

心脏发育关键转录因子与心肌细胞直接重编程的研究进展

曾庆跃 徐娇 施奕 牟铎雨 李双庆

(四川大学华西医院全科医学科, 四川 成都 610041)

【摘要】 由于心肌细胞几乎没有再生能力,所以在心肌细胞受损后,只能通过活化的成纤维细胞形成瘢痕组织去修补心脏。但这种修复无法恢复心脏功能。目前在心肌细胞再生研究方面有了长足的进步,从一种体细胞类型(如成纤维细胞)直接转换为心肌细胞的方法即心肌细胞直接重编程,就是一种新的可以治疗及再生受损心肌细胞的方案。在心肌细胞直接重编程中,许多心脏发育关键转录因子是各种编程方案的基石。现主要介绍心脏发育关键转录因子与心肌细胞直接重编程。

【关键词】 心肌细胞直接重编程;转录因子;心脏发育;心脏再生

【DOI】 10.16806/j.cnki.issn.1004-3934.2023.10.016

Transcription Factor for Cardiac Development and Direct Cardiomyocyte Reprogramming

ZENG Qingyue, XU Jiao, SHI Yi, MOU Xingyu, LI Shuangqing

(Division of General Practice, West China Hospital of Sichuan University, Chengdu 610041, Sichuan, China)

【Abstract】 After cardiomyocytes damaged, cardiomyocytes have little regenerative capacity, The heart can only be repaired by activated fibroblasts to form scar tissue, but this repair cannot restore cardiac function. There have been great advances in myocardial regeneration research, and the direct conversion from a somatic cell type (e. g., fibroblasts) to cardiomyocytes is known as direct cardiomyocyte reprogramming, a new protocol that can treat and regenerate damaged cardiomyocytes. Many transcription factors critical for cardiac development are the cornerstones of various direct cardiac reprogramming schemes. Therefore, this review mainly introduces the key transcription factors in the process of cardiac development and direct cardiac reprogramming.

【Key words】 Direct cardiomyocyte reprogramming; Transcription factor; Cardiac development; Cardiac regeneration

在世界范围,心脏疾病是主要的致死原因。许多类型的心脏疾病,例如心肌梗死、压力负荷性心肌病等,导致了不可逆转的心肌细胞死亡。在心肌细胞直接重编程中,许多心脏发育关键转录因子是各种编程方案的基石。目前许多组合被用于心肌细胞直接重编程。希望通过以阐述心脏发育关键转录因子内容为基础,从而更好地明白直接重编程的方案构成,甚至进一步创造新型的、更高效的编程方案,最终实现心脏再生,逆转心力衰竭。

1 心脏发育关键转录因子

在心脏的发育过程中,不同的信号通路及基因调控网络参与其中,从而形成了复杂的心脏结构。在心脏发育的早期阶段,心脏多能祖细胞来源于心脏中胚层。转录因子 *Mesp1* 是这些心脏祖细胞最早的标志^[1],这些心脏祖细胞在不同的时间点形成两个心脏祖细胞区域,称为第一心区和第二心区。第一心区的

心脏祖细胞向前侧迁移构成心脏新月体,并分化形成左心室、部分室间隔、部分心房及小部分的右心室;第二心区形成了大部分的右心室、流入和流出道及部分心房^[2]。值得注意的是,在第二心区的一部分区域(被命名为前心区),这里以有转录因子 *Mef2c* 活跃表达作为标志的心脏祖细胞,通过表达 N-钙黏蛋白与经典的 Wnt 信号通路相互作用^[3],这部分心脏祖细胞具有多向分化潜能。第一心区和第二心区具有许多不同但又相互重叠的转录因子表达谱。二者共同表达了转录因子 *Nkx2.5* 和 *Gata*,第一心区额外表达了 *Tbx5* 等转录因子,而第二心区额外表达了 *Mef2c* 和 *Isl1* 等转录因子^[4]。其实,上述转录因子在其他细胞中也有表达,如转录因子 *Isl1* 也在早期的心脏祖细胞中有所表达。所以,并不是单一的转录因子决定了细胞的分化,而是不同的转录因子组合决定了细胞的分化命运。在心脏的发育过程中,许多转录因子至关

重要。

Mef2 是 MADS-box 转录因子家族的一员。在脊椎动物中 Mef2 家族有 4 个成员,分别为:Mef2a、Mef2b、Mef2c、Mef2d。Mef2b 和 Mef2c 是首先表达的 Mef2 亚型,出现在心脏中胚层时期;Mef2a 和 Mef2d 在线性心血管时期表达。其中 Mef2c 对于心肌收缩蛋白基因表达及第二心区的正常形成至关重要。在 Mef2c 无效突变纯合子小鼠中,心肌收缩的相关蛋白没有形成,心管及右心室结构也不完整^[4]。

Hand1 和 Hand2 是螺旋-环-螺旋结构的转录因子。Hand2 在流出道、心外膜、心瓣膜祖细胞、右心室的大部分区域表达;然而 Hand1 在大部分的左心室区域表达。去除 Hand2 会导致右心室严重发育不全^[5]。实际上,右心室区域的 Mef2c 缺失突变与 Hand2 表达的下调有相关性,所以 Hand2 与许多参与心脏发育基因的非编码区有广泛的交互作用。

Gata4 在心脏祖细胞、心肌细胞、心内膜细胞、心外膜细胞都有所表达。它对于心肌细胞的分裂、心内膜垫的形成、右心室的发育及流出道分割具有重要的作用^[6]。Gata4 在心脏的表现遗传方面也具有调节作用。Gata4 结合并促进 H3k27ac 的沉积进而活化了心脏发育的相关基因^[7]。

Isl1 是具有 LIM 结构域的转录因子。Isl1 能够作为第二心区心脏祖细胞的标志^[8]。在右心室、流出道、房间隔、窦房结、房室结等处也可见 Isl1 的表达。表达 Isl1 的心脏祖细胞具有分化为心肌细胞、内皮细胞、平滑肌细胞的多分化潜能。通过目前的基因组学的研究发现,Isl1 的下游调控分子包括一些重要转录因子:Mef2、Hand2、Gata4 等;但有关 Isl1 的上游调控分子还是不清楚,可能的分子是 Nkx2.5 等^[9]。

Tbx5 属于 T-box 家族的转录因子。Tbx5 被发现表达在左心室的心肌细胞中,而对于第二心区来说,Tbx5 在第二心区的后面部分细胞(发育为心房)中有所表达^[10]。在 2009 年 Takeuchi 等^[11]通过 Gata4、Baf60c 和 Tbx5 的异位表达,实现了转化小鼠中胚层细胞为能收缩的心肌细胞,他们提到在中胚层 Tbx5 抑制非心肌基因(例如成纤维细胞相关基因)表达从而促进中胚层细胞向心肌细胞分化。

Nkx2.5 属于 homeobox 转录因子家族。Nkx2.5 被发现表达在心脏新月体阶段,具有管理心肌细胞分化的作用。Nkx2.5 被敲除后,小鼠胚胎死于严重的心脏发育不全^[12]。相较于第一心区,Nkx2.5 在第二心区的心肌祖细胞中表达水平更低;同时,Nkx2.5 表达水平的不同及与其他转录因子的不同组合可能会导致不同的结果。在第二心区的心肌祖细胞中,Nkx2.5

连同转录因子 Foxh1 能够促进分裂增殖和激活成纤维细胞生长因子-10、Mef2c 的表达;然而在第二心区,Nkx2.5 抑制成纤维细胞生长因子-10 和 Isl1 的表达从而促进诱导心肌细胞(induced cardiomyocytes, iCMs)的分化^[13]。

Mesp1 是具有螺旋-环-螺旋结构的转录因子。低剂量的 Nodal/Smad2/3 诱导了 T-box 转录因子 Eomes 的表达进而激活了 Mesp1 在原肠胚时期的心脏中胚层的表达^[14]。表达 Mesp1 的心肌细胞从原条迁徙出来,然后进入心脏区域,最后形成了线性心管。Mesp1 作为调节心脏祖细胞分化的关键转录因子,激活了许多促进心肌发育的重要基因,同时也抑制了中胚层、外胚层细胞的一部分基因,从而实现了细胞分化命运的调节^[1]。

在表 1 中对相关转录因子及主要表达区域进行了简要总结。

表 1 转录因子及主要表达区域

转录因子	主要表达区域
Mef2	线性心管、右心室
Hand1	左心室
Hand2	流出道、心外膜、心瓣膜祖细胞、右心室
Gata4	心内膜垫、右心室
Isl1	右心室、流出道、房间隔、窦房结、房室结
Tbx5	左心室
Nkx2.5	第一心区
Mesp1	心脏中胚层

2 心肌细胞直接重编程

直接重编程,也称为转分化,允许从一种体细胞类型直接转换为另一种体细胞类型,而不需要经过中间的多能状态^[15]。通过直接重编程细胞的方法,可以避免肿瘤形成等相关风险^[16]。近年来,通过过度表达转录因子、miRNA 或运用小分子化学物质,已经实现了心肌细胞的直接重编程^[17]。对于这方面的内容主要从心肌细胞直接重编程方案、培养条件、转运媒介这三方面进行综述。

2.1 心肌细胞直接重编程方案

2.1.1 转录因子对重编程方案的优化

转录因子诱导是第一种心肌细胞直接重编程方法。重编程成纤维细胞形成 iCMs 至少需要 3 个转录因子 Gata4、Mef2c、Tbx5 (GMT)^[18]。但是仅仅利用 GMT 直接将成纤维细胞转化为 iCMs,转化率为 0.01%~0.10%,为了提升转化率需要不断地完善转录因子的组合,同时也需要对转录因子的先后顺序及浓度(化学计量学)进行探索。

Tang 等^[19]通过在人类 iCMs 和功能性心肌细胞之间进行转录组学比较,发现了人类心肌细胞直接重编程的潜在缺失因子 Tbx20。Tbx20 与 GMT 协同作用于

心脏收缩相关的基因增强子上,促进染色质结合,更显著地激活了靶基因的转录。由 GMT + Tbx20 产生的 iCMs 表现出更频繁的搏动、钙振荡和更高的能量代谢。Wang 等^[20]测试 GMT 不同的浓度与顺序,发现 Mef2c 最先表达且浓度最高时,转化率最高。其中的机制是 Mef2c 充当了后续转录因子“领头羊”的角色, Mef2c 结合到基因组,形成后续转录因子的募集位点,这个转录因子集合体通过重塑染色体结构,激活了之前封闭的心肌发育相关基因区域^[21],同时沉默了成纤维细胞活跃的增强子区域。这证明了 GMT 化学计量优化对于重编程的重要作用。

2.1.2 miRNA 对重编程方案的优化

miRNA 具有更广泛的表观遗传靶点,包括转录因子和细胞信号通路。心肌细胞高表达的几种 miRNA,如 miRNA-1、miRNA-133a、miRNA-208a 和 miRNA-499^[22],在心脏发育期间,它们主要在基因翻译过程中起作用。miRNA 和转录因子的主要机制有所差异。转录因子与基因结合并激活。相反,miRNA 是抑制剂,这些 miRNA 靶向附着在 mRNA 的 3'-非翻译区,抑制其翻译过程^[23]。Baksh 等^[24]使用 miRNA 组合(miRNA-1, miRNA-133a, miRNA-208a 和 miRNA-499)将猪、狗和人的心脏成纤维细胞直接重编程为心肌细胞,这一发现很有意义,因为验证了 miRNA 组合也是人类心肌损伤后心肌再生的一种潜在治疗方式,同时也证明了在重编程中成纤维细胞积极抑制心肌细胞基因表达。

同时联合转录因子及 miRNA 也构成了新的重编程方案。在最新的重编程方案中,使用 GMT 组合及 miRNA-133a,在人体成纤维细胞中进行重编程^[25]。最终,iCMs 可在转导后的两周内以 40% ~ 60% 的效率获得并呈现出心肌细胞特征。

2.1.3 小分子化合物对重编程方案的优化

虽然转录因子和 miRNA 的应用取得了显著的成功,但在安全、效率和技术方面仍旧存在缺陷^[26]。

最近,研究人员使用小分子化合物重新编程心肌细胞,这便可以减少基因相关操作。这些化合物调节表观遗传酶、信号通路、代谢和转录。仅用转录因子 Oct4 和化合物便能促进小鼠成纤维细胞转化为心肌细胞^[27];其他研究人员在没有任何转录因子的情况下,仅使用小分子化合物 CHIR99021、RepSox、Forskolin、VPA、Parnate、TTNPB 和 DZnep,成功地将小鼠胚胎和人类成纤维细胞转化为了心肌细胞,这些 iCMs 表达所有心肌细胞特异性标志物,同时具有典型的肌节结构、电生理活性及钙振荡活性^[28]。

2.2 培养条件

与体内相似的微环境特性,如细胞因子、机械生

物学等,都可以影响细胞的分化命运。

2.2.1 细胞因子

培养条件极大地影响重编程效率。在过去的十年中,许多细胞因子(转化生长因子- β 和 Rho 关联含卷曲螺旋蛋白激酶)^[29]、信号通路(Akt1 和 Notch)^[30]和生长因子(成纤维细胞生长因子-2、成纤维细胞生长因子-10 和血管内皮生长因子)已被报道可提高重编程效率。最近的证据表明,环磷酸腺苷在心肌细胞直接重编程中具有重要作用。抑制 cAMP/PKA/CREB 通路可以保持成纤维细胞的可塑性,使 iCMs 的效率提高 1.46 倍^[31]。

2.2.2 机械生物学

在心肌细胞直接重编程的机械生物学方面,最近的一项研究^[32]发现,介质刚性可通过 YAP/TAZ 信号通路作为机械转导调控因子影响重编程结果。低介质刚性的培养系统(约 8 kPa)通过抑制 YAP/TAZ 信号通路,将重编程效率提高 15%^[32]。这一发现可能会显著影响心肌细胞直接重编程的研究,因为大多数离体研究都是在高介质刚性的硬质聚苯乙烯盘中进行的^[33]。

另一项研究^[34]开发了一种模拟心肌细胞电刺激的培养系统。该系统由纳米多孔的薄膜构成。研究人员使用 Gata4、Mef2c、Tbx5、Hand2 和 Nkx2.5 转录因子组合进行重编程,转染后的成纤维细胞被放置于膜上,接受与内源性心脏电活动相似的,频率为 5 Hz、电压为 1 V 持续 5 ms 的双向电刺激。随后,膜被放入心肌细胞培养物上,保持电刺激。相比于普通培养系统,该系统产生了更多的心肌细胞。

新兴的研究探索了三维微环境对重编程效率的影响。在 2016 年,Li 等^[35]开发了三维水凝胶环境进行重编程,与对照组相比,重编程效率增强 20 倍。作者认为,在 3D 培养基中,基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMP)-2、MMP-3 和 MMP-8 的上调参与了成纤维细胞预处理过程,并提高了重编程效率。在最新研究中,Paoletti 等^[36]通过培养成人心脏成纤维细胞 21 d 后,继续于 3D 生物基质包被的水凝胶中培养,成功开发了用于心肌细胞直接重编程的 3D 生物基质。心肌相关基因(TNNT2、MYL7、SCN5A、ACTC1 和 CACNA1C)的整体表达在 3D 生物基质包被水凝胶中很高,分别在 50% 和 32% 的重编程细胞中观察到心肌肌钙蛋白 T 阳性和钙振荡。这些结果表明,三维微环境提高了直接重编程的转化率。

因此,培养微环境不仅可以影响成纤维细胞到心肌细胞的分化数量,还可以影响其分化质量。

2.3 转运媒介

目前的重编程方法仅限于病毒转导,这种方法含

有基因整合所致的过度表达的风险,这会导致肿瘤的形成。囊泡、纳米粒子等转运方案可能替代病毒转导的方法。

在最近的一项研究中, Kim 等^[37]将两种小分子与来源于正在进行心脏分化的胚胎干细胞的囊泡结合进行重编程。与传统病毒和小分子方法相比,将两个小分子(CHIR99021 和 SB431542)和生长因子(碱性成纤维细胞生长因子和成纤维细胞生长因子-10)与细胞外囊泡合并,效率提高了 3 倍,功能提高了 7 倍。因此,小分子与细胞外囊泡的结合在提高转化率方面具有重要的潜力。

Chang 等^[38]使用聚乙烯亚胺共轭的阳离子金纳米粒子作为 GMT 的载体,成功地实现了 iCMs 的形成,提升了编程效率及受损心肌的修复面积,减轻了心肌的瘢痕程度。该方法减低了细胞毒性及 DNA 整合风险。Wang 等^[39]用 FH-肽修饰的中性粒细胞模拟膜去覆盖介孔二氧化硅纳米粒子,作为 miRNA 组合(miRNA-1、miRNA-133a、miRNA-208a 和 miRNA-499)的载体进行重编程。利用中性粒细胞膜的炎症归巢特性和 FH-肽对于心肌成纤维细胞产生的腱糖蛋白-C 的高度亲和性,实现对受损心脏的成纤维细胞进行靶向的编程分子导入。安全、靶向地实现了重编程,提升了心脏功能且减少了瘢痕组织的形成。

3 小结

本篇综述基于心脏发育中一些关键转录因子作为基础来讲述心肌细胞直接重编程。从重编程的发展中,笔者明白不是单一的转录因子充当了转分化的“开关”,而是相互协同的分子网络实现了直接重编程。

在心肌细胞直接重编程被认为是一种可行的治疗策略之前,目前还有许多障碍和困难需要克服。(1)心肌细胞直接重编程效率低是一个严重的问题。与诱导多能干细胞相比,经历过重编程的成纤维细胞迅速失去了增殖能力,因此,高效率是至关重要的。同时,iCMs 转换的速度和质量必须足够。据估计,50%的成纤维细胞必须在转导后 5~10 d 内重新编程为功能性心肌细胞,才能在临床上改善心肌梗死的状况。(2)重编程的机制仍旧不清楚。清晰的细胞重编程机制对于提高转化效率至关重要,许多正在进行的研究正试图阐明人类和动物模型中细胞重编程的确切分子机制。至少在表观遗传水平上,人类和动物模型的不同机制可能与转录因子化学计量学有关,然而,进一步的机制,如表观遗传模式、细胞内信号及细胞外方面,仍然不清楚^[40]。(3)iCMs 的不成熟及异质性。许多研究观察到 iCMs 的收缩力、电生理及肌节结

构的不同,说明每个 iCMs 的成熟度水平不同。不同电生理性质的 iCMs 可诱发心律失常的危险^[41]。(4)研究范围相对局限。目前的研究大多集中在转录调控上,然而,转录水平与具体蛋白质形成之间还存在许多不同。在心肌细胞直接重编程过程中,蛋白质翻译的调控、转录后和翻译后修饰以及蛋白质稳定性的动力学的研究却很少。蛋白质组学的最新进展已经开始描述心肌细胞直接重编程早期阶段的蛋白质变化特征^[42]。

除了基础研究外,还应在动物模型中,特别是利用猪和非人灵长类动物等大型动物,对给药方法、安全问题和长期效应进行优化和仔细监测。虽然有许多挑战摆在面前,但进行心肌细胞直接重编程的机会和潜在好处是巨大的。随着技术的快速发展和对心肌细胞直接重编程基础生物学的理解,笔者相信这项技术将会比预期更快地用于临床,使心脏疾病患者受益。

参考文献

- [1] Lin X, Swedlund B, Ton MN, et al. Mesp1 controls the chromatin and enhancer landscapes essential for spatiotemporal patterning of early cardiovascular progenitors[J]. *Nat Cell Biol*, 2022, 24(7): 1114-1128.
- [2] Shewale B, Dubois N. Of form and function: early cardiac morphogenesis across classical and emerging model systems[J]. *Semin Cell Dev Biol*, 2021, 118: 107-118.
- [3] Zhou X, Li Z, Wang Z, et al. Syncytium calcium signaling and macrophage function in the heart[J]. *Cell Biosci*, 2018, 8: 24.
- [4] Materna SC, Sinha T, Barnes RM, et al. Cardiovascular development and survival require Meis2 function in the myocardial but not the endothelial lineage[J]. *Dev Biol*, 2019, 445(2): 170-177.
- [5] Santos-Ledo A, Washer S, Dhanaseelan T, et al. Alternative splicing of Jnk1a in zebrafish determines first heart field ventricular cardiomyocyte numbers through modulation of Hand2 expression[J]. *PLoS Genet*, 2020, 16(5): e1008782.
- [6] Välimäki MJ, Leigh RS, Kinnunen SM, et al. GATA-targeted compounds modulate cardiac subtype cell differentiation in dual reporter stem cell line[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2021, 12(1): 190.
- [7] Balsalobre A, Drouin J. Pioneer factors as master regulators of the epigenome and cell fate[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2022, 23(7): 449-464.
- [8] Gao R, Liang X, Cheedipudi S, et al. Pioneering function of Isl1 in the epigenetic control of cardiomyocyte cell fate[J]. *Cell Res*, 2019, 29(6): 486-501.
- [9] Jia G, Preussner J, Chen X, et al. Single cell RNA-seq and ATAC-seq analysis of cardiac progenitor cell transition states and lineage settlement[J]. *Nat Commun*, 2018, 9(1): 4877.
- [10] Steinle JD, Moskowitz IP. TBX5: a key regulator of heart development[J]. *Curr Top Dev Biol*, 2017, 122: 195-221.
- [11] Takeuchi JK, Bruneau BG. Directed transdifferentiation of mouse mesoderm to heart tissue by defined factors[J]. *Nature*, 2009, 459(7247): 708-711.
- [12] Drakhlis L, Biswanath S, Farr CM, et al. Human heart-forming organoids recapitulate early heart and foregut development[J]. *Nat Biotechnol*, 2021, 39(6): 737-746.
- [13] Swedlund B, Lescroart F. Cardiopharyngeal progenitor specification: multiple roads to the heart and head muscles[J]. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2020, 12(8): a036731.

- [14] Ajima R, Sakakibara Y, Sakurai-Yamatani N, et al. Formal proof of the requirement of MESP1 and MESP2 in mesoderm specification and their transcriptional control via specific enhancers in mice [J]. *Development*, 2021, 148(20):dev194613.
- [15] Wang H, Yang Y, Liu J, et al. Direct cell reprogramming: approaches, mechanisms and progress [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2021, 22(6):410-424.
- [16] Garry GA, Bassel-Duby R, Olson EN. Direct reprogramming as a route to cardiac repair [J]. *Semin Cell Dev Biol*, 2022, 122:3-13.
- [17] Xie Y, Liu J, Qian L. Direct cardiac reprogramming comes of age: recent advance and remaining challenges [J]. *Semin Cell Dev Biol*, 2022, 122:37-43.
- [18] Isomi M, Sadahiro T, Yamakawa H, et al. Overexpression of Gata4, Mef2c, and Tbx5 generates induced cardiomyocytes via direct reprogramming and rare fusion in the heart [J]. *Circulation*, 2021, 143(21):2123-2125.
- [19] Tang Y, Aryal S, Geng X, et al. Tbx20 improves contractility and mitochondrial function during direct human cardiac reprogramming [J]. *Circulation*, 2022, 146(20):1518-1536.
- [20] Wang L, Liu Z, Yin C, et al. Stoichiometry of Gata4, Mef2c, and Tbx5 influences the efficiency and quality of induced cardiac myocyte reprogramming [J]. *Circ Res*, 2015, 116(2):237-244.
- [21] Stone NR, Gifford CA, Thomas R, et al. Context-specific transcription factor functions regulate epigenomic and transcriptional dynamics during cardiac reprogramming [J]. *Cell Stem Cell*, 2019, 25(1):87-102. e9.
- [22] Paoletti C, Divieto C, Tarricone G, et al. Microma-mediated direct reprogramming of human adult fibroblasts toward cardiac phenotype [J]. *Front Bioeng Biotechnol*, 2020, 8:529.
- [23] Zhong Z, Hou J, Zhang Q, et al. Circulating microRNA expression profiling and bioinformatics analysis of dysregulated microRNAs of patients with coronary artery disease [J]. *Medicine (Baltimore)*, 2018, 97(27):e11428.
- [24] Baksh SS, Hodgkinson CP. Conservation of miR combo based direct cardiac reprogramming [J]. *Biochem Biophys Rep*, 2022, 31:101310.
- [25] Garbutt TA, Zhou Y, Keepers B, et al. An optimized protocol for human direct cardiac reprogramming [J]. *STAR Protoc*, 2020, 1(1):100010.
- [26] Jiang L, Liang J, Huang W, et al. Strategies and challenges to improve cellular programming-based approaches for heart regeneration therapy [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(20):7662.
- [27] Wang H, Cao N, Spencer CI, et al. Small molecules enable cardiac reprogramming of mouse fibroblasts with a single factor, Oct4 [J]. *Cell Rep*, 2014, 6(5):951-960.
- [28] Werner JH, Rosenberg Jh, UM JY, et al. Molecular discoveries and treatment strategies by direct reprogramming in cardiac regeneration [J]. *Transl Res*, 2019, 203:73-87.
- [29] Yamakawa H, Ieda M. Cardiac regeneration by direct reprogramming in this decade and beyond [J]. *Inflamm Regen*, 2021, 41(1):20.
- [30] Abad M, Hashimoto H, Zhou H, et al. Notch inhibition enhances cardiac reprogramming by increasing Mef2C transcriptional activity [J]. *Stem Cell Reports*, 2017, 8(3):548-560.
- [31] Bektik E, Sun Y, Dennis AT, et al. Inhibition of CREB-CBP signaling improves fibroblast plasticity for direct cardiac reprogramming [J]. *Cells*, 2021, 10(7):1572.
- [32] Kurotsu S, Sadahiro T, Fujita R, et al. Soft matrix promotes cardiac reprogramming via inhibition of YAP/TAZ and suppression of fibroblast signatures [J]. *Stem Cell Reports*, 2020, 15(3):612-628.
- [33] Herum KM, Choppe J, Kumar A, et al. Mechanical regulation of cardiac fibroblast profibrotic phenotypes [J]. *Mol Biol Cell*, 2017, 28(14):1871-1882.
- [34] Song SY, Yoo J, Go S, et al. Cardiac-mimetic cell-culture system for direct cardiac reprogramming [J]. *Theranostics*, 2019, 9(23):6734-6744.
- [35] Li Y, Dal-Pra S, Mirosou M, et al. Tissue-engineered 3-dimensional (3D) microenvironment enhances the direct reprogramming of fibroblasts into cardiomyocytes by microRNAs [J]. *Sci Rep*, 2016, 6:38815.
- [36] Paoletti C, Marcello E, Melis ML, et al. Cardiac tissue-like 3D microenvironment enhances route towards human fibroblast direct reprogramming into induced cardiomyocytes by microRNAs [J]. *Cells*, 2022, 11(5):800.
- [37] Kim H, Song BW, Park SJ, et al. Ultraefficient extracellular vesicle-guided direct reprogramming of fibroblasts into functional cardiomyocytes [J]. *Sci Adv*, 2022, 8(8):eabj6621.
- [38] Chang Y, Lee E, Kim J, et al. Efficient in vivo direct conversion of fibroblasts into cardiomyocytes using a nanoparticle-based gene carrier [J]. *Biomaterials*, 2019, 192:500-509.
- [39] Wang Q, Song Y, Chen J, et al. Direct in vivo reprogramming with non-viral sequential targeting nanoparticles promotes cardiac regeneration [J]. *Biomaterials*, 2021, 276:121028.
- [40] Vaseghi H, Liu J, Qian L. Molecular barriers to direct cardiac reprogramming [J]. *Protein Cell*, 2017, 8(10):724-734.
- [41] Chen Y, Yang Z, Zhao ZA, et al. Direct reprogramming of fibroblasts into cardiomyocytes [J]. *Stem Cell Res Ther*, 2017, 8(1):118.
- [42] Sauls K, Greco TM, Wang L, et al. Initiating events in direct cardiomyocyte reprogramming [J]. *Cell Rep*, 2018, 22(7):1913-1922.

收稿日期:2022-09-16

(上接第 929 页)

- [32] Ban JJ, Ruthenborg RJ, Cho KW, et al. Regulation of obesity and insulin resistance by hypoxia-inducible factors [J]. *Hypoxia (Auckl)*, 2014, 2:171-183.
- [33] Hoong CWS, Chua MWJ. SGLT2 inhibitors as calorie restriction mimetics: insights on longevity pathways and age-related diseases [J]. *Endocrinology*, 2021, 162(8):bqab079.
- [34] Liao HW, Saver JL, Wu YL, et al. Pioglitazone and cardiovascular outcomes in patients with insulin resistance, pre-diabetes and type 2 diabetes: a systematic review and meta-analysis [J]. *BMJ Open*, 2017, 7(1):e013927.
- [35] Zhang Z, Zhang X, Meng L, et al. Pioglitazone inhibits diabetes-induced atrial mitochondrial oxidative stress and improves mitochondrial biogenesis, dynamics, and function through the PPAR- γ /PGC-1 α signaling pathway [J]. *Front Pharmacol*, 2021, 12:658362.
- [36] Zhang Z, Zhang X, Korantzopoulos P, et al. Thiazolidinedione use and atrial fibrillation in diabetic patients: a meta-analysis [J]. *BMC Cardiovasc Disord*, 2017, 17(1):96.
- [37] Liu C, Liu R, Fu H, et al. Pioglitazone attenuates atrial remodeling and vulnerability to atrial fibrillation in alloxan-induced diabetic rabbits [J]. *Cardiovasc Ther*, 2017, 35(5). DOI:10.1111/1755-5922.12284.
- [38] Ploeg MC, Muntz C, Prinzen FW, et al. Piezo1 mechanosensitive ion channel mediates stretch-induced Nppb expression in adult rat cardiac fibroblasts [J]. *Cells*, 2021, 10(7):1745.
- [39] Fernandez-Boyanapalli RF, Frasch SC, Thomas SM, et al. Pioglitazone restores phagocyte mitochondrial oxidants and bactericidal capacity in chronic granulomatous disease [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2015, 135(2):517-527. e12.

收稿日期:2023-01-12