 11 与外显子 4 反向剪接成环; Circ-FAM208A 通过外显子 11 与外显子 2 反向剪接成环; Circ-ANKIB1 通过外显子 5 与外显子 2 反向剪接成环; Circ-AGTPBP1 通过外显子 15 与外显子 13 反向剪接成环(图2)。

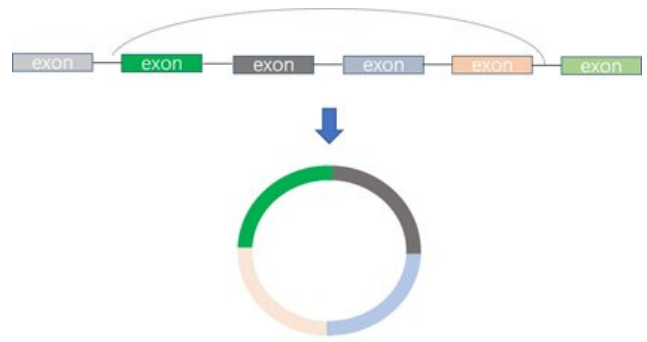


图1 反向剪接示意图

Fig.1 Diagram showing reverse splicing of CircRNAs.

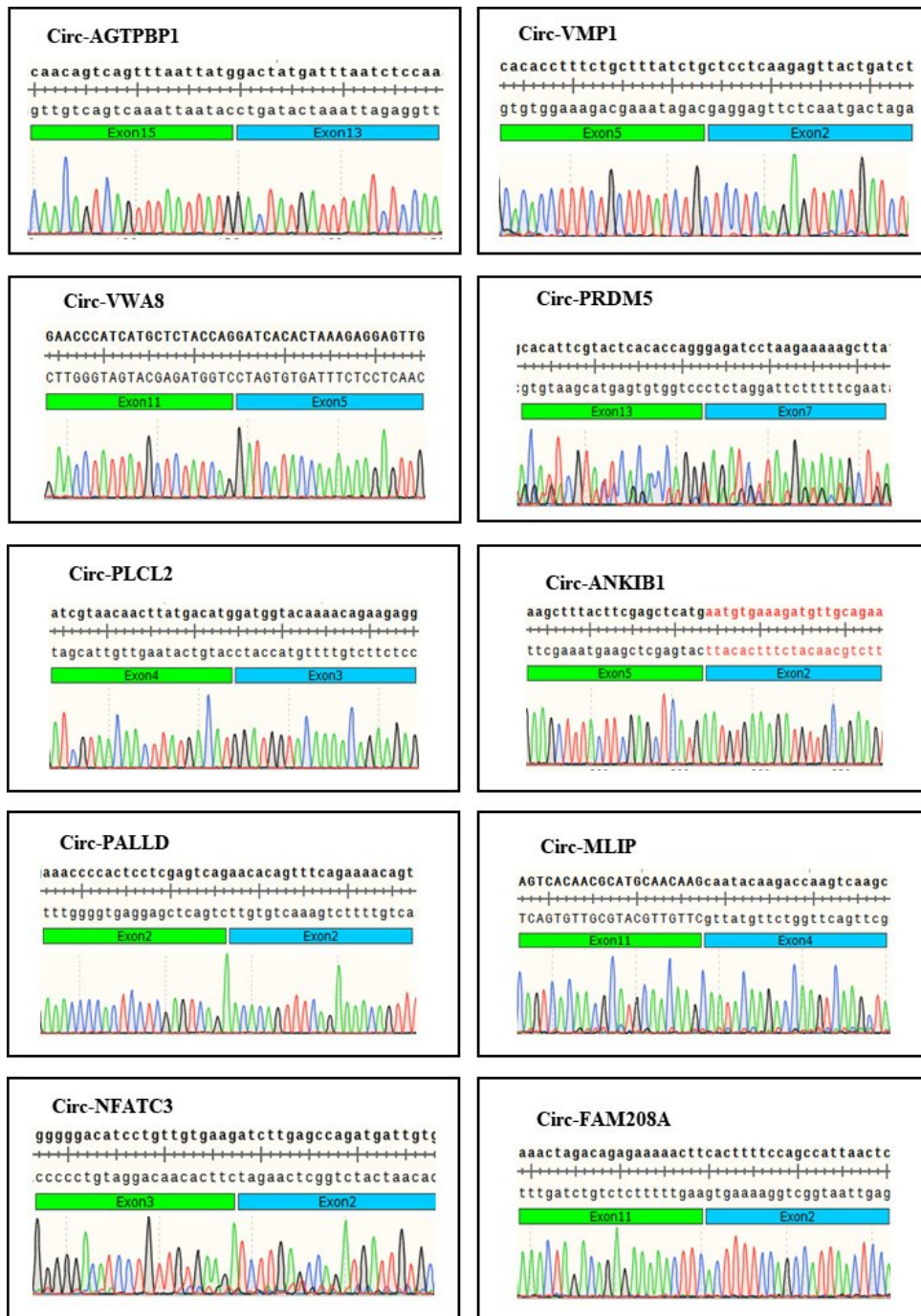


图2 CircRNAs的Sanger测序结果

Fig.2 Sanger sequencing results of the CircRNAs.

2.2 CircRNAs与linear RNA在心衰中的表达

2.2.1 CircRNAs在衰竭心肌中的表达 通过琼脂糖凝胶电泳检测衰竭心肌组织中 Circ-VWA8, Circ-VMP1, Circ-PRDM5, Circ-PLCL2, Circ-PALLD, Circ-NFATC3, Circ-MLIP, Circ-FAM208A, Circ-ANKIB1,

Circ-AGTPBP1的表达,发现在衰竭心肌中环状RNA分子的表达水平均上调,其中 Circ-VWA8, Circ-ANKIB1, Circ-AGTPBP1, Circ-NFATC3 和 Circ-PALLD的上调最为显著($P<0.05$,图3)。

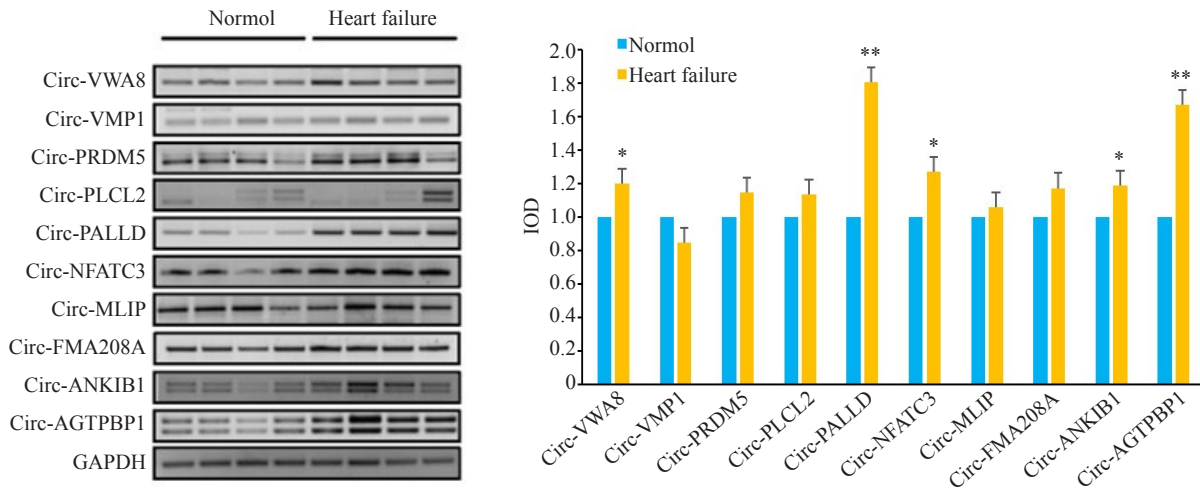


图3 CircRNAs分子在衰竭心肌中的表达

Fig.3 Agarose gel electrophoresis of the amplified CircRNAs from failing myocardium. * $P<0.05$, ** $P<0.01$ vs Normol ($n=4$).

2.2.2 linear RNA在衰竭心肌中的表达 通过琼脂糖凝胶电泳检测衰竭心肌组织中 VWA8, VMP1, PRDM5, PLCL2, PALLD, NFATC3, MLIP, FAM208A, ANKIB1, AGTPBP1 的表达,发现在衰竭心肌中 AGTPBP1, VMP1 表达水平升高,而 PALLD 表达水平降低($P<0.05$,图4)。

图5A), PALLD的表达水平明显降低($P<0.001$,图5B)。

2.3 生物信息学寻找可能调控Circ-PALLD的转录因子

通过生物信息学分析出与 Circ-PALLD 具有相关性的转录因子有49个(图6)。在String网站检索以上49个转录因子可能的潜在相互作用,并构建了蛋白质相互作用网络(图7)。然后通过Cytoscape进行Hub基因的筛选发现GATA4具有最高的连接度,连接分数为4514784。

2.2.3 衰竭心肌中 PALLD 与 Circ-PALLD 的实时定量PCR检测 通过RT-qPCR实验结果进一步表明,在衰竭心肌中, Circ-PALLD 的表达水平明显升高($P<0.001$,

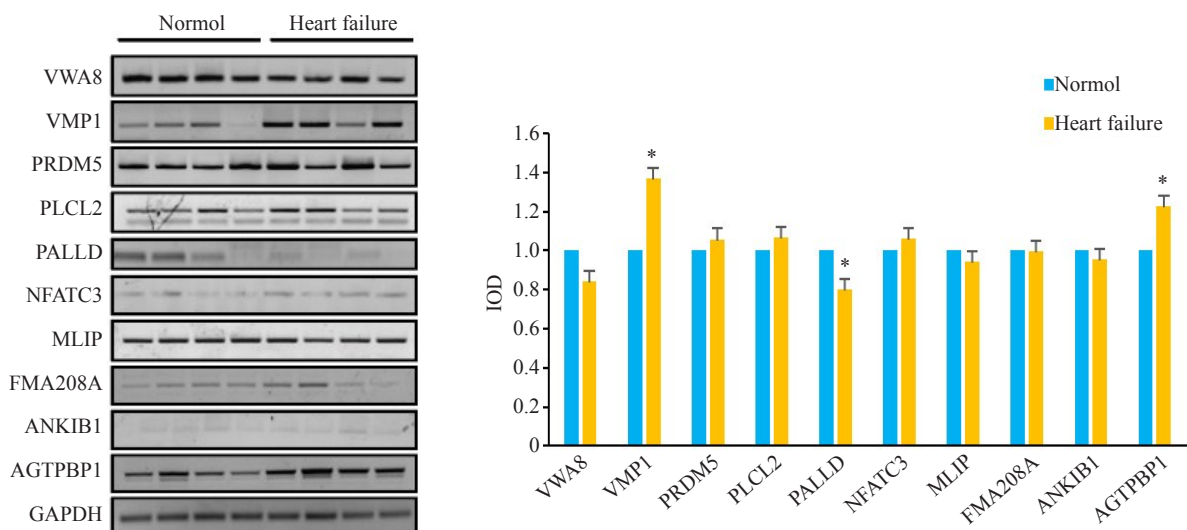


图4 线性RNA在人衰竭心肌的表达水平

Fig.4 Agarose gel electrophoresis of the amplified linear RNAs from failing myocardium. * $P<0.05$ vs Normol ($n=4$).

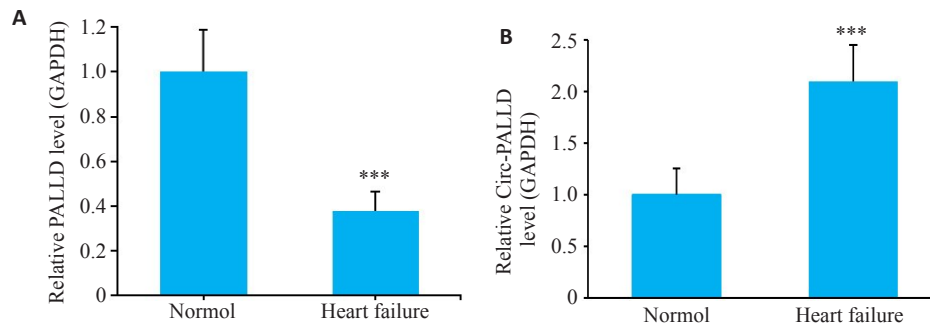


图5 衰竭心肌中PALLD与Circ-PALLD的表达水平

Fig.5 Expression levels of PALLD (A) and Circ-PALLD (B) in the failing myocardium.

*** $P < 0.001$ vs Normol ($n = 8$).

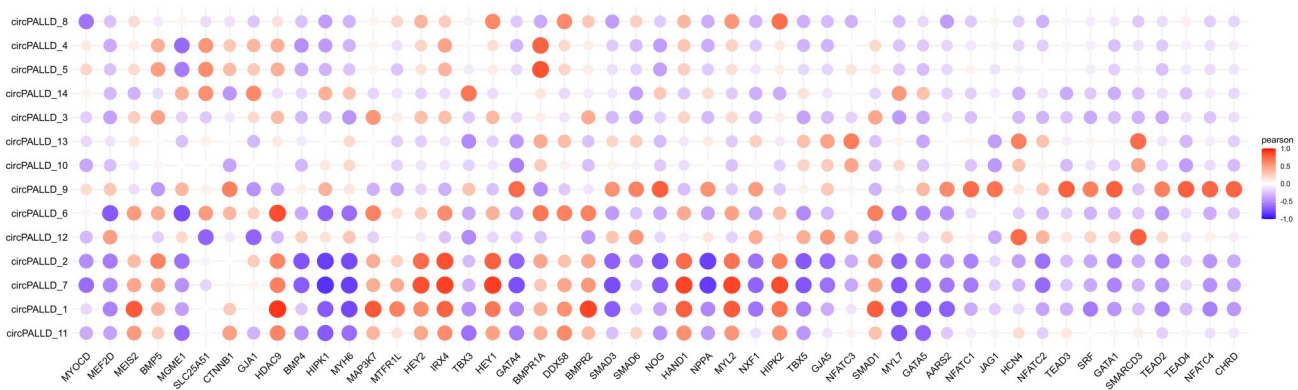


图6 Circ-PALLD与转录因子的生物信息学分析

Fig.6 Bioinformatic analysis of Circ-PALLD and its transcription factors.

2.4 敲降转录因子GATA4后Circ-PALLD和PALLD的表达降低

qRT-PCR检测衰竭心肌组织中GATA4的表达后发现,GATA4在衰竭心肌组织中表达升高($P < 0.001$,图8A)。为探讨PALLD转录调控是否受GATA4的影响,将GATA4的siRNA转染入原代乳鼠心肌细胞,发现敲低GATA4后($P < 0.01$,图8B),Circ-PALLD和PALLD的表达均降低($P < 0.05$,图8C、D)。

3 讨论

越来越多的证据表明CircRNAs与多种心血管疾病的发病机制有关,在心血管疾病中发挥重要作用^[13]。同时CircRNAs有多种成环方式,CircRNAs可以由外显子,内含子,外显子和内含子共同组成^[12,14]。因此研究CircRNAs的成环方式具有重要意义。本研究通过Sanger一代测序验证了Circ-VWA8、Circ-VMP1、Circ-PRDM5、Circ-PLCL2、Circ-PALLD、Circ-NFATC3、Circ-MLIP、Circ-FAM208A、Circ-ANKIB1、Circ-AGTPBP1均是由外显子反向剪接成环的,为CircRNAs的研究提供了科学依据。

心力衰竭的主要病理生理改变是心脏重塑,主要由心肌细胞衰老、死亡,肌小节功能减退,内皮、血管功能受损,间质纤维化增加等导致^[15]。目前临床上常用脑钠肽和N端脑钠肽前体作为评估心力衰竭危险分层及预后的生物标记物^[16],但它们的血浆浓度个体差异较大,因此对心力衰竭的治疗指导作用有限^[17]。近几年来,CircRNAs被证明与心血管疾病、糖尿病、神经系统疾病和癌症等疾病有关^[18]。已有研究表明CircRNAs在心肌细胞损伤后修复、心肌细胞自噬与衰老、血管再生等方面发挥重要调节作用,从而进一步调节心脏重塑^[19]。也有研究人员检测到心力衰竭患者血浆中存在大量显著差异表达的CircRNAs。这表明CircRNAs在诊断和治疗心力衰竭方面具有巨大潜力^[20]。本研究通过琼脂糖凝胶电泳检测人衰竭心肌中CircRNAs与linear RNA的表达水平发现Circ-PALLD表达水平明显上调。因此Circ-PALLD在心衰中或有重要作用,并且也可能是潜在的心衰生物标志物。

PALLD(Palladin)是一种广泛表达的肌动蛋白和捆绑蛋白,作为细胞骨架支架来捆绑肌动蛋白纤维和肌动蛋白交联剂,参与控制细胞形状,粘附和收缩^[21]。有

究发现在衰竭心肌中 Circ-PALLD 表达水平明显上升的同时 PALLD 表达水平却明显降低。因此,转录因子 GATA4 可以影响 Circ-PALLD 与 PALLD 的转录过程,但根据 Circ-PALLD 与 PALLD 在心衰组织中的表达水平分析,GATA4 的转录调控作用并不是导致心衰的唯一的影响因素,其他因素在心衰中的作用可能高于转录在心衰中的影响。从 CircRNAs 的生物学发生方式上进一步分析,在人心脏衰竭过程中,是否也同样影响了基因 PALLD 的剪接修饰从而使 Circ-PALLD 表达水平升高,PALLD 的表达水平降低^[27]。

目前 CircRNAs 在心力衰竭中的研究大多是通过与 miRNA 的相互作用来探讨 CircRNAs 的下游功能^[28,29],但 CircRNAs 的上游机制研究却很少^[30]。我们的研究旨在筛选可能作为心力衰竭中生物诊断物和治疗靶点的候选 CircRNAs 分子,并着重研究 CircRNAs 的生物学发生过程,为心力衰竭的诊断治疗以及预后提供潜在的新的靶点,同时也加深对 CircRNAs 的了解。

参考文献:

- [1] Pandey PR, Munk R, Kundu G, et al. Methods for analysis of circular RNAs[J]. Wiley Interdiscip Rev RNA, 2020, 11(1): e1566.
- [2] Liu C, Li N, Dai G, et al. A narrative review of circular RNAs as potential biomarkers and therapeutic targets for cardiovascular diseases[J]. Ann Transl Med, 2021, 9(7): 578.
- [3] Altesha MA, Ni T, Khan A, et al. Circular RNA in cardiovascular disease[J]. J Cell Physiol, 2019, 234(5): 5588-600.
- [4] Zhou MY, Yang JM, Xiong XD. The emerging landscape of circular RNA in cardiovascular diseases[J]. J Mol Cell Cardiol, 2018, 122: 134-9.
- [5] Zhang TR, Huang WQ. Angiogenic circular RNAs: a new landscape in cardiovascular diseases[J]. Microvasc Res, 2020, 129: 103983.
- [6] Tan WLW, Lim BTS, Anene-Nzelu CGO, et al. A landscape of circular RNA expression in the human heart[J]. Cardiovasc Res, 2017, 113(3): 298-309.
- [7] Zhou Q, Zhang Z, Bei Y, et al. Circular RNAs as novel biomarkers for cardiovascular diseases[J]. Adv Exp Med Biol, 2018, 1087: 159-70.
- [8] Tanai E, Frantz S. Pathophysiology of heart failure [J]. Compr Physiol, 2015, 6(1): 187-214.
- [9] Zhao C, Lv Y, Duan Y, et al. Circulating non-coding RNAs and cardiovascular diseases[J]. Adv Exp Med Biol, 2020, 1229: 357-67.
- [10] Bayoumi AS, Tatsuya A, Jian PT, et al. Circular noncoding RNAs as potential therapies and circulating biomarkers for cardiovascular diseases[J]. Acta Pharmacol Sin, 2018, 39(7): 1100-9.
- [11] Yvan D, Creemers EE, Boon RA, et al. Circular RNAs in heart failure [J]. Eur J Heart Fail, 2017, 19(6): 701-9.
- [12] Zhang H, He L, Cai L. Transcriptome sequencing: rna-seq [J]. Methods Mol Biol, 2018, 1754: 15-27.
- [13] Stepien E, Marina CC, Szczepan K, et al. The circulating non-coding RNA landscape for biomarker research: lessons and prospects from cardiovascular diseases[J]. Acta Pharmacol Sin, 2018, 39(7): 1085-99.
- [14] Sun JY, Shi Y, Cai XY, et al. Potential diagnostic and therapeutic value of circular RNAs in cardiovascular diseases [J]. Cell Signal, 2020, 71: 109604.
- [15] Snipelisky D, Chaudhry SP, Stewart GC. The many faces of heart failure[J]. Card Electrophysiol Clin, 2019, 11(1): 11-20.
- [16] Lim TB, Lavenniah A, Foo RS. Circles in the heart and cardiovascular system[J]. Circ Res, 2020, 116(2): 269-78.
- [17] Chaudhry MA. Heart failure[J]. Curr Hypertens Rep, 2019, 15(1): 7.
- [18] Min X, Liu DL, Xiong XD. Circular RNAs as competing endogenous RNAs in cardiovascular and cerebrovascular diseases: molecular mechanisms and clinical implications [J]. Front Cardiovasc Med, 2021, 8: 682357.
- [19] Shi Q, Yang X. Circulating microRNA and long noncoding RNA as biomarkers of cardiovascular diseases[J]. J Cell Physiol, 2016, 231(4): 751-5.
- [20] Viereck J, Thum T. Circulating noncoding RNAs as biomarkers of cardiovascular disease and injury[J]. Circ Res, 2017, 120(2): 381-99.
- [21] Sun HM, Chen XL, Chen XJ, et al. PALLD regulates phagocytosis by enabling timely actin polymerization and depolymerization[J]. J Immunol, 2017, 199(5): 1817-26.
- [22] Liu X, Xu S, Li Y, et al. Identification of CALU and PALLD as potential biomarkers associated with Immune infiltration in heart failure[J]. Front Cardiovasc Med, 2021, 8: 774755.
- [23] Austin H, Duan QM, Day Daniel S, et al. Targeting transcription in heart failure via CDK7/12/13 inhibition[J]. Nat Commun, 2022, 13(1): 4345.
- [24] Yamamura S, Izumiya Y, Araki S, et al. Cardiomyocyte sirt (sirtuin) 7 ameliorates stress-induced cardiac hypertrophy by interacting with and deacetylating GATA4[J]. Hypertension, 2020, 75(1): 98-108.
- [25] Zhou P, Zhang Y, Sethi I, et al. GATA4 regulates developing endocardium through interaction with ETS1 [J]. Circ Res, 2022, 131(11): e152-68.
- [26] Xin M, Olson EN, Bassel-Duby R. Mending broken hearts: cardiac development as a basis for adult heart regeneration and repair [J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2013, 14(8): 529-41.
- [27] Xu B, Meng Y, Jin Y. RNA structures in alternative splicing and back-splicing[J]. Wiley Interdiscip Rev RNA, 2021, 12(1): e1626.
- [28] Zheng H, Shi L, Tong C, et al. circSnx12 is involved in ferroptosis during heart failure by targeting miR-224-5p [J]. Front Cardiovasc Med, 2021, 8: 656093.
- [29] Wang K, Long B, Liu F, et al. A circular RNA protects the heart from pathological hypertrophy and heart failure by targeting miR-223 [J]. Eur Heart J, 2016, 37(33): 2602-11.
- [30] Li M, Duan L, Li Y, et al. Long noncoding RNA/circular noncoding RNA-miRNA-mRNA axes in cardiovascular diseases [J]. Life Sci, 2019, 233: 116440.

(编辑:经 媛)