

## 酸性代谢环境对心肌细胞分化影响的研究进展

毛嘉豪<sup>1</sup> 周帆<sup>2</sup> 穆军升<sup>1,3</sup>

(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; 3. 新乡医学院第三附属医院心脏外科, 河南 新乡 453000)

**【摘要】** 以干细胞为基础的心肌再生是治疗心肌梗死的前沿课题, 控制干细胞的代谢微环境能影响干细胞向心肌细胞的分化, 在临床应用中有着广阔前景。pH 值是心肌细胞发育过程中代谢环境的重要指标。乳酸作为主要的酸性代谢产物之一, 是调节心肌细胞早期发育阶段酸性代谢环境的关键代谢产物。现就 pH 值在心肌细胞生存与分化过程中的影响及相关机制的研究进展做一综述。

**【关键词】** pH 值; 乳酸; 干细胞; 心脏分化; 酸性代谢环境

**【DOI】** 10.16806/j.cnki.issn.1004-3934.2024.06.013

## Influence of Acidic Metabolic Environment on Differentiation of Cardiomyocytes

MAO Jiahao<sup>1</sup>, ZHOU Fan<sup>2</sup>, MU Junsheng<sup>1,3</sup>

(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 The General Hospital of The People's Liberation Army, Beijing 100039, China; 3. Department of Cardiac Surgery, The Third Affiliated Hospital of Xinxiang Medical University, Xinxiang 453000, Henan, China)

**【Abstract】** Stem cell-based myocardial regeneration is a frontier topic in the treatment of myocardial infarction. Manipulating the metabolic microenvironment of stem cells can influence their differentiation into cardiomyocytes, which have promising clinical applications. pH is an important indicator of the metabolic environment during cardiomyocyte development. And lactate, as one of the main acidic metabolites, is a major regulator of the acidic metabolic environment during early cardiomyocyte development. Here, we summarize the progress of research into the influence of pH value and lactate on cardiomyocyte survival and differentiation, as well as related mechanisms.

**【Keywords】** pH value; Lactic acid; Stem cell; Cardiac differentiation; Acidic metabolic environment

心肌梗死是一种常见的致命性心脏疾病, 近三四十年来, 心肌梗死的发病率在低、中等收入国家中逐渐上升<sup>[1]</sup>。由于心肌细胞的再生能力差, 大量心肌细胞坏死会导致心脏纤维化和心力衰竭<sup>[2]</sup>。目前对于心力衰竭的治疗有药物治疗、心脏再同步化治疗、左心室辅助装置、心脏移植等。然而目前常用的药物治疗与辅助装置治疗并不能逆转心肌细胞的坏死。在过去的几十年里, 心肌再生已成为治疗心肌梗死和心力衰竭的前沿课题, 主要包括体外培养的心肌细胞移植、心脏组织工程、刺激内源性心肌细胞增殖和将非心肌细胞重编程为心肌细胞<sup>[2]</sup>。

心肌细胞的体外培养包括胚胎干细胞和诱导多能干细胞在内的多能干细胞的培养, 是用于治疗的心肌细胞的潜在来源<sup>[3]</sup>。心肌再生治疗中每个人所需

的心肌细胞数大约为  $10^9$  个, 因此以下的关键技术需重点考虑: 扩大表观遗传学稳定的多能干细胞产量、有效且可重复的心肌细胞分化以及高度可靠的心肌细胞纯化与成熟<sup>[4]</sup>。心脏原位组织工程则是使用重组病毒、干扰 RNA 或调节细胞代谢环境等方法来刺激内源性心肌细胞的增殖<sup>[2,5]</sup>。事实上, 哺乳动物的心脏仅在新生儿时期有短暂的自我修复能力<sup>[6-7]</sup>, 成年哺乳动物的心肌细胞更新率极低且梗死后不足以再生<sup>[8-9]</sup>, 新生成的心肌细胞很可能来自现有的心肌细胞<sup>[9]</sup>。在妊娠早期, 哺乳动物胚胎在缺氧环境中发育, 早期心肌细胞的发育高度依赖糖酵解, 乳酸成为调节代谢微环境中 pH 值的基础。目前, 有关心肌再生策略的一个新兴趋势是调节代谢微环境来诱导干细胞分化为心肌细胞, 许多研究<sup>[10-11]</sup> 证明代谢微环境

基金项目: 国家自然科学基金 (82270255)

通信作者: 穆军升, E-mail: wesley\_mu@hotmail.com

对心肌细胞的分化过程有重要作用。现综述 pH 值与乳酸对心肌细胞生存以及分化的影响。

## 1 pH 值与心肌细胞的生存

### 1.1 心肌缺血损伤的发生机制及低 pH 值的保护作用

由于急性心肌梗死引起的炎症,梗死区局部的 pH 值往往低于心脏组织的生理 pH 值<sup>[12-13]</sup>。缺血导致的组织缺氧使细胞无氧糖酵解产生乳酸,而再灌注则使心肌梗死区复氧并恢复生理 pH 值<sup>[13]</sup>。虽然酸中毒常被认为不利于细胞生存,但近期研究<sup>[14-15]</sup>表明,酸中毒对心肌细胞、肝细胞等细胞缺血、缺氧的损伤有保护作用,然而,在较长的缺血过程之后的再灌注可能会引起细胞死亡,这种矛盾现象被称为 pH 悖论。

缺氧、缺血的组织经历再灌注后会发​​生氧化应激,并伴随氧自由基种类、细胞质  $\text{Ca}^{2+}$  的增加和还原型谷胱甘肽的减少<sup>[16]</sup>。当细胞病理性地负载高水平  $\text{Ca}^{2+}$  时,细胞内线粒体膜通透性会发生非特异性增加<sup>[16-17]</sup>,导致线粒体肿胀并解偶联,这一过程被称为线粒体通透性转变,从而形成线粒体膜通透性转换孔 (mitochondrial permeability transition pore, MPTP)。具有 MPTP 的线粒体难以产生三磷酸腺苷 (adenosine triphosphate, ATP) 去修复缺血再灌注期间激活的钙离子依赖性蛋白酶、核酸酶和磷脂酶造成的损伤,肿胀的线粒体还能水解糖酵解产生的 ATP 以及剩余有功能的线粒体<sup>[17]</sup>。虽然细胞内的低 pH 值本身有害,但能保护细胞免受缺血再灌注过程中发生的不可逆细胞损伤<sup>[16]</sup>,这种保护作用是通过抑制 MPTP 的形成而产生的<sup>[12,16-17]</sup>。Cohen 等<sup>[12]</sup>对局部缺血 30 min 的离体兔心脏进行分组实验,发现在离体心脏心肌梗死后直接再灌注恢复 pH 值的同时也促进了 MPTP 的产生;而相较于直接再灌注,再灌注前 2 min 使用酸性灌注液将显著减少心肌梗死面积。这提示了在对心肌梗死的再灌注治疗前维持短暂酸中毒对心肌细胞有一定的保护作用。

### 1.2 酸中毒与心肌细胞移植

体外培养的心脏组织的开发与设计必须考虑心肌缺血的特定环境,否则体外培养的心肌细胞很可能在植入体内时坏死<sup>[5]</sup>。直接将干细胞注射到心肌梗死区会导致低细胞保留率,不利于长期移植<sup>[18-19]</sup>。Li 等<sup>[20]</sup>开发设计了一种对 pH 值与温度均敏感的水凝胶作为心肌细胞的输送载体,能在梗死区 pH 值环境下凝固并保证细胞的保留率。总的来说,心肌梗死所致的低 pH 值对梗死区的心肌细胞有一定的保护作用,同时对体外培养心肌细胞的移植有指导意义。

## 2 pH 值与心肌细胞的分化

### 2.1 细胞内 pH 值与心肌细胞的分化

当心肌细胞内的 pH 值降低时,主要有两种离子转运蛋白被激活,分别是  $\text{Na}^+ - \text{H}^+$  交换体 ( $\text{Na}^+ - \text{H}^+$  exchanger, NHE) 和  $\text{Na}^+ - \text{HCO}_3^-$  协同转运蛋白<sup>[21]</sup>。NHE 是一种普遍存在的质膜糖蛋白,通过排出一个细胞内质子交换一个细胞外的  $\text{Na}^+$ ,达到调节细胞内 pH 值的目的<sup>[22]</sup>。NHE 有 9 种亚型,NHE1 是心脏组织中唯一的质膜亚型<sup>[23]</sup>。对每种转运蛋白清除细胞内酸负荷的贡献评估表明,NHE1 是减少心肌细胞内酸负荷的主要转运蛋白<sup>[24]</sup>。此外,有研究<sup>[25]</sup>发现, $\text{Na}^+ - \text{HCO}_3^-$  协同转运蛋白在 pH 值  $> 7$  时活性更强,当心肌细胞内 pH 值  $< 7$  时,NHE1 蛋白对 pH 的调节更为关键,NHE1 通过排出细胞内过量的酸来改善细胞内 pH 值。

研究<sup>[26]</sup>表明,在心脏发育过程中以及出生后的很短时间内,NHE1 蛋白的表达水平升高。当出生后细胞分化减少时,NHE1 的活性也随之下降<sup>[26-27]</sup>。Li 等<sup>[22]</sup>首次研究了 NHE1 在胚胎干细胞分化中的影响,通过处理 CGR8 细胞 (即小鼠胚胎干细胞) 形成胚状体和心肌细胞,使用 NHE1 特异性抑制剂 EMD887580 处理的第 8 ~ 12 天,存在跳动的胚状体的百分比相较于对照组显著下降, $\alpha$ -肌球蛋白重链蛋白表达显著降低。更为重要的是,在使用 NHE1 特异性抑制剂处理的第 12 天,心肌分化的标志物转录因子 NKX2.5 和 Tbx5 显著下降<sup>[28]</sup>。此外,Li 等<sup>[22]</sup>还使用含有 NHE1 的腺病毒感染 CGR8 细胞使其具有额外的 NHE 活性,含有 NHE1 的腺病毒感染增加了存在跳动的胚状体的百分比,提高了心肌细胞分化的几种标志物的水平。

值得注意的是,NHE1 特异性抑制剂 EMD887580 在抑制 NHE1 活性与心肌分化过程之外并未影响 NHE1 的表达水平,这表明 NHE1 表达水平的变化可能独立于心肌分化过程,NHE1 并不是心肌细胞分化的伴随产物<sup>[22]</sup>,然而 NHE1 活性影响心肌细胞分化的相关触发机制与信号通路有待进一步研究。

### 2.2 细胞外 pH 值与心肌细胞的分化

在多能干细胞分化为心肌细胞的实际培养过程中,为了获得一定的细胞产量,细胞培养通常在较高的细胞密度下进行。然而高密度的细胞培养将不可避免地导致乳酸的积累。Liu 等<sup>[29]</sup>的研究报道了人多能干细胞的高密度培养引起了培养基环境的低 pH 值,这样的低 pH 值环境抑制葡萄糖的消耗,且导致细胞周期的阻滞。而向培养基补充碳酸氢钠能抑制酸中毒并改善细胞存活,碳酸氢钠处理能显著提高心肌损伤标志物心肌肌钙蛋白 (cardiac troponin, cTn) 和

NKX2.5 的表达,促进多能干细胞向心肌细胞的分化。

### 3 乳酸与心肌细胞的分化

#### 3.1 乳酸在心肌细胞早期发育过程中的作用

哺乳动物的心脏对能量的需求非常高,因其需要不断收缩以维持身体各个器官的氧气供应。它能利用所有类型的底物来产生能量,包括葡萄糖、乳酸、酮体以及氨基酸<sup>[30]</sup>。在妊娠早期的缺氧环境中,胎盘产生大量的乳酸<sup>[31-33]</sup>,成为人类胚胎早期发育的重要底物<sup>[33-34]</sup>。

胎儿出生后,大量氧气进入心脏,使得心肌细胞的代谢环境发生改变,细胞糖酵解与乳酸水平下降,心肌细胞的线粒体氧化能力增强,脂肪酸 $\beta$ 氧化成为心脏的主要能量来源<sup>[35]</sup>,心肌细胞伴随着糖酵解到氧化磷酸化这一代谢转变进入终末阶段的分化<sup>[36]</sup>。

#### 3.2 乳酸对心肌细胞分化的影响

Ordoño 等<sup>[5]</sup>分别研究了乳酸对于小鼠新生心肌细胞以及人诱导多能干细胞衍生的心肌细胞的影响,通过评估表达增殖的标志物 Ki67 以及表达细胞分裂的关键调节因子极光激酶 B,发现乳酸能显著增加 Ki67 + cTnT + 和 AurB + cTnT + 的心肌细胞,提示乳酸的存在能增加心肌细胞周期活性,刺激心肌细胞的增殖活动。此外,乳酸对成纤维细胞的数量无影响,提示乳酸刺激细胞增殖的效应是心肌细胞特有的;RNA 测序与基因表达分析的结果表明,使用乳酸盐培养的心肌细胞表现出 BMP10、LIN28 和 TCIM 的表达上调与 GRIK1 或 DGKK 等的表达下调。BMP10 是一种分泌蛋白,能诱导心肌细胞增殖并阻止心脏细胞成熟<sup>[37-38]</sup>,LIN28 与干细胞的代谢以及多能性有关<sup>[10]</sup>,并调节早期心肌细胞的激活<sup>[39]</sup>,而 TCIM 与细胞的低分化状态有关<sup>[40]</sup>。GRIK1 被认为能抑制细胞增殖<sup>[41]</sup>,而 DGKK 则与心肌细胞的肥大有关<sup>[42]</sup>。这些结果在基因表达的层面同样提示了乳酸刺激心肌细胞增殖的作用。研究团队<sup>[43]</sup>为了阐明乳酸对心肌细胞的调控机制,使用人类基因数据库 GeneCards® 来与人诱导多能干细胞衍生的心肌细胞培养中发生上调或下调的基因进行比对,发现与这些基因相关的转录因子结合位点大多与缺氧信号通路有关,其中 SP1、MEF2A、CREM 已被证实参与低氧条件下的心脏保护或心肌细胞的增殖,这些结果提示乳酸可能与心肌细胞缺氧信号通路的激活有关,乳酸通过对心肌细胞在基因层面的调控,使得心肌细胞处于低分化阶段以促进其增殖活动。

Du 等<sup>[43]</sup>报道了一种由五种小分子组成的化学混合物,能有效地使心肌细胞重新进入细胞周期和细胞分裂阶段,并且诱导心肌细胞在进入增殖之前去分

化。值得注意的是,在这种化学混合物处理的新生大鼠心室肌细胞中,细胞内乳酸浓度提升到两倍,并且直接提高了培养基的乳酸水平。通过对代谢基因变化的分析,心肌细胞的糖酵解水平上升,氧化磷酸化水平下降。Du 等<sup>[43]</sup>的研究表明,乳酸能通过 LacRS2 介导丙酮酸脱氢酶  $\alpha 1$  (pyruvate dehydrogenase alpha 1, PDHA1) 重组蛋白和肉碱棕榈酰基转移酶 2 (carnitine palmitoyltransferase 2, CPT2) 重组蛋白这两种线粒体蛋白的乳酸化从而产生抑制作用,这两种关键酶分别催化丙酮酸生成乙酰辅酶 A 和长链脂肪酸的氧化,而上面所叙述的化学混合物恰好能增加 PDHA1 和 CPT2 的乳酸化。敲低 LacRS2 siRNA 或者  $\beta$ -丙氨酸抑制 LacRS2,都能降低乳酸化的 PDHA1 水平和进入细胞周期的心肌细胞的数量。以上结果表明,对于能促进心肌细胞去分化和增殖的化学混合物,乳酸-LacRS2 很有可能是其下游信号通路,诱导心肌细胞增殖,并使得细胞代谢由氧化磷酸化向糖酵解转变。

Tohyama 等<sup>[44]</sup>使用含丰富乳酸的无葡萄糖培养基培养多能干细胞的衍生物,发现只有心肌细胞存活,并获得了纯度为 99% 的心肌细胞,同时,经过乳酸纯化的心肌细胞显示出增殖能力的增强。基因表达分析提示心肌细胞相关基因的 mRNA MYH6 表达升高,非心脏基因 (NANOG、MYOD、AFP 和 MAP2) 的 mRNA 被完全消除,其他心肌细胞相关基因 (ACTC1 和 NKX2.5) 的 mRNA 显著富集。

#### 3.3 乳酸与 pH 值的非一致性关系

值得注意的是,Tohyama 等<sup>[44]</sup>经过乳酸浓度的优化后选择了 4 mmol/L 作为最佳乳酸浓度,因为在该乳酸浓度下多能干细胞在分化的第 20 ~ 30 天产生了最高的心肌细胞纯度和产量,并且在细胞培养过程中产生了最低的细胞死亡数量。此外,外源性的乳酸补充可能导致培养基中细胞内外环境的酸化。Tohyama 等<sup>[44]</sup>研究了 4 mmol/L 的乳酸是否影响细胞内外 pH 值,实验证实,在 5% CO<sub>2</sub> 细胞培养箱中孵育 1 h 后,细胞外 pH 值稳定在 7.5,并且心肌细胞内的 pH 值不受影响。这些结果表明,乳酸对多能干细胞衍生的心肌细胞的影响并不依赖 pH 值,而更有可能是乳酸本身产生的影响。

### 4 问题与展望

心肌细胞内 pH 值主要由 NHE1 调节,NHE1 的活性增强对于促进心肌细胞分化的分子机制尚未阐明。对于心肌细胞的体外培养,抑制高密度培养引起的酸中毒能促进心肌细胞的分化,但相关机制仍有待探索。以胎儿心脏为例,心肌细胞早期发育的代谢环境富含乳酸,能促进心肌细胞的去分化并增强其增殖能力;就体

外培养而言,乳酸能有效增加干细胞向心肌细胞分化的比例以及心肌细胞的产量,通过乳酸调控细胞代谢环境在实际临床应用中有着广阔的治疗前景。

## 5 总结

针对心肌梗死的干细胞治疗被认为是有着广阔前景的前沿课题。心肌梗死时的缺血区通常有着较低的 pH 值,缺血再灌注治疗前维持短暂酸中毒通过抑制 MPTP 对心肌细胞产生一定的保护作用。同时,哺乳动物心肌细胞的早期发育环境是缺氧且富含乳酸的,酸性代谢环境对干细胞向心肌细胞分化的影响有着显著的研究意义。

无论是 NHE1 的活化降低心肌细胞内酸负荷,还是在多能干细胞衍生的心肌细胞体外培养环境中补充碳酸氢钠抑制酸中毒,均促进了心肌细胞的分化。这些结果表明,降低细胞内酸负荷与抑制细胞外酸中毒均能改善心肌细胞的分化。乳酸作为心脏早期发育的主要能量底物,通过基因层面的调控使得心肌细胞去分化并增强其增殖能力,在心脏原位组织工程中有广阔的治疗前景,即通过乳酸刺激内源性心肌细胞的增殖;在心肌细胞的体外培养中,乳酸能有效提高干细胞分化成为心肌细胞的比例及产量,在心肌细胞培养的实际应用中有至关重要的意义。

## 参考文献

- [1] Anderson JL, Morrow DA. Acute myocardial infarction[J]. *N Engl J Med*, 2017, 376(21):2053-2064.
- [2] Zheng L, Du J, Wang Z, et al. Molecular regulation of myocardial proliferation and regeneration[J]. *Cell Regen*, 2021, 10(1):13.
- [3] BurrIDGE PW, Keller G, Gold JD, et al. Production of de novo cardiomyocytes: human pluripotent stem cell differentiation and direct reprogramming[J]. *Cell Stem Cell*, 2012, 10(1):16-28.
- [4] Hattori F, Fukuda K. Strategies for replacing myocytes with induced pluripotent stem in clinical protocols[J]. *Transplant Rev (Orlando)*, 2012, 26(3):223-232.
- [5] Ordoño J, Pérez-Amodio S, Ball K, et al. The generation of a lactate-rich environment stimulates cell cycle progression and modulates gene expression on neonatal and hiPSC-derived cardiomyocytes[J]. *Biomater Adv*, 2022, 139:213035.
- [6] Haubner BJ, Schuetz T, Penninger JM. A reproducible protocol for neonatal ischemic injury and cardiac regeneration in neonatal mice[J]. *Basic Res Cardiol*, 2016, 111(6):64.
- [7] Porrello ER, Mahmoud AI, Simpson E, et al. Regulation of neonatal and adult mammalian heart regeneration by the miR-15 family[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2013, 110(1):187-192.
- [8] Bergmann O, Bhardwaj RD, Bernard S, et al. Evidence for cardiomyocyte renewal in humans[J]. *Science*, 2009, 324(5923):98-102.
- [9] Senyo SE, Steinhauser ML, Pizzimenti CL, et al. Mammalian heart renewal by pre-existing cardiomyocytes[J]. *Nature*, 2013, 493(7432):433-436.
- [10] Zhang J, Ratanasirinrawoot S, Chandrasekaran S, et al. LIN28 regulates stem cell metabolism and conversion to primed pluripotency[J]. *Cell Stem Cell*, 2016, 19(1):66-80.
- [11] 农大雄, 张景昌, 雷唤启, 等. 乳酸酸中毒与非乳酸增高性酸中毒对急性心肌梗死患者短期预后的影响[J]. *广西医学*, 2023, 45(11):1291-1295.
- [12] Cohen MV, Yang XM, Downey JM. The pH hypothesis of postconditioning: staccato reperfusion reintroduces oxygen and perpetuates myocardial acidosis[J]. *Circulation*, 2007, 115(14):1895-1903.
- [13] Kim JS, He L, Lemasters JJ. Mitochondrial permeability transition: a common pathway to necrosis and apoptosis[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2003, 304(3):463-470.
- [14] Lemasters JJ, Qian T, He L, et al. Role of mitochondrial inner membrane permeabilization in necrotic cell death, apoptosis, and autophagy[J]. *Antioxid Redox Signal*, 2002, 4(5):769-781.
- [15] Kim JS, Qian T, Lemasters JJ. Mitochondrial permeability transition in the switch from necrotic to apoptotic cell death in ischemic rat hepatocytes[J]. *Gastroenterology*, 2003, 124(2):494-503.
- [16] Halestrap AP, Richardson AP. The mitochondrial permeability transition: a current perspective on its identity and role in ischaemia/reperfusion injury[J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2015, 78:129-141.
- [17] Halestrap AP, Pasdois P. The role of the mitochondrial permeability transition pore in heart disease[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2009, 1787(11):1402-1415.
- [18] Perin EC, Tian M, Marini FC 3rd, et al. Imaging long-term fate of intramyocardially implanted mesenchymal stem cells in a porcine myocardial infarction model[J]. *PLoS One*, 2011, 6(9):e22949.
- [19] Williams AR, Trachtenberg B, Velazquez DL, et al. Intramyocardial stem cell injection in patients with ischemic cardiomyopathy: functional recovery and reverse remodeling[J]. *Circ Res*, 2011, 108(7):792-796.
- [20] Li Z, Fan Z, Xu Y, et al. pH-sensitive and thermosensitive hydrogels as stem-cell carriers for cardiac therapy[J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2016, 8(17):10752-10760.
- [21] Odunewu-Adieribigbe A, Fliegel L. The  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  exchanger and pH regulation in the heart[J]. *IUBMB life*, 2014, 66(10):679-685.
- [22] Li X, Karki P, Lei L, et al.  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  exchanger isoform 1 facilitates cardiomyocyte embryonic stem cell differentiation[J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2009, 296(1):H159-H170.
- [23] Karmazyn M, Sawyer M, Fliegel L. The  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  exchanger: a target for cardiac therapeutic intervention[J]. *Curr Drug Targets Cardiovasc Haematol Disord*, 2005, 5(4):323-335.
- [24] Vaughan-Jones RD, Villafuerte FC, Swietach P, et al. pH-regulated  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  influx into the mammalian ventricular myocyte: the relative role of  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  exchange and  $\text{Na}^+/\text{HCO}_3^-$  Co-transport[J]. *J Cardiovasc Electrophysiol*, 2006, 17(suppl 1):S134-S140.
- [25] Fliegel L. Regulation of the  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  exchanger in the healthy and diseased myocardium[J]. *Expert Opin Ther Targets*, 2009, 13(1):55-68.
- [26] Rieder CV, Fliegel L. Developmental regulation of  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  exchanger expression in fetal and neonatal mice[J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2002, 283(1):H273-H283.
- [27] Hoshino K, Avkiran M. Effects of moderate hypothermia on sarcolemmal  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  exchanger activity and its inhibition by cariporide in cardiac ventricular myocytes[J]. *Br J Pharmacol*, 2001, 134(7):1587-1595.
- [28] Lev S, Kehat I, Gepstein L. Differentiation pathways in human embryonic stem cell-derived cardiomyocytes[J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2005, 1047:50-65.
- [29] Liu W, Ren Z, Lu K, et al. The suppression of medium acidosis improves the maintenance and differentiation of human pluripotent stem cells at high density in defined cell culture medium[J]. *Int J Biol Sci*, 2018, 14(5):485-496.
- [30] Ritterhoff J, Tian R. Metabolism in cardiomyopathy: every substrate matters[J]. *Cardiovasc Res*, 2017, 113(4):411-421.
- [31] Han M, Trotta P, Coleman C, et al. MCT4, A511/Basigin and EF5 expression patterns during early chick cardiomyogenesis indicate cardiac cell differentiation occurs in a hypoxic environment[J]. *Dev Dyn*, 2006, 235(1):124-131.
- [32] Chen CP, Aplin JD. Placental extracellular matrix: gene expression, deposition by

- placental fibroblasts and the effect of oxygen [J]. *Placenta*, 2003, 24 (4): 316-325.
- [33] Kylo HM, Wang D, Lorca RA, et al. Adaptive responses in uteroplacental metabolism and fetoplacental nutrient shuttling and sensing during placental insufficiency[J]. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2023, 324 (6): E556-E568.
- [34] Duan X, Liu X, Zhan Z. Metabolic regulation of cardiac regeneration[J]. *Front Cardiovasc Med*, 2022, 9: 933060.
- [35] Lopaschuk GD, Jaswal JS. Energy metabolic phenotype of the cardiomyocyte during development, differentiation, and postnatal maturation[J]. *J Cardiovasc Pharmacol*, 2010, 56 (2): 130-140.
- [36] André E, de Pauw A, Verdoy R, et al. Changes of metabolic phenotype of cardiac progenitor cells during differentiation: neutral effect of stimulation of AMP-activated protein kinase[J]. *Stem Cells Dev*, 2019, 28 (22): 1498-1513.
- [37] Chen H, Yong W, Ren S, et al. Overexpression of bone morphogenetic protein 10 in myocardium disrupts cardiac postnatal hypertrophic growth[J]. *J Biol Chem*, 2006, 281 (37): 27481-27491.
- [38] Sun L, Yu J, Qi S, et al. Bone morphogenetic protein-10 induces cardiomyocyte proliferation and improves cardiac function after myocardial infarction[J]. *J Cell Biochem*, 2014, 115 (11): 1868-1876.
- [39] Xiang Q, Yang B, Li L, et al. Critical role of Lin28-TNFR2 signalling in cardiac stem cell activation and differentiation[J]. *J Cell Mol Med*, 2019, 23 (4): 2943-2953.
- [40] Zheng YW, Zhang L, Wang Y, et al. Thyroid cancer 1 (C8orf4) shows high expression, no mutation and reduced methylation level in lung cancers, and its expression correlates with  $\beta$ -catenin and DNMT1 expression and poor prognosis[J]. *Oncotarget*, 2017, 8 (38): 62880-62890.
- [41] Ren Z, Liu J, Yao L, et al. Glutamate receptor ionotropic, kainate 1 serves as a novel tumor suppressor of colorectal carcinoma and predicts clinical prognosis[J]. *Exp Ther Med*, 2020, 20 (6): 167.
- [42] Deisl C, Fine M, Moe OW, et al. Hypertrophy of human embryonic stem cell-derived cardiomyocytes supported by positive feedback between  $\text{Ca}^{2+}$  and diacylglycerol signals[J]. *Pflügers Arch*, 2019, 471 (8): 1143-1157.
- [43] Du J, Zheng L, Gao P, et al. A small-molecule cocktail promotes mammalian cardiomyocyte proliferation and heart regeneration[J]. *Cell Stem Cell*, 2022, 29 (4): 545-558. e13.
- [44] Tohyama S, Hattori F, Sano M, et al. Distinct metabolic flow enables large-scale purification of mouse and human pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes[J]. *Cell Stem Cell*, 2013, 12 (1): 127-137.

收稿日期: 2023-10-29

## (上接第 533 页)

- [23] Huo Y, Fang PH, Lou HD, et al. Real-world early effectiveness and safety of inclisiran in China pilot zone: an interim analysis of 3-month data from a prospective non-interventional cohort study [C]. Amsterdam: ESC Preventive Cardiology Congress, 2023.
- [24] Ray KK, Wright RS, Kallend D, et al. Two phase 3 trials of inclisiran in patients with elevated LDL cholesterol[J]. *N Engl J Med*, 2020, 382 (16): 1507-1519.
- [25] Wright RS, Ray KK, Raal FJ, et al. Pooled patient-level analysis of inclisiran trials in patients with familial hypercholesterolemia or atherosclerosis[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2021, 77 (9): 1182-1193.
- [26] Ray KK, Raal FJ, Kallend DG, et al. Inclisiran and cardiovascular events: a patient-level analysis of phase III trials[J]. *Eur Heart J*, 2023, 44 (2): 129-138.
- [27] Cordero A, Santos-Gallego CG, Facila L, et al. Estimation of the major cardiovascular event prevention with Inclisiran[J]. *Atherosclerosis*, 2020, 313: 76-80.
- [28] Kosmas CE, Munoz EA, Skavdis A, et al. Inclisiran for the treatment of cardiovascular disease: a short review on the emerging data and therapeutic potential[J]. *Ther Clin Risk Manag*, 2020, 16: 1031-1037.
- [29] Khan SA, Naz A, Qamar Masood M, et al. Meta-analysis of inclisiran for the treatment of hypercholesterolemia[J]. *Am J Cardiol*, 2020, 134: 69-73.
- [30] Ray KK, Stoeckenbroek RM, Kallend D, et al. Effect of 1 or 2 doses of inclisiran on low-density lipoprotein cholesterol levels: one-year follow-up of the ORION-1 randomized clinical trial[J]. *JAMA Cardiol*, 2019, 4 (11): 1067-1075.
- [31] Raal FJ, Kallend D, Ray KK, et al. Inclisiran for the treatment of heterozygous familial hypercholesterolemia[J]. *N Engl J Med*, 2020, 382 (16): 1520-1530.
- [32] Raal F, Durst R, Bi R, et al. Efficacy, safety, and tolerability of inclisiran in patients with homozygous familial hypercholesterolemia: results from the ORION-5 randomized clinical trial[J]. *Circulation*, 2024, 149 (5): 354-362.
- [33] Norata GD, Tibolla G, Catapano AL. Targeting PCSK9 for hypercholesterolemia[J]. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 2014, 54: 273-293.
- [34] Lagace TA, Curtis DE, Garuti R, et al. Secreted PCSK9 decreases the number of LDL receptors in hepatocytes and in livers of parabiotic mice[J]. *J Clin Invest*, 2006, 116 (11): 2995-3005.
- [35] Huynh K. Dyslipidaemia. Assessing the efficacy and safety of evolocumab and alirocumab[J]. *Nat Rev Cardiol*, 2015, 12 (5): 261.
- [36] Mulder J, Galema-Boers A, Roeters VIJ. First clinical experiences with inclisiran in a real-world setting[J]. *J Clin Lipidol*, 2023, 17 (6): 818-827.
- [37] Cunningham D, Danley DE, Geoghegan KF, et al. Structural and biophysical studies of PCSK9 and its mutants linked to familial hypercholesterolemia[J]. *Nat Struct Mol Biol*, 2007, 14 (5): 413-419.
- [38] Kallend D, Stoeckenbroek R, He Y, et al. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of inclisiran, a small interfering RNA therapy, in patients with hepatic impairment[J]. *J Clin Lipidol*, 2022, 16 (2): 208-219.
- [39] Wright RS, Collins MG, Stoeckenbroek RM, et al. Effects of renal impairment on the pharmacokinetics, efficacy, and safety of inclisiran: an analysis of the ORION-7 and ORION-1 studies[J]. *Mayo Clin Proc*, 2020, 95 (1): 77-89.
- [40] Ray KK, Landmesser U, Leiter LA, et al. Inclisiran in patients at high Cardiovascular risk with elevated LDL cholesterol[J]. *N Engl J Med*, 2017, 376 (15): 1430-1440.
- [41] Lamb YN. Correction to: inclisiran: first approval [J]. *Drugs*, 2021, 81 (9): 1129.
- [42] Boren J, Chapman MJ, Krauss RM, et al. Low-density lipoproteins cause atherosclerotic cardiovascular disease: pathophysiological, genetic, and therapeutic insights: a consensus statement from the European Atherosclerosis Society Consensus Panel[J]. *Eur Heart J*, 2020, 41 (24): 2313-2330.
- [43] O'Donoghue ML, Rosenson RS, Gencer B, et al. Small interfering RNA to reduce lipoprotein(a) in cardiovascular disease[J]. *N Engl J Med*, 2022, 387 (20): 1855-1864.
- [44] O'Donoghue ML, Rosenson RS, Gencer B, 等. Olpasiran 治疗动脉粥样硬化性心血管疾病患者的临床研究[J]. *中国临床药理学杂志*, 2023, 39 (4): 482.
- [45] Ginsberg HN, Goldberg IJ. Broadening the scope of dyslipidemia therapy by targeting APOC3 (apolipoprotein C3) and ANGPTL3 (angiopoietin-like protein 3) [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2023, 43 (3): 388-398.
- [46] Mercep I, Strik D, Sliskovic AM, et al. New therapeutic approaches in treatment of dyslipidaemia—A narrative review [J]. *Pharmaceuticals (Basel)*, 2022, 15 (7): 839.

收稿日期: 2023-12-12