

· 综述 ·

外源性电刺激诱导干细胞心肌向分化的研究进展

戴越¹ 周帆² 穆军升¹

(1. 首都医科大学附属北京安贞医院心脏外科 北京市心肺血管疾病研究所, 北京 100029; 2. 解放军总医院第三医学中心超声科, 北京 100039)

【摘要】 心肌梗死引起的缺血性心脏疾病是影响人类健康的重要问题。基于干细胞的心肌梗死治疗前景广阔, 然而干细胞经定向诱导分化形成的心肌细胞具有分化率和成熟度低的特点, 移植到受损心肌处可能会增加心律失常的风险。相关研究表明, 施加电刺激可显著促进干细胞的心肌向分化。现综述不同电刺激参数对不同干细胞类型的影响及其中可能涉及的相关机制。

【关键词】 电刺激; 干细胞; 心肌向分化; 心肌梗死

【DOI】 10.16806/j.cnki.issn.1004-3934.2022.04.001

The Use of Electrical Stimulation to Induce Cardiac Differentiation of Stem Cells for Treatment of Myocardial Infarction

DAI Yue¹, ZHOU Fan², MU Junsheng¹

(1. Department of Cardiac Surgery, Beijing Anzhen Hospital, Capital Medical University, Beijing Institute of Heart Lung and Blood Vessel Diseases, Beijing 100029, China; 2. Department of Ultrasound, The Third Medical Center of PLA General Hospital, Beijing 100039, China)

【Abstract】 Ischemic heart disease resulting from a myocardial infarction, is a major health issue. Stem cell therapies may play an important role in this field. However, cardiomyocytes induced from stem cells are characterized by low rates of differentiation and immaturity. After transplantation into the damaged heart, they may even increase the risk of arrhythmias. Studies have demonstrated that electrical stimulation can promote the cardiac differentiation of stem cells. This review summarizes the latest research on the effects of applying different electrical stimulation parameters to different types of stem cells and the related mechanisms that may be involved.

【Key words】 Electrical stimulation; Stem cells; Cardiac differentiation; Myocardial infarction

心血管疾病由于其高发病率而成为危害全世界人类健康的主要问题^[1]。如果发生心肌梗死 (myocardial infarction, MI), 存活的心肌细胞 (cardiomyocytes, CM) 数量会下降。随着 MI 后纤维瘢痕组织的形成和心室组织的重塑, 这不仅不利于心脏泵血, 反而会造成剩余的心肌肥厚, 梗死区心肌变薄, 心室扩张。最终, 导致心力衰竭发作。目前, 临床上没有一种治疗方式可逆转 MI 造成的心肌损伤, 因此临床迫切需求新的治疗方式来提高 CM 活性以改善心脏功能。通过将干细胞来源 CM 移植到 MI 区来修复受损的心肌和恢复心脏功能, 被认为是治疗 MI 最有前途的方式之一^[2-3]。

然而, 干细胞来源 CM 的特点是分化率低和不成熟状态, 其被移植到受损心脏后存在心律失常的风

险, 无法执行正常 CM 的功能^[4-5]。在心脏收缩过程中, 起搏器细胞从窦房结发出节律性电信号, 通过细胞缝隙连接传播至 CM, 再通过高导电性的浦肯野纤维传导至心脏其他区域, 最终实现整个心脏的节律性收缩。在此过程中, 电信号和缝隙连接对心脏的同步搏动至关重要^[6]。近些年, 电刺激 (electrical stimulation, ES) 因其为非药物治疗手段以及在疾病治疗方面的安全、方便、经济等特点而受到广泛关注。因此, 外源性 ES 模仿心脏原始环境来诱导干细胞心肌向分化, 成为了一种很有前途的方法^[7-8], 这将进一步推动干细胞在 MI 治疗的临床应用进程。

1 外源性 ES 影响干细胞诱导分化的因素

CM 之间通过闰盘结构形成缝隙连接, 有利于细胞间的电兴奋传导并根据电信号在节律上同步收

缩^[9]。为了促进干细胞心肌向分化,在应用 ES 来模拟心脏电生理信号的过程中,优化所施加电场刺激的参数至关重要^[10]。

1.1 脉冲方向

根据电流方向是否改变可分为单相脉冲和双相脉冲。虽然单相脉冲能有效地刺激 CM 产生动作电位,但也会产生活性氧等物质造成组织损伤。双相脉冲可有效防止组织损伤,但相应的其产生的中次级脉冲超极化可能会抑制动作电位的启动^[11]。

Baumgartner 等^[12]对胎鼠 CM 连续 6 d 施加振幅 1 V、脉宽 5 ms 和频率 10 Hz 的单相脉冲,ES 促进了细胞形态伸长和平行排列以及缝隙连接蛋白(connexin, Cx)43 的表达。Pietronave 等^[13]对人类祖细胞分别施加电场强度 2.5 V/cm、频率 1 Hz 和脉宽 1 ms 的双相方波脉冲以及具有相同总幅度和持续时间的单相方波脉冲(5 V/cm、1 Hz 和 2 ms)。他们发现双相脉冲刺激组更早表达 Cx43,早期心脏转录因子表达上调,如肌细胞增强因子 2D、锌指转录因子蛋白 4 和 Nk2 型同源盒转录因子 5,以及晚期心脏肌节蛋白表达增加,如心肌肌钙蛋白 T、心脏 α -肌动蛋白和肌浆内质网 Ca^{2+} ATP 酶。说明双相脉冲更快、更有效地促进了人类祖细胞的心肌向分化。综上,单相脉冲刺激可更有效产生动作电位,引起更少的电极腐蚀,但会在长期刺激中增加组织损伤;而双相脉冲刺激可长期产生有效刺激并不会引起组织损伤,虽然与单相脉冲相比不易产生有效动作电位和更易产生电极腐蚀,但双向脉冲刺激可通过改变 ES 条件,如双向电荷平衡和双向电荷不平衡等来减少相应的副作用^[11]。因此双相脉冲 ES 具有更优的选择性,可能对长期干细胞心肌向分化过程更有利。

1.2 电场强度与持续时间

对于相同的电场强度,当脉冲持续时间较长时,细胞凋亡率更高^[14]。因此在体外对细胞施加 ES 时,协调其电场强度和持续时间十分重要。

为了探究 ES 持续时间对人心球源性细胞(human cardiosphere-derived cells, hCDCs)心肌向分化的影响, Nazari 等^[15]向 hCDCs 施加强度为 150 mV、频率 1 Hz 和电流 2 mA 的电荷平衡双相脉冲,并分别持续 1、3 和 5 d,每天 ES 5 和 10 min。结果发现持续 5 d,每天 ES 10 min 组的心肌肌钙蛋白 T 和锌指转录因子蛋白 4 表达最高,但 α -肌球蛋白重链表达下降。Ma 等^[16]应用 1 V/cm、5 Hz 的参数对人诱导多能干细胞(human induced pluripotent stem cells, hiPSCs)施加持续 30 d 的 ES 后,发现心源性基因表达上调,并将诱导分化的心肌样细胞(hiPSC-derived CMs, hiPSC-CMs)注射到小鼠

梗死心脏区后,发现心脏功能的改善和梗死面积的减少。

1.3 ES 起始作用时间

ES 的影响部分程度上取决于第一次 ES 时细胞的分化程度。如果施加时间太早,ES 会抑制心肌蛋白的聚集并产生不良的收缩行为。如果施加时间太晚,ES 不再有助于细胞的功能组装。

Radisic 等^[17]分别对 1、3 和 5 d 龄的新生大鼠心室肌细胞施加 ES。1 d 龄的心室肌细胞受到 ES 后, Cx43 和 α -肌球蛋白重链含量均下降,产生低度分化的单层 CM,无法产生同步收缩。而 5 d 龄的心室肌细胞受到 ES 后只建立缝隙链接,无有效的收缩功能。最终发现 3 d 龄的新生大鼠心室肌细胞 ES 处理后具有更优的收缩能力和缝隙链接。Ronaldson-Bouchard 等^[18]对体外培养的 hiPSC-CMs 早期(第一次自发收缩后,第 12 天)和晚期(第 28 天)施加 ES,结果发现早期 hiPSC-CMs 显示出明显的可塑性,说明 hiPSCs 对 ES 反应性随分化进程的进行而下降。Chen 等^[19]分别对 4、7 和 12 d 龄的拟胚体施加 ES,这分别对应于干细胞分化的早期、中期和末期 3 个阶段,ES 参数为电流强度 10、30 和 60 μA 、频率 1 Hz、脉宽 10 ms 的双相 ES 培养 4 d。低强度 ES 对早期分化阶段的干细胞作用不大,但在 60 μA 的 ES 下,其 β -肌球蛋白重链水平显著增加。对于中期分化阶段的干细胞而言, β -肌球蛋白重链和肌钙蛋白 T 在 30 μA 刺激时表达增加,而在 60 μA 时表达降低。在末期分化阶段,肌钙蛋白 T 表达水平随 ES 幅度增加而增加。这说明不同分化阶段的胚胎干细胞对 ES 有不同程度的敏感性,因此根据 ES 起始作用时间来调整其参数是十分重要的。

1.4 频率

ES 频率可影响 CM 的收缩和搏动行为。频率为 1~2 Hz 的 ES 可诱导细胞内 Ca^{2+} 水平瞬时激增,同时促进肌节组装和成熟^[7]。有证据^[8]表明,自主搏动 hiPSC-CMs 的搏动频率随着 ES 频率变化而变化,即使在 ES 停止后,hiPSC-CMs 获得的搏动频率也可保持在所施加的 ES 频率水平并持续传导到周围细胞中。因此,在分化或成熟过程中,由于 hiPSC-CMs 具有电生理可塑性,易导致生成具有与移植目标心肌区域不同搏动频率的心肌样细胞,这将有引起心律失常的风险,而搏动频率是由 ES 诱导决定的,因此应优化 ES 频率。

Tandon 等^[20]对新生大鼠 CM 的组织工程心脏构建体施加 3 V/cm,脉宽 2 ms,频率分别为 1、3 和 5 Hz 的单相方波脉冲。研究表明 3 Hz 组有最高浓度的心肌肌钙蛋白和 Cx43 以及最好的收缩行为。Zhang

等^[21]对预培养 2 d 后的 hiPSC-CMs 施加 ES。首先以 1 Hz 的频率连续刺激 5 d, 然后每天以 1 Hz 的频率递增刺激, 直到频率达到 6 Hz 并保持 6 Hz 频率 2 d, 最后再以 1 Hz 频率刺激 14 d。观察到 hiPSC-CMs 的 Cx43 表达增高, 形成了更成熟表型的功能性心脏组织。Hirt 等^[22]设计了两种 ES 方案: 频率恒定 0.5 Hz 和第 1 周 2 Hz 随后 1.5 Hz, 电场强度 2 V/cm, 脉宽 4 ms 的双相脉冲, 分别作用于 hiPSC-CMs, 第 2 种方案衍生的 CM 具有更强的自发搏动和更高的细胞质与细胞核比。Ronaldson-Bouchard 等^[18]也对 hiPSCs 施加了两种方案的 ES, 4.5 V、2 ms 单相方波脉冲: (1) 2 Hz 刺激 3 周; (2) 2 周内频率从 2 Hz 到 6 Hz (每天增加 0.33 Hz), 然后 2 Hz 培养 1 周。结果是第 2 种方案刺激效果更好, 进一步验证了增加诱导收缩的 ES 频率可促进被诱导分化细胞的超微结构形成和功能发育。Nunes 等^[23]对 hiPSC-CMs 施加 7 d 的 ES, 电场强度为 5 V/cm, 脉宽 1 ms, 频率从 1 Hz 开始逐步增加到 3 Hz 或 6 Hz。他们发现与 1~3 Hz 的低频增加方式相比, 1 周内 1~6 Hz 的起搏频率可进一步增强工程心肌组织的结构和电生理功能。而 Zhao 等^[24]对胚胎干细胞和诱导多能干细胞来源的 CM 组织施加两种 ES 方案, 方案一是频率从 2 Hz 到 6 Hz, 每周增加 1 Hz, 方案二是频率从 1 Hz 到 6 Hz, 每天增加 0.2 Hz, 其余条件保持一致。结果发现两种方案都可促进心脏组织功能发育, 并且心肌肌钙蛋白 T 和 Cx43 等心肌蛋白表达没有区别, 但方案一具有更高的收缩间歇后力增强效应、最大捕获速率等结果, 这说明方案一刺激下组织成熟度更高。因此合理的频率递增将更有助于干细胞心肌向分化并促进组织成熟度。

2 ES 诱导干细胞心肌向分化的相关机制

虽然研究表明 ES 可在心脏发育成熟的过程中起到关键作用, 但其中涉及的机制尚不完全清楚。

2.1 过去研究

伍长学等^[25]发现随 ES 时间推进, 肌细胞增强因子 2C 基因的表达上调, 进而促进肌钙蛋白 I 的表达和 CM 的形成。Genovese 等^[26]发现 ES 后人骨髓间充质干细胞中卵泡抑素的表达上调, 证明短期 ES 促进了人骨髓间充质干细胞的心肌向分化。近年来, 卵泡抑素已被证明是肌肉发育、分化和再生的关键。它可通过参与中胚层和内胚层组织的修复来促进细胞增殖并限制纤维化^[27]。

2.2 最新进展

He 等^[28]发现在 ES 的作用下, 骨髓间充质干细胞发生心肌向分化原因之一是转化生长因子 $\beta 1$ 表达上调, 促进了 Cx43 和肌动蛋白 $\alpha 2$ 的表达, 并且这一过

程受转化生长因子 $\beta 1$ 抑制剂吡非尼酮的影响。

Nazari 等^[15]对 hCDCs 施加 ES, 发现 hCDCs 的分化高度依赖于电流的同步传输。这是通过由最佳排列和伸长的 CM 构成的名为“合胞体”的结构实现的。当施加恒定幅度的脉动电流, 受到刺激 hCDCs 横向堆积, 即与电流方向垂直。对齐的 CM 开始像电容器一样发挥作用, 响应于施加的 ES 而充电和放电。CM 的这种搏动特性促进了同步肌纤维收缩的形成。

Crestani 等^[29]发现暴露于 ES 的 hiPSC-CMs 中的闰盘蛋白伴肌动蛋白相关锚定蛋白和 β -连环蛋白的表达增加。Wnt/ β -连环蛋白信号传导通路已被证实存在于 hiPSCs 心肌向分化和缝隙连接形成中起着重要作用^[30]。伴肌动蛋白相关锚定蛋白表达参与发育过程中的肌原纤维肌生成和成熟肌肉中的细胞-细胞连接^[31]。表明 ES 可能通过激活 Wnt/ β -连环蛋白通路促进 hiPSC-CMs 成熟度的提高。

Ma 等^[16]发现 ES 促进 hiPSCs 心肌分化, 可能机制为激活 Ca^{2+} /蛋白激酶 C/细胞外信号调节激酶通路。蛋白质印迹表明, ES 增强了 Ca^{2+} 结合蛋白 (钙调蛋白 1 和 3) 和蛋白激酶 C 表达以及细胞外信号调节激酶磷酸化, 抑制了组蛋白去乙酰化酶 1 的表达, 以上两种效果均可被钙信号抑制剂消除甚至逆转。钙信号抑制剂包括维拉帕米 (钙通道阻滞剂)、W-7 (钙调蛋白拮抗剂) 和 8-(N,N-二乙胺)-n-辛基-3,4,5-三甲氧基苯甲酸酯 (细胞内钙离子拮抗剂)。有研究表明, 当骨髓间充质干细胞中组蛋白去乙酰化酶 1 基因表达受到特异性抑制时, 与心肌发育和结构相关的基因的 mRNA 表达水平升高^[32]。因此, ES 可能通过激活细胞内 Ca^{2+} 信号和下游基因来增强 hiPSCs 的心脏基因表达。

Haneef 等^[33]发现将 ES 作用于 3D 胶原支架上的干细胞可促进其心脏标志物的表达, 并发现 3D 胶原支架具有类似于天然的细胞外基质 (extra cellular matrix, ECM) 功能, 如提供结构强度和抗变形能力。ECM 主要由为左心室提供结构强度的胶原蛋白组成。最新研究^[27]表明, 这可能与糖胺聚糖 (glycosaminoglycan, GAG) 的导电性和胶原蛋白的压电性有关。GAG 在 ECM 中广泛分布, 富含可电离的羧基和硫酸根, 具有电荷转移特性。在施加 ES 期间, GAG 充当 ECM 到细胞的电导管。同时, ES 会增加蛋白多糖的合成, 每一种蛋白多糖都含有特定的 GAG 侧链, 特定的 GAG 侧链对组织功能和发育具有重要意义。与此同时, 胶原蛋白具有固有压电特性, 当组织被压缩时会产生电荷, 对嵌入其中的细胞产生调节作用。胶原组织是由高度排列的纤维状 I 型和 II 型胶

原堆积和交联结构组成的,主要存在于骨、软骨组织^[34]和心肌^[35]。

3 ES 作用于干细胞来治疗 MI 的问题与展望

不同条件下,不同的 ES 参数可能对应着不同干细胞的的不同分化方向,如心房、心室、传导细胞等。Chan 等^[36]认为电场强度 6.6 V/cm、脉宽 2 ms 和频率 1 Hz 的双相脉冲刺激是人胚胎干细胞源 CM 最佳 ES 参数。Hernández 等^[37]发现 ES 诱导干细胞心肌向分化受细胞系影响。Crestani 等^[29]发现当 ES 参数为 10 V、4 ms、1 Hz 和 2 h/d 时,人类多能干细胞向更成熟的心室传导样细胞分化,心室传导系统相关基因表达增高,Cx40 表达增高,Cx43 表达(由缝隙连接蛋白 $\alpha 1$ 编码)下降。易洛魁族同源盒 3 基因在精确调节细胞间缝隙连接耦合和心脏脉冲传播中起到关键作用,可直接抑制 Cx43 转录并间接激活 Cx40 转录^[38]。

未来工作的领域包括摸索出完善的 ES 条件对应不同干细胞的模型标准,为后续进一步完善 ES 诱导分化机制的研究,将组织工程与相关干细胞心肌向分化 ES 方案结合,这在 MI 治疗的临床应用研究方面具有广阔前景。

4 结论

综上所述,ES 是解决干细胞来源 CM 分化率低和成熟的有效方法之一。在临床实践中,应根据不同的干细胞量身定制 ES 方案,以产生最佳的促进效果。此外,如果在 ES 的同时施加其他相关刺激,可能会产生协同或拮抗作用,如机械刺激、基质等。

参 考 文 献

- [1] Virani SS, Alonso A, Benjamin EJ, et al. Heart disease and stroke statistics-2020 update: a report from the American Heart Association[J]. *Circulation*, 2020, 141(9): e139-e596.
- [2] Yu H, Lu K, Zhu J, et al. Stem cell therapy for ischemic heart diseases[J]. *Br Med Bull*, 2017, 121(1): 135-154.
- [3] Laflamme MA, Murry CE. Heart regeneration[J]. *Nature*, 2011, 473(7347): 326-335.
- [4] Anderson ME, Goldhaber J, Houser SR, et al. Embryonic stem cell-derived cardiac myocytes are not ready for human trials[J]. *Circ Res*, 2014, 115(3): 335-338.
- [5] Chong JJ, Yang X, Don CW, et al. Human embryonic-stem-cell-derived cardiomyocytes regenerate non-human primate hearts[J]. *Nature (London)*, 2014, 510(7504): 273-277.
- [6] Dhein S, Seidel T, Salameh A, et al. Remodeling of cardiac passive electrical properties and susceptibility to ventricular and atrial arrhythmias[J]. *Front Physiol*, 2014, 5: 424.
- [7] Yoshida S, Sumomozawa K, Nagamine K, et al. Hydrogel microchambers integrated with organic electrodes for efficient electrical stimulation of human iPSC-derived cardiomyocytes[J]. *Macromol Biosci*, 2019, 19(6): e1900060.
- [8] Eng G, Lee BW, Protas L, et al. Autonomous beating rate adaptation in human stem cell-derived cardiomyocytes[J]. *Nat Commun*, 2016, 7(1): 10312.
- [9] Vreeker A, van Stuijvenberg L, Hund TJ, et al. Assembly of the cardiac intercalated disk during pre- and postnatal development of the human heart[J]. *PLoS One*, 2014, 9(4): e94722.
- [10] Karbassi E, Fenix A, Marchiano S, et al. Cardiomyocyte maturation: advances in knowledge and implications for regenerative medicine[J]. *Nat Rev Cardiol*, 2020, 17(6): 341-359.
- [11] Merrill DR, Bikson M, Jefferys JG. Electrical stimulation of excitable tissue: design of efficacious and safe protocols[J]. *J Neurosci Methods*, 2005, 141(2): 171-198.
- [12] Baumgartner S, Halbach M, Krausgrill B, et al. Electrophysiological and morphological maturation of murine fetal cardiomyocytes during electrical stimulation in vitro[J]. *J Cardiovasc Pharmacol Ther*, 2015, 20(1): 104-112.
- [13] Pietronave S, Zamperoni A, Oltolina F, et al. Monophasic and biphasic electrical stimulation induces a precardiac differentiation in progenitor cells isolated from human heart[J]. *Stem Cells Dev*, 2014, 23(8): 888-898.
- [14] Prado LN, Goulart JT, Zoccoler M, et al. Ventricular myocyte injury by high-intensity electric field: effect of pulse duration[J]. *Gen Physiol Biophys*, 2016, 35(2): 121-130.
- [15] Nazari H, Kehtari M, Rad I, et al. Electrical stimulation induces differentiation of human cardiomyocyte-derived cells (hCDCs) to committed cardiomyocyte[J]. *Mol Cell Biochem*, 2020, 470(1-2): 29-39.
- [16] Ma R, Liang J, Huang W, et al. Electrical stimulation enhances cardiac differentiation of human induced pluripotent stem cells for myocardial infarction therapy[J]. *Antioxid Redox Signal*, 2018, 28(5): 371-384.
- [17] Radisic M, Park H, Shing H, et al. Functional assembly of engineered myocardium by electrical stimulation of cardiac myocytes cultured on scaffolds[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2004, 101(52): 18129-18134.
- [18] Ronaldson-Bouchard K, Ma SP, Yeager K, et al. Advanced maturation of human cardiac tissue grown from pluripotent stem cells[J]. *Nature*, 2018, 556(7700): 239-243.
- [19] Chen MQ, Xie X, Wilson KD, et al. Current-controlled electrical point-source stimulation of embryonic stem cells[J]. *Cell Mol Bioeng*, 2009, 2(4): 625-635.
- [20] Tandon N, Marsano A, Maidhof R, et al. Optimization of electrical stimulation parameters for cardiac tissue engineering[J]. *J Tissue Eng Regen Med*, 2011, 5(6): e115-e125.
- [21] Zhang F, Qu KY, Zhou B, et al. Design and fabrication of an integrated heart-on-a-chip platform for construction of cardiac tissue from human iPSC-derived cardiomyocytes and in situ evaluation of physiological function[J]. *Biosens Bioelectron*, 2021, 179: 113080.
- [22] Hirt MN, Boeddinghaus J, Mitchell A, et al. Functional improvement and maturation of rat and human engineered heart tissue by chronic electrical stimulation[J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2014, 74: 151-161.
- [23] Nunes SS, Miklas JW, Liu J, et al. Biowire: a new platform for maturation of human pluripotent stem cell derived cardiomyocytes[J]. *Nat Methods*, 2013, 10(8): 781-787.
- [24] Zhao Y, Rafatian N, Wang EY, et al. Engineering microenvironment for human cardiac tissue assembly in heart-on-a-chip platform[J]. *Matrix Biol*, 2020, 85-86: 189-204.
- [25] 伍长学, 杨思远, 马建明, 等. 骨髓间充质干细胞向心肌细胞诱导过程中脉动电流刺激对肌细胞增强因子 2C 基因表达的影响[J]. *中国组织工程研究与临床康复*, 2008, 12(43): 8408-8412.
- [26] Genovese JA, Spadaccio C, Rivello HG, et al. Electrostimulated bone marrow human mesenchymal stem cells produce follistatin[J]. *Cytotherapy*, 2009, 11(4): 448-456.
- [27] Hayes AJ, Melrose J. Electro-stimulation, a promising therapeutic treatment modality for tissue repair: emerging roles of sulfated glycosaminoglycans as electro-regulatory mediators of intrinsic repair processes[J]. *Adv Therap*, 2020, 3(11): 2000151.

- Diabetologia, 2018, 61(4):942-953.
- [27] Freemerman AJ, Zhao L, Pingili AK, et al. Myeloid *Slc2a1*-deficient murine model revealed macrophage activation and metabolic phenotype are fueled by GLUT1[J]. J Immunol, 2019, 202(4):1265-1286.
- [28] Tan Z, Xie N, Cui H, et al. Pyruvate dehydrogenase kinase 1 participates in macrophage polarization via regulating glucose metabolism[J]. J Immunol, 2015, 194(12):6082-6089.
- [29] Koelwyn GJ, Corr EM, Erbay E, et al. Regulation of macrophage immunometabolism in atherosclerosis[J]. Nat Immunol, 2018, 9(6):526-537.
- [30] Tabas I, Bornfeldt KE. Intracellular and intercellular aspects of macrophage immunometabolism in atherosclerosis[J]. Circ Res, 2020, 126(9):1209-1227.
- [31] Yi M, Ban Y, Tan Y, et al. 6-Phosphofructo-2-kinase/fructose-2,6-biphosphatase 3 and 4: a pair of valves for fine-tuning of glucose metabolism in human cancer[J]. Mol Metab, 2019, 20:1-13.
- [32] Yang Z, Goronzy JJ, Weyand CM. The glycolytic enzyme PFKFB3/phosphofructokinase regulates autophagy[J]. Autophagy, 2014, 10(2):382-383.
- [33] Schnitzler JG, Hoogeveen RM, Ali L, et al. Atherogenic lipoprotein(a) increases vascular glycolysis, thereby facilitating inflammation and leukocyte extravasation[J]. Circ Res, 2020, 126(10):1346-1359.
- [34] Rodríguez-Prados JC, Través PG, Cuenca J, et al. Substrate fate in activated macrophages: a comparison between innate, classic, and alternative activation[J]. J Immunol, 2010, 185(1):605-614.
- [35] Tawakol A, Singh P, Mojena M, et al. HIF-1 α and PFKFB3 mediate a tight relationship between proinflammatory activation and anerobic metabolism in atherosclerotic macrophages[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2015, 35(6):1463-1471.
- [36] Castegna A, Gissi R, Menga A, et al. Pharmacological targets of metabolism in disease: opportunities from macrophages[J]. Pharmacol Ther, 2020, 210:107521.
- [37] Ouimet M, Ediriweera HN, Gundra UM, et al. Micro RNA-33-dependent regulation of macrophage metabolism directs immune cell polarization in atherosclerosis[J]. J Clin Invest, 2015, 125(12):4334-4348.

收稿日期:2021-11-16

(上接第 292 页)

- [28] He X, Li L, Tang M, et al. Biomimetic electrical stimulation induces rat bone marrow mesenchymal stem cells to differentiate into cardiomyocyte-like cells via TGF-beta 1 in vitro[J]. Prog Biophys Mol Biol, 2019, 148:47-53.
- [29] Crestani T, Steichen C, Neri E, et al. Electrical stimulation applied during differentiation drives the hiPSC-CMs towards a mature cardiac conduction-like cells[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2020, 533(3):376-382.
- [30] Lian X, Zhang J, Azarin SM, et al. Directed cardiomyocyte differentiation from human pluripotent stem cells by modulating Wnt/ β -catenin signaling under fully defined conditions[J]. Nat Protoc, 2013, 8(1):162-175.
- [31] Lu S, Crawford GL, Dore J, et al. Cardiac-specific NRAP overexpression causes right ventricular dysfunction in mice[J]. Exp Cell Res, 2011, 317(8):1226-1237.
- [32] Lu DF, Wang Y, Su ZZ, et al. Knockdown of the HDAC1 promotes the directed differentiation of bone mesenchymal stem cells into cardiomyocytes[J]. PLoS One, 2014, 9(3):e92179.
- [33] Haneef K, Lila N, Benadda S, et al. Development of bioartificial myocardium by electrostimulation of 3D collagen scaffolds seeded with stem cells[J]. Heart Int, 2012, 7(2):e14.
- [34] Xue M, Jackson CJ. Extracellular matrix reorganization during wound healing and its impact on abnormal scarring[J]. Adv Wound Care (New Rochelle), 2015, 4(3):119-136.
- [35] Liu Z, Wan X, Wang ZL, et al. Electroactive biomaterials and systems for cell fate determination and tissue regeneration: design and applications[J]. Adv Mater, 2021, 33(32):e2007429.
- [36] Chan YC, Ting S, Lee YK, et al. Electrical stimulation promotes maturation of cardiomyocytes derived from human embryonic stem cells[J]. J Cardiovasc Transl Res, 2013, 6(6):989-999.
- [37] Hernández D, Millard R, Sivakumaran P, et al. Electrical stimulation promotes cardiac differentiation of human induced pluripotent stem cells[J]. Stem Cells Int, 2016, 2016:1718041.
- [38] Zhang SS, Kim KH, Rosen A, et al. Iroquois homeobox gene 3 establishes fast conduction in the cardiac His-Purkinje network[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2011, 108(33):13576-13581.

收稿日期:2021-10-19