

## 心外膜与心脏修复再生

章澜 黄从新

(武汉大学人民医院心内科 武汉大学心血管病研究所 心血管病湖北重点实验室, 湖北 武汉 430060)

**【摘要】** 在所有脊椎动物中,心外膜是包裹心脏的一层间皮组织。在心脏发育和修复再生过程中,这个结构是重要细胞如血管平滑肌细胞、周细胞和成纤维细胞等的来源,并且分泌对心肌细胞的增殖和存活至关重要的因子。当心脏受损时心外膜会被重新激活,并刺激上皮向间充质转变中的发育基因程序。现就近年来对心外膜与心脏修复和再生的相关机制研究进行总结,旨在利用心外膜的再生潜力进行心脏修复并提出未来的观点,以突出新兴的治疗策略。

**【关键词】** 心外膜;心脏再生;心脏损伤修复;再生潜力

**【DOI】** 10.16806/j.cnki.issn.1004-3934.2021.04.005

## Epicardium in Cardiac Repair Regeneration

ZHANG Lan, HUANG Congxin

(Department of Cardiology, Renmin Hospital of Wuhan University; Cardiovascular Research Institute, Wuhan University; Hubei Key Laboratory of Cardiology, Wuhan 430060, Hubei, China)

**【Abstract】** In all vertebrates, the epicardium is a layer of mesothelial tissue that surrounds the heart. In the process of heart development, repair and regeneration, this structure is the source of important cells such as vascular smooth muscle cells, pericytes and fibroblasts, and secretes factors that are essential for the proliferation and survival of cardiomyocytes. The epicardium reactivates when the heart is damaged and it stimulates the developmental genetic process of epithelial-to-mesenchymal transition. This review will summarize the mechanisms of epicardium and cardiac repair and regeneration in recent years, which aim to take advantage of the regeneration potential of epicardium for heart repair and put forward future viewpoints to highlight emerging therapeutic strategies.

**【Key words】** Epicardium; Heart regeneration; Heart injury repair; Regenerative potential

现如今缺血性损伤所致的心血管疾病仍是全球死亡的主要原因<sup>[1]</sup>。数百万的心肌细胞因心肌梗死而丢失,再生医学最重要的挑战之一是设计如何替换心肌梗死后失去的数百万心肌细胞,从而迅速触发先天免疫反应以清除死亡或垂死的细胞,并且激活产生胶原的成肌纤维细胞以重塑细胞外环境<sup>[2]</sup>。在过去的20年里,研究人员已确定了几种心脏修复的潜在策略,如诱导现有心肌细胞的增殖,通过注射干细胞进行细胞治疗<sup>[3-5]</sup>。然而,由于成年哺乳动物的心肌细胞不会重新进入细胞周期来替代缺血组织,因此心肌的损伤是不可逆的<sup>[3]</sup>,目前尚无针对人类心脏病的有临床意义的再生疗法。心外膜是位于心脏表面的一层由间皮细胞组成的膜,是一种多功能的心脏祖细胞组织,是心脏发育的信号中心,在心脏发育过程中起着重要的作用。在近期斑马鱼和小鼠的研究中表明,心脏损

伤使心外膜及其衍生物复活,从而调节组织修复<sup>[6]</sup>。过去10年的研究表明,心外膜可能是心脏修复策略的关键靶点。现总结心外膜与心脏修复和再生的相关机制,以及心外膜对心脏形成和发育的功能性贡献,并提出未来的观点,以突出新兴的治疗策略,旨在利用心外膜的再生潜力进行心脏修复。

### 1 心脏再生模型

受损心脏的功能再生预计包括清除坏死组织,恢复失去的肌肉,重建血管,以及消除新心肌细胞的电偶联、炎症和胶原蛋白、纤维蛋白的积累,其中主要的终点是产生新的、健康的心肌细胞<sup>[7-8]</sup>。虽然在成年哺乳动物心脏中有低水平心肌细胞增殖的报道,但表面上很少发生这种自然事件对心脏修复有意义的影响<sup>[9]</sup>。在2011年,Porrello等<sup>[10]</sup>研究的结果首次证明,新生小鼠在出生后的最初几天,可在切除损伤后产

基金项目:湖北省技术创新专项(2016ACA153)

通信作者:黄从新, E-mail: huangcongxin@vip.163.com

生大量的再生反应,从而产生具有有限瘢痕的全尺寸心室。遗传命运图谱显示,这种修复是由现有心肌细胞的增殖介导的。在低温损伤模型中,将冷却的探针应用于 1 日龄小鼠的心室表面,诱导局部细胞死亡,心脏在非跨壁损伤后再生,而在跨壁损伤后则不能再生<sup>[10]</sup>。这说明心脏的再生能力取决于受伤的严重程度。小鼠在 7 d 大的时候就失去了心脏再生能力,之后就会留下瘢痕。小鼠心脏再生能力与心肌细胞增殖之间的紧密联系可能不仅仅是巧合<sup>[11-12]</sup>。此外,在出生早期,大多数小鼠心肌细胞是二倍体,过去两年的研究表明,心肌细胞多倍体与心脏的损伤性再生能力有关<sup>[13]</sup>。与哺乳动物相反,低等脊椎动物例如斑马鱼和某些两栖动物,成年后具有增强受伤心肌再生的能力。在这些较低的脊椎动物模型系统中,斑马鱼由于心肌替代的一致性和广泛性以及该模型系统在分子遗传学上的优势,成为研究最为广泛的模型系统<sup>[14]</sup>。

## 2 心外膜在心脏再生中的作用

### 2.1 心肌损伤后心外膜细胞起到激活心肌的作用

在过去的十年中,越来越多的研究通过动物模型系统来确定心外膜组织影响心脏修复的机制。低等脊椎动物如斑马鱼和某些有尾目两栖动物,成年后拥有强大的心脏再生能力,其中斑马鱼由于其分子遗传学的优势而备受研究人员关注<sup>[14]</sup>。在正常情况下,成体心外膜处于相对静默状态。当心脏受到损伤时,心外膜对这种损伤具有快速而强烈的反应。心脏损伤后,心外膜细胞诱导标记胚胎心外膜,增殖并覆盖损伤部位的基因表达,这一过程称为激活。在斑马鱼中,实际上整个心外膜在受伤后的 1~2 d 内被激活,表达如抗衰蛋白,视黄醛脱氢酶 (retinaldehyde dehydrogenase, RALDH)2, Tbx18 蛋白和肾母细胞瘤 1 (Wilms tumor-1, Wt1) 蛋白等蛋白<sup>[15]</sup>。在新生小鼠中,根尖切除与快速心外膜激活类似,都在整个器官范围内诱导 RALDH2 和 Wt1 表达。在成年小鼠中,心脏损伤还引起胚胎心外膜标志物的重新表达<sup>[16]</sup>。

心脏损伤激活心外膜的分子机制(尤其是在器官范围内)让很多科学家非常感兴趣,但对其仍知之甚少。有学者试图通过评估标记小鼠胚胎心外膜的基因附近潜在的 DNA 调控元件的保守性来解决这个问题。研究人员通过与这些基因附近的增强子结合,确定了 CCAAT/增强子结合蛋白转录因子家族是胚胎心脏和心肌梗死后成年心脏中 RALDH2 和 Wt1 表达的调节因子<sup>[17]</sup>。一项 2017 年的研究确定了转录激活因子 BRG1 (SWI/SNF 染色质重塑复合体的催化亚基) 在小鼠心脏发育过程中和心脏损伤后具有心外膜表达,是 Wt1 表达和心外膜激活的调节剂<sup>[18]</sup>。也有研究表明,

心外膜激活会加剧炎症反应。小鼠缺血再灌注损伤后,在心外膜表面、心外膜下腔和梗死区域可观察到中性粒细胞。在成人心外膜中,CCAAT/增强子结合蛋白显性阴性突变体的病毒表达减少了中性粒细胞的数量,表明 CCAAT/增强子结合蛋白转录因子在中性粒细胞浸润中具有调节功能。此外,心外膜与巨噬细胞的紧密连接表明与心外膜细胞活化有关。对心外膜细胞内在程序的研究和对激活外膜的外在因素的鉴定将有助于衍生生物学和潜在治疗策略上的新发现<sup>[19]</sup>。

### 2.2 心肌损伤后心外膜细胞分化为心肌细胞参与心肌再生

早在对斑马鱼心尖切除再生机制研究中<sup>[19]</sup>,研究者发现心尖切除后会启动心外膜细胞经过上皮-间质转化 (epithelial-to-mesenchymal transition, EMT) 向心内膜下迁徙分化为心肌细胞,参与心肌再生。2007 年 Smart 等<sup>[20]</sup>发现使用胸腺肽  $\beta 4$  预处理成年小鼠,能诱导心外膜细胞重新再表达 Wt1,其用胸腺肽  $\beta 4$  预处理的小鼠再构建心肌梗死模型,发现心肌梗死 2 d 后转基因黄色荧光特异性标志的 Wt1 细胞 (YFP+/Wt1+) 位于成年小鼠心外膜上,并且可分化为 Nkx2.5+ 和 Isl1+ 心肌祖细胞,该研究首次指出,成年哺乳动物心肌损伤后心外膜能分化为心肌细胞参与再生,但其机制尚不明确。

尽管如此,对于心肌梗死后 Wt1 心外膜细胞是否能分化为心肌细胞目前尚有争议。2011 年 Zhou 等<sup>[21]</sup>在成年小鼠心肌梗死模型上研究发现,心肌梗死后 Wt1 心外膜细胞经过 EMT 后生成的心外膜衍生祖细胞 (epicardium derived cells, EPDCs) 仅存在心脏表面,仅能分化为成纤维细胞和血管平滑肌细胞,不能分化为心肌细胞。2012 年 Zhou 等<sup>[22]</sup>建立 wTleR26R 转基因小鼠模型发现心肌梗死后 Wt1 心外膜细胞能分化为心肌细胞,但形状为小圆,无成熟心肌细胞的结构,且数量少,于心肌梗死 1~3 个月出现在心肌梗死区,因此可排除 Cre-loxP 随机重组或细胞融合的可能。由此可见成年哺乳动物心肌梗死后能激活 Wt1 在心外膜上再次表达并向间质细胞转化,但与胚胎期不同在于产生的 EPDCs 缺乏迁徙能力,仅在心肌梗死区分化为少量的心肌细胞。Smart 等<sup>[20]</sup>用能促细胞迁徙的细胞因子胸腺肽  $\beta 4$  预处理诱导 Wt1 心外膜细胞参与再生,可能正是该细胞因子增强了 Wt1 心外膜细胞向心肌迁徙进而分化为心肌细胞的能力。

## 3 心外膜与心脏再生和修复的关联

### 3.1 心外膜源性细胞在心脏损伤反应中的作用

先前存在的心外膜源性心脏成纤维细胞是肌纤维母细胞的主要来源,肌纤维母细胞通过分泌细胞外基质在压力过载或缺血重塑时产生瘢痕组织。心外膜衍生的周

细胞或内皮细胞也被报道表现出间充质细胞特性,并产生细胞外基质以响应损伤。成人心外膜被重新激活和扩张,以响应心脏损伤。一小部分 EPDCs 经历 EMT,成为分泌细胞外基质的肌纤维。在有限的情况下,EPDCs 还可成为脂肪细胞。激活的心外膜还促进炎症细胞(中性粒细胞或自然杀伤细胞、T 调节细胞或调节性 T 细胞、巨噬细胞)的募集,并通过趋化因子的分泌稳定冠状血管。心外膜也可促进心肌细胞的存活和/或细胞生长<sup>[23]</sup>。

### 3.2 心外膜再激活

心肌损伤后胎儿心外膜基因的激活被认为是一种保守的心脏修复机制。Wt1、Tbx18、RALDH1 和 RALDH2 转录产物在小鼠心肌梗死后 1 d 和 5 d 内上调,尤其是在瓣膜和心房周围,在损伤后 2~4 周表达减弱<sup>[24]</sup>。在成年小鼠和犬模型中都有记载,胎儿心外膜基因诱导与增殖增加和明显的心外膜增厚相关<sup>[25]</sup>。与胎儿心外膜不同,成人心外膜会经历 EMT 并产生心脏成纤维细胞和血管壁细胞,谱系追踪实验表明,心外膜对新生成纤维细胞或侧支形成的贡献最小。相比之下,认为成人心外膜更可用作再生潜能有限的旁分泌信号的来源<sup>[26]</sup>。因此,一个新兴的研究领域包括开发利用心外膜源性发展计划(EpCar 拨号衍生的开发程序)来促进成年心脏的修复和再生的方法正在诞生<sup>[10]</sup>。

### 3.3 心外膜调节炎症

急性炎症是一种清除死亡细胞组织的代偿性反应,然而,慢性炎症可增加细胞死亡、纤维化形成和心功能不全障碍。最近的报告表明,细胞和旁分泌的炎症过程,部分由重新激活的心外膜协调<sup>[27]</sup>。在健康心外膜中可观察到具有修复特性的常驻心脏巨噬细胞(M2 巨噬细胞),但在衰老相关心脏功能障碍模型中其明显耗尽<sup>[28]</sup>。Wt1b 是一种早期的心外膜反应基因,与斑马鱼中的再生巨噬细胞的表达重叠,提示了在心脏发育过程中心脏巨噬细胞募集时心外膜的需求。Hippo 信号通路下游作用因子 Yes 相关蛋白/含 PDZ 结合基序的转录共激活因子在心肌梗死后加重心脏炎症,这是由于免疫抑制调节性 T 细胞的有限募集和来自成年小鼠心外膜的炎性细胞因子  $\gamma$  干扰素的分泌减少所致。在小鼠缺血再灌注损伤后腺病毒介导的 CCAAT/增强蛋白结合蛋白增强 Wt1 和 RALDH2 的激活,推测其是通过减少急性中性粒细胞浸润来减弱心脏损伤和纤维化<sup>[29]</sup>。

### 3.4 心外膜在心脏再生中的应用

心外膜不仅可通过分化为成纤维细胞、血管壁细胞和内皮细胞等以促进心脏再生,而且可通过分泌成纤维细胞生长因子等有丝分裂原的混合物来促进心肌细胞的增殖和胚胎心脏的生长。心脏再生发生在斑马鱼和出生后早期哺乳动物心脏的许多刺激中,包括根

尖切除术、新生儿心肌梗死、冷冻消融或靶向消融。心外膜通过领导双核心外膜细胞的迁移而主动再生,创口闭合,并有助于血管周细胞(平滑肌和成纤维细胞)的形成。心外膜源性成纤维细胞已获得肌成纤维细胞表型(肌成纤维细胞和细胞外基质),这在瘢痕消退阶段可能是可逆的。心外膜通过分泌有丝分裂原促进巨噬细胞募集、血管新生以及心肌细胞周期再入<sup>[30]</sup>。

目前,通过增强内源性心脏修复祖细胞的分离、扩增和移植源自骨髓和心脏的细胞已取得了有限的成功。来源于成年人右心耳组织的原代心外膜细胞在体外培养早期即自发经历了 EMT 转变并获得成纤维细胞性质,用腺病毒载体将转录因子心肌蛋白、转化生长因子- $\beta$ 1 或骨形态发生蛋白质 2 导入 EPDCs 时,这些细胞可分化为平滑肌细胞<sup>[31]</sup>。人类诱导多能性干细胞技术的最新进展已证明了通过调节骨形态发生因子、Wnt/ $\beta$ -Catenin 信号通路、成纤维细胞生长因子和视黄酸信号传导途径将多能细胞分化为心外膜细胞及其衍生物的可行性。将人胚胎干细胞源性心外膜细胞与心肌细胞共培养,可促进心脏组织收缩力和心肌细胞的成熟<sup>[32]</sup>。此外,将人胚胎干细胞源性心外膜细胞和心肌细胞共同移植到梗死大鼠心脏中,可增强移植效果,同时改善收缩功能,并增加了与心肌细胞单独的血运重建,朝着治疗实践迈进了一大步<sup>[32]</sup>。各种心脏疾病模型以评估心外膜激活的最新进展表明,通过促进心外膜和内皮细胞或心肌细胞之间的相互作用,心脏再生得到增强<sup>[33-35]</sup>。心外膜人卵泡抑素样蛋白 1 的丢失是一种对损伤的适应性反应,恢复其水平将是逆转心肌梗死后心肌死亡和重构的有效方法<sup>[36]</sup>。故上游生长因子信号可用于增强体外心外膜细胞的扩增或用于临床实践的新型治疗策略的产生。然而,若供体不是自体的受体,细胞移植会受到免疫排斥的阻碍<sup>[37]</sup>。目前,关于心外膜细胞异质性的重大问题仍存在,这可能会使利用心外膜进行心脏修复的策略复杂化。因此,需对心外膜的属性进行全面的分析评估,包括心外膜细胞的来源与分型、心外膜应对不同损伤或环境的反应、心外膜与心肌细胞间的联系、心脏再生中心外膜的变化以及不同种属之间心外膜行为的异同以加强对心外膜细胞对正常发育、先天性心脏病和心力衰竭贡献的了解,为利用心外膜的再生潜力进行心脏修复提供新策略。随着单细胞转录组学技术的发展,可能对这个问题的提供思路。利用高通量单细胞 RNA 测序平台(RNA-seq 或 scRNA-seq)对心外膜进行转录分析,可识别出对心脏损伤反应起作用的基因和通路。

## 4 展望

心脏病是人类健康的主要杀手之一,因而心肌再

生和修复具有广泛且重要的临床应用价值。心外膜在心脏发育中的重要地位提示其作为潜在治疗手段的优越性。本文讨论了通过心外膜的细胞自主和非自主功能调节心脏生长和组织修复的基因程序,广泛地分析描述了心外膜分泌的因素,包括转录因子和信号通路的研究,以及炎症因子的调制,这可能会加强心外膜介导的心脏修复。此外,治疗策略的发展,以成纤维细胞和脂肪细胞的分化为代价将 EPDCs 重新定向到增殖细胞类型的策略,可补充目前主要基于干细胞和诱导多能细胞递送的再生医学方法。

### 参考文献

- [1] Benjamin EJ, Muntner P, Alonso A, et al. Heart disease and stroke statistics-2019 update: a report from the American Heart Association [J]. *Circulation*, 2019, 139(10): e56-e528.
- [2] Burchfield JS, Xie M, Hill JA. Pathological ventricular remodeling; mechanisms: part 1 of 2 [J]. *Circulation*, 2013, 128(4): 388-400.
- [3] Heallen TR, Kadow ZA, Kim JH, et al. Stimulating cardiogenesis as a treatment for heart failure [J]. *Circ Res*, 2019, 124(11): 1647-1657.
- [4] Vagnozzi RJ, Molkentin JD, Houser SR. New myocyte formation in the adult heart: endogenous sources and therapeutic implications [J]. *Circ Res*, 2018, 123(2): 159-176.
- [5] Forte E, Furtado MB, Rosenthal N. The interstitium in cardiac repair: role of the immune-stromal cell interplay [J]. *Nat Rev Cardiol*, 2018, 15(10): 601-616.
- [6] Cao J, Poss KD. The epicardium as a hub for heart regeneration [J]. *Nat Rev Cardiol*, 2018, 15(10): 631-647.
- [7] González-Rosa JM, Martín V, Peralta M, et al. Extensive scar formation and regression during heart regeneration after cryoinjury in zebrafish [J]. *Development*, 2011, 138(9): 1663-1674.
- [8] Marín-Juez R, Marass M, Gauvrit S, et al. Fast revascularization of the injured area is essential to support zebrafish heart regeneration [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2016, 113(40): 11237-11242.
- [9] Ponnusamy M, Liu F, Zhang YH, et al. Long noncoding RNA CPR (Cardiomyocyte Proliferation Regulator) regulates cardiomyocyte proliferation and cardiac repair [J]. *Circulation*, 2019, 139(23): 2668-2684.
- [10] 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 USA*, 2013, 110(1): 187-192.
- [11] Darehzereshki A, Rubin N, Gamba L, et al. Differential regenerative capacity of neonatal mouse hearts after cryoinjury [J]. *Dev Biol*, 2015, 399(1): 91-99.
- [12] Patterson M, Barske L, Handel BV, et al. Frequency of mononuclear diploid cardiomyocytes underlies natural variation in heart regeneration [J]. *Nat Genet*, 2017, 49(9): 1346-1353.
- [13] Leone M, Engel FB. Pseudo-bipolar spindle formation and cell division in postnatal binucleated cardiomyocytes [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2019, 134: 69-73.
- [14] Chablais F, Veit J, Rainer G, et al. The zebrafish heart regenerates after cryoinjury induced myocardial infarction [J]. *BMC Dev Biol*, 2011, 11: 21.
- [15] Kikuchi K, Holdway JE, Werdich AA, et al. Primary contribution to zebrafish heart regeneration by gata4(+) cardiomyocytes [J]. *Nature*, 2010, 464(7288): 601-605.
- [16] Huang GN, Thatcher JE, McAnally J, et al. C/EBP transcription factors mediate epicardial activation during heart development and injury [J]. *Science*, 2012, 338(6114): 1599-1603.
- [17] Xu XY, Hu JP, Wu MM, et al. CCAAT/enhancer-binding protein CEBP-2 controls fat consumption and fatty acid desaturation in *Caenorhabditis elegans* [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2015, 468(1-2): 312-318.
- [18] Vieira JM, Howard S, Villa Del Campo C, et al. BRG1-SWI/SNF-dependent regulation of the Wt1 transcriptional landscape mediates epicardial activity during heart development and disease [J]. *Nat Commun*, 2017, 8: 16034.
- [19] González-Rosa JM, Burns CE, Burns CG. Zebrafish heart regeneration: 15 years of discoveries [J]. *Regeneration (Oxf)*, 2017, 4(3): 105-123.
- [20] Smart N, Risebro CA, Melville AA, et al. Thymosin beta-4 is essential for coronary vessel development and promotes neovascularization via adult epicardium [J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2007, 1112: 171-88.
- [21] Zhou B, Pu WT. Isolation and characterization of embryonic and adult epicardium and epicardium-derived cells [J]. *Methods Mol Biol*, 2012, 843: 155-168.
- [22] Zhou B, Pu WT. Genetic Cre-loxP assessment of epicardial cell fate using Wt1-driven Cre alleles [J]. *Circ Res*, 2012, 111(11): e276-e280.
- [23] Yan Y, Qin Q, Wu L, et al. Insulin-like growth factor 1 receptor signaling regulates embryonic epicardial cell proliferation through focal adhesion kinase pathway [J]. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)*, 2018, 50(10): 976-983.
- [24] Zhou B, Honor LB, He H, et al. Adult mouse epicardium modulates myocardial injury by secreting paracrine factors [J]. *J Clin Invest*, 2011, 121(5): 1894-1904.
- [25] Smart N, Risebro CA, Melville AA, et al. Thymosin beta4 induces adult epicardial progenitor mobilization and neovascularization [J]. *Nature*, 2007, 445(7124): 177-182.
- [26] Duffey OJ, Smart N. Approaches to augment vascularisation and regeneration of the adult heart via the reactivated epicardium [J]. *Glob Cardiol Sci Pract*, 2016, 2016(4): e201628.
- [27] Velecela V, Lettice LA, Chau YY, et al. WTI regulates the expression of inhibitory chemokines during heart development [J]. *Hum Mol Genet*, 2013, 22(25): 5083-5095.
- [28] Deniset JF, Belke D, Lee WY, et al. Gata6<sup>+</sup> pericardial cavity macrophages relocate to the injured heart and prevent cardiac fibrosis [J]. *Immunity*, 2019, 51(1): 131-140. e5.
- [29] Liu J, Wang H, Li J. Inflammation and inflammatory cells in myocardial infarction and reperfusion injury: a double-edged sword [J]. *Clin Med Insights Cardiol*, 2016, 10: 79-84.
- [30] Stevens SM, von Gise A, VanDusen N, et al. Epicardium is required for cardiac seeding by yolk sac macrophages, precursors of resident macrophages of the adult heart [J]. *Dev Biol*, 2016, 413(2): 153-159.
- [31] van Tuyn J, Atsma DE, Winter EM, et al. Epicardial cells of human adults can undergo an epithelial-to-mesenchymal transition and obtain characteristics of smooth muscle cells in vitro [J]. *Stem Cells*, 2007, 25(2): 271-278.
- [32] Bargehr J, Ong LP, Colzani M, et al. Epicardial cells derived from human embryonic stem cells augment cardiomyocyte-driven heart regeneration [J]. *Nat Biotechnol*, 2019, 37(8): 895-906.
- [33] Moerkamp AT, Lodder K, van Herwaarden T, et al. Human fetal and adult epicardial-derived cells: a novel model to study their activation [J]. *Stem Cell Res Ther*, 2016, 7(1): 174.
- [34] Cao J, Poss KD. Explant culture of adult zebrafish hearts for epicardial regeneration studies [J]. *Nat Protoc*, 2016, 11(5): 872-881.
- [35] Zangi L, Lui KO, von Gise A, et al. Modified mRNA directs the fate of heart progenitor cells and induces vascular regeneration after myocardial infarction [J]. *Nat Biotechnol*, 2013, 31(10): 898-907.
- [36] Wei K, Serpooshan V, Hurtado C, et al. Epicardial FSTL1 reconstitution regenerates the adult mammalian heart [J]. *Nature*, 2015, 525(7570): 479-485.
- [37] Sanz-Morejón A, García-Redondo AB, Reuter H, et al. Wilms tumor 1b expression defines a pro-regenerative macrophage subtype and is required for organ regeneration in the zebrafish [J]. *Cell Rep*, 2019, 28(5): 1296-1306. e6.

收稿日期: 2020-10-20