

心脏脱细胞基质水凝胶制备及其对心肌梗死修复的研究进展

张雅楠¹ 许锋^{1,2}

(1. 广西医科大学 再生医学与医用生物资源开发应用协同创新中心 广西再生医学重点实验室, 广西 南宁 530021; 2. 上海交通大学 上海交通大学医学院附属第九人民医院, 上海 200011)

【摘要】 心肌组织通过物理、化学或其他方法进行脱细胞处理后, 制备成的脱细胞基质含有许多细胞外基质成分, 包括蛋白质、胶原、多糖以及生长因子等, 不仅对细胞生长有很好的生物相容性, 而且还能有助于细胞的修复和再生, 是一种很有前途的心血管修复材料。脱细胞基质水凝胶是将脱细胞基质进行凝胶化后, 所形成的一种具有生物相容性、可降解性以及可注射性的生物材料, 不仅保留了脱细胞基质本身的优点, 而且增加了可注射性这一优势, 可在心肌梗死后进行微创注射, 从而对心脏产生修复作用。

【关键词】 脱细胞基质; 可注射水凝胶; 心肌梗死; 心脏修复; 再生医学

【DOI】 10.16806/j.cnki.issn.1004-3934.2023.09.013

Preparation of Cardiac Decellularized Extracellular Matrix Hydrogel and Its Application in Myocardial Infarction Repair

ZHANG Yanan¹, XU Feng^{1,2}

(1. Guangxi Medical University, Collaborative Innovation Center of Regenerative Medicine and Medical Biological Resources Development and Application, Guangxi Key Laboratory of Regenerative Medicine, Nanning 530021 Guangxi, China; 2. Shanghai Jiao Tong University, Shanghai Ninth People's Hospital, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 200011, China)

【Abstract】 After decellularization of myocardial tissue by physical, chemical or other methods, the prepared decellularized extracellular matrix (dECM) contains many extracellular matrix components, including proteins, collagen, polysaccharides and growth factors. It not only has good biocompatibility for cell growth, but also contributes to cell repair and regeneration, which is a promising material for cardiovascular repair. dECM hydrogel is a biocompatible, degradable and injectable biological material formed after gelling the dECM, which not only retains the advantages of the dECM itself but also increases the advantage of injectability, and can be minimally invasive injection after myocardial infarction, thereby having a repair effect on the heart.

【Key words】 Decellularized extracellular matrix; Injectable hydrogel; Myocardial infarction; Cardiac repair; Regenerative medicine

2022 年美国心脏协会发布的统计数据显示, 直到 2019 年心血管疾病仍占美国心脏病死亡人数的 41%^[1]。心肌梗死 (myocardial infarction, MI) 后导致的心力衰竭, 依旧是许多心血管疾病患者的主要死亡原因之一。在 MI 发生后, 炎症细胞浸润缺血的心肌, 随之该缺血部位的心肌被纤维组织取代, 产生严重的心室重塑, 进而发生心律失常和心力衰竭, 从而增加心血管疾病患者的死亡率^[2]。因此有必要开发新的治疗方法来改善 MI 患者的长期预后。

随着再生医学和组织工程的不断发展和成熟, 由于生物材料具有良好的组织相容性和生物活性, 受到研究者们广泛关注。其中, 通过对心脏组织进行脱细胞处理, 去除其细胞成分和抗原后得到的脱细胞基质

(decellularized extracellular matrix, dECM), 有效地保存了心脏组织中的蛋白质、糖胺聚糖、蛋白多糖和其他的基质成分以及细胞外基质的三维结构, 可为受损心肌的修复、再生和重塑提供有利的条件, 成为用于心脏修复和再生的组织工程材料^[3]。

相对于心脏补片等创伤性较强的心肌修复材料, 可注射的水凝胶材料则可通过微创注射的方式直接将材料或细胞成分输送到梗死部位, 具有微创、可定位定量、安全性较强的优点。dECM 水凝胶是指通过对脱细胞后产生的 dECM 进行凝胶化之后形成的胶状大分子生物材料, 相比于 dECM 本身, dECM 水凝胶增加了微创性和可注射性的优点, 可直接作用于受损的心肌组织。现就 dECM 水凝胶的制备及其对心脏修复

再生的作用进行综述。

1 dECM 水凝胶的制备

1.1 脱细胞过程

脱细胞过程,是指在尽量保护细胞外基质的成分、三维空间结构的完整性以及尽量不损失细胞外基质中有利于细胞生存的生长因子的情况下,有效去除组织和器官中的细胞成分,尤其是 DNA、RNA 和一些引起免疫反应的抗原等。目前大部分的脱细胞方法

都集中于采用物理法、化学法和酶法^[4]。物理法主要包括冻融循环、灌注、搅拌、刮除、剪碎等^[5]。化学法是使用酸碱溶液、去污剂、高渗或低渗溶液对组织或器官进行脱细胞处理^[6]。酶法通常会使用一些生物酶,如蛋白酶、核酸酶等,通过破坏细胞与细胞之间的连接,或者破坏细胞与基质之间的连接,从而能高度特异地去除组织或器官中的细胞成分^[7]。详见表 1。

表 1 dECM 的制备方法、原理以及优缺点

方法	原理	优点	缺点
物理法	灌注	用注射器或泵与化学方法相结合	可保留血管网络
	搅拌、浸泡	与化学方法结合使用	使组织充分暴露在液体中
	冻融	反复冻融产生冰晶破坏细胞	ECM 蛋白成分流失少,力学性能保存较好
	压力	高压产生机械力破坏细胞	蛋白和胶原成分保留较好
化学法	酸碱溶液(过氧乙酸等)	溶解蛋白质、细胞膜的生物分子	对核酸成分去除效果彻底
	去污剂(SDS、Triton X-100 等)	溶解细胞膜,使蛋白质和 DNA 分离	SDS 脱细胞彻底, DNA 残留少;Triton X-100 作用较温和,保留胶原、蛋白以及纤维结构
	高渗或低渗溶液	通过渗透压裂解细胞膜	ECM 成分和结构保留较好
酶法	蛋白酶	破坏肽键	细胞毒性作用小
	核酸酶	水解 DNA 和 RNA,破坏核酸序列	去除核酸成分彻底

注:ECM,细胞外基质;SDS,十二烷基磺酸钠;Triton X-100;曲拉通 X-100。

虽然这 3 种方法都有自己本身的优点,但单独使用其中任何一种方法,都难以获得纯化的 dECM,因此需联合使用各种方法以达到脱细胞过程所要求的完全能去除细胞成分和抗原,并最大程度地保留细胞外基质的原始结构、组分以及理化特性的最终目的^[8-9]。

在 2008 年,Ott 等^[10]的实验团队就对大鼠的心脏进行了通过冠状动脉灌注脱细胞,并且成功获得完整的心脏脱细胞支架,开拓了心脏脱细胞的先河。在这项里程碑的实验之后,心脏脱细胞技术在组织工程领域得到了迅速发展。

之后的实验团队在此基础上进行改进,对 SD 大鼠的心脏采用 1% 十二烷基磺酸钠逆行灌注 6 h,1% 曲拉通 X-100 密闭灌注 0.5 h 后用磷酸盐缓冲液进行洗涤,在对心脏连续灌注 4 d 后,获得心脏 dECM^[11]。此方法不仅保存了原本心脏的几何形状以及大部分细胞外基质成分,并且在后续的细胞培养中发现其能正向调节细胞的活性,有利于心肌修复。

除此之外,通过负压吸引的真空辅助装置进行脱细胞,可驱动用于脱细胞试剂的流动,达到对组织和器官的细胞快速洗脱的目的,获得形态结构与原始组织器官更加相似的脱细胞支架^[12-13]。从 SD 大鼠到猪

的心脏脱细胞,一步步地发展改进,现已可获得人类的心脏脱细胞^[14]。

除全心脏脱细胞外,按照使用的具体需求,如果不需要保存完整的心脏脱细胞支架,更加方便的方式是对部分心脏组织进行脱细胞处理,如将心脏进行切片之后进行脱细胞处理,利用化学试剂或者酶进行浸泡搅拌等,从而获得 dECM^[15-20]。虽然可能由于心脏组织来源的不同、解剖位置及大小等的差异^[21],导致这些实验团队使用了并不完全相同的脱细胞方法。但对于心脏进行取材、切除一些脂肪组织和脉管系统、保留心室、将保留的组织切片采用十二烷基磺酸钠和曲拉通 X-100 进行搅拌和浸泡处理等这些步骤,还是相对统一的。

正因如此,应在脱细胞的过程中不断摸索出最佳方式和最佳时间,优化物理法、化学法和酶法脱细胞方法的组合模式,以寻求一套相对标准的心脏组织脱细胞流程。

1.2 基于 dECM 的水凝胶制备

dECM 水凝胶的形成是一个自组装的过程^[15],它主要依赖细胞外基质中的胶原成分,但同时也受到其他的蛋白成分、糖胺聚糖以及蛋白多糖的影响。

dECM 自组装成水凝胶的过程主要包括以下两个部分:将经过脱细胞处理后的 dECM 冷冻干燥成粉末状,并通过酸和酶的作用将其酶解成液体;之后调节 dECM 溶液的温度、酸碱度或者加入一些交联剂从而诱导使其成为稳定的水凝胶^[22]。

在 2009 年, Singelyn 等^[23]首次将 dECM 进行凝胶化,详细测定了 dECM 水凝胶的组分及其含量,证明其保留了 dECM 材料本身的许多优点,并有很好的应用前景。该团队在研究中发现, dECM 溶解后产生的预凝胶溶液具有很强的温度敏感性,在 4 ℃ 时为溶液形式,当温度提高至 37 ℃ 的生理温度条件下,则可形成稳定的 dECM 水凝胶。在临床实践中,可将液态的 dECM 预凝胶通过注射器注射至 MI 部位,生理温度下使其自组装成水凝胶贴附在 MI 部位并进行修复作用。在 2012 年,该团队利用导管注射 dECM 水凝胶到 MI 部位后,显著增加了心肌细胞数量和增强了心脏收缩能力,进一步证明 dECM 水凝胶可用于 MI 治疗^[24]。

虽然 dECM 本身可自组装成水凝胶,但由于脱细胞的程度不同,导致脱细胞后的 dECM 存留的胶原、多糖、蛋白等成分的含量不同,进行凝胶化后,单独的 dECM 水凝胶的力学性能较差,可能机械性能或者黏附性并不能达到研究者想要的效果,所以很多研究者在基于 dECM 水凝胶本身优点的基础上,通过掺入其他材料与其联合使用,形成了 dECM 复合水凝胶,相较于单一组分的 dECM 水凝胶,在很多方面达到了一加一大于二的效果^[25],随着 3D 打印技术的成熟和发展,复合水凝胶可作为 3D 打印的生物墨水使用,也使其具有更加广泛的应用前景。

Curley 等^[26]用藻酸盐联合 dECM 水凝胶进行改进,显示出该复合水凝胶比单一组分的 dECM 水凝胶具有更好的流变学特性、机械性能以及更高的代谢活性。心脏本身具有一定的电生理,在此基础上,掺入还原性氧化石墨烯,制成导电的 dECM 水凝胶,用于改变心脏的微生理系统,二者共同作用产生协同效果,改善了心脏功能^[16],此法使 dECM 水凝胶的导电性更强,更加贴合心脏电生理。

由于 dECM 水凝胶本身可为周围组织提供一定的结构支撑和生物活性,也可用于输送小颗粒和/或细胞,以改善它们在注射部位的保留^[27],如将细胞外囊泡掺入到聚乙二醇-dECM 水凝胶中,在保持 dECM 水凝胶可注射性和生物降解性的同时提高了机械性能,使得细胞外囊泡能更好地保存到体内,解决了单独使用其中任何一个组分的限制,可显著提高治疗效果^[17]。

2 dECM 水凝胶对心脏修复的作用

MI 是一种由于冠状动脉阻塞导致心肌供血不足,

从而使组织缺氧造成心肌细胞死亡和组织坏死的缺血性疾病,心脏坏死的部分会很快被成纤维细胞替代,形成瘢痕组织,导致心室重塑,丧失心肌组织本身的功能并降低收缩性^[28],因此利用 dECM 水凝胶对于 MI 的治疗,很重要的一点就是预防早期心室重塑并尽量修复 MI 后的心肌组织,恢复其本身的功能。

dECM 成分对心脏修复的作用主要表现在以下几个方面:(1)经过脱细胞过程后,保留的机械特性可使 dECM 在心脏连续收缩以及舒张期间能抵抗强度,从而使梗死区域保持稳定;(2)dECM 对细胞外基质中的蛋白成分以及胶原和多糖的保留,可有效调节梗死区域细胞的黏附和分化;(3)dECM 中还保留了心肌内的一些特异性因子,比如血管生成因子,可促进微血管的形成,从而驱动组织的特异性分化^[29],有利于维持 MI 后心脏的稳态^[30-31]。因此,无论是单独使用 dECM 还是与其他细胞或者细胞因子相互结合共同作用,都可通过内源性修复来促进血管的形成,改善和修复受损的心肌。

大量研究明确表明,无论是急性 MI 还是慢性 MI^[32],在梗死之后使用 dECM,可抑制成纤维细胞的活化^[33],减少纤维瘢痕的扩张和防止不良的心室重塑,降低纤维化,增强心脏功能;并且在 MI 部位促进局部血运重建、心肌细胞分化和增殖^[34]。

2.1 单一组分 dECM 水凝胶

为研究胎儿心脏和成人心脏细胞外基质的差别,将脱细胞新生小鼠的心脏 dECM 水凝胶和成年小鼠的 dECM 水凝胶对比,发现来自新生小鼠的 dECM 水凝胶确实对 MI 小鼠有更好的治疗作用,可有效预防 MI 后的广泛心室重塑,并且确定了 ErbB 信号通路是诱导改善的重要组成部分^[34]。

此外,利用电喷雾法制作的 dECM 水凝胶微粒显示出了更好的稳定性,它具有比 dECM 水凝胶本身更加缓慢的大分子释放动力学,不仅保留了 dECM 水凝胶本身对梗死部位的作用效果,也可考虑将其作为 MI 后药物输送后进行缓释的平台^[15]。

直接注射 dECM 水凝胶可利用细胞外基质本身的特性对 MI 进行修复,目前已有临床转化的案例。临床研究^[35]证明,MI 后患者的经心内膜注射使用脱细胞的猪细胞外基质水凝胶——VetriGel,在临床试验中表现出了良好的安全性和可行性,这是 dECM 水凝胶第一次在 MI 后临床上的使用,对于 dECM 水凝胶的临床转化具有重要意义。

单独 dECM 水凝胶的使用,使研究者们看到 dECM 作为一种基础的生物材料,有很强的可塑性和临床转化的潜力,但由于脱细胞效率难以定量控制,

不同批次的 dECM 中残留的细胞因子并不完全相同,作用效果并不十分稳定。

2.2 携干细胞及细胞衍生物的 dECM 水凝胶

随着对 dECM 的不断了解和深入研究,dECM 材料已成为了一种原料,不仅局限于其单独使用,也可作为一种心脏内给药的载体。近几年来,细胞疗法也是再生医学重点关注的一个方向。但由于活细胞本身较为脆弱,将其直接注射至 MI 部位后可能会造成细胞污染、移植寿命较短、微血管阻塞等一系列问题,很难直接输送到心肌梗死患者体内进行原位治疗,所以将 dECM 水凝胶作为干细胞传输的平台,可为细胞疗法提供载体支持。

棕色脂肪干细胞与 dECM 水凝胶在体外共培养的实验表明,dECM 水凝胶促进了棕色脂肪干细胞衍生的心肌细胞的成熟和分化;并且在进行心肌移植之后,dECM 水凝胶也增强了棕色脂肪干细胞在 MI 部位的驻留和心肌的再生^[11]。Waters 等^[36]将 dECM 水凝胶作为间充质干细胞的载体,将其注入梗死部位后,在梗死部位显示出良好的心脏新生血管的再生,减小了瘢痕组织的面积,增强了心脏再生的能力。另有团队将诱导多能干细胞与 dECM 水凝胶通过心包内注射,在 MI 部位原位形成贴片,通过旁分泌以及直接分化,对缺血性心肌产生修复的作用,并且有效降低了心包内直接注射细胞的方式而产生的免疫原性^[37]。

无论是棕色脂肪干细胞还是间充质干细胞和多能干细胞,与 dECM 水凝胶结合使用,都能有效避免细胞直接注射进行 MI 修复的弊端。dECM 水凝胶可作为干细胞的支持物和媒介,在注射后可维持干细胞在梗死部位的存活,并且结合 dECM 水凝胶本身可对心肌进行修复的特点,这将成为一种很有前途的治疗 MI 的方式。

此外,外泌体作为干细胞的衍生物,也可将其与 dECM 水凝胶相结合使用,使外泌体很好地保留在 MI 部位原位并发挥作用,显著提高治疗效果^[17]。

无论是与干细胞结合还是作为外泌体的载体,dECM 水凝胶都表现出良好的生物相容性和组织活性,细胞直接注射虽然有其明确的治疗效果,但是无法保证注射后的存活率和在 MI 部位的保留效率;由于 dECM 水凝胶的特点,注射后可保留在梗死部位,使其携带的物质产生更为稳定的修复作用。

3 总结与讨论

dECM 有复杂的天然结构,并且具有很强的生物相容性,dECM 的成分可影响细胞的生长、组织的再生以及血运的重建,在再生医学领域有很强大的应用前景。

既往的许多研究已表明,dECM 材料可应用于 MI 的治疗,但在临床转化的过程中,仍有许多问题亟待解决:(1)标准化 dECM 的制备,不完全的脱细胞过程获得的 dECM 水凝胶,或者脱细胞后的 dECM 中有化学成分残留,可能会导致体内产生注射后严重的免疫反应,需制定标准的脱细胞方案,既可保证细胞完全洗脱,又不影响 dECM 的机械性能;(2)目前的研究中,还未明确地解释清楚 dECM 对于细胞微环境的作用和影响,dECM 在体内降解之后对于组织生长的细胞分子机制也尚不明确;(3)现有的许多实验结果都是在实验室中进行的,所研究出的 dECM 水凝胶究竟是否能真正地实现临床转化,实现商品化的生产,也是 dECM 目前面临的一个考验。

dECM 材料本身就有较强的可塑性,可与 3D 打印技术、静电纺丝以及水凝胶进行结合,并且在骨骼、神经等领域已有了相对成熟的研究^[38-39]。目前在再生医学领域中,dECM 也可用作 3D 打印的生物墨水,对 MI 后的部位进行修复和发挥作用^[40-42]。

参考文献

- [1] Tsao CW, Aday AW, Almarazooq ZI, et al. Heart disease and stroke statistics—2022 update: a report from the American Heart Association [J]. *Circulation*, 2022, 145(8): e153-e639.
- [2] Swynghedauw B. Molecular mechanisms of myocardial remodeling [J]. *Physiol Rev*, 1999, 79(1): 215-262.
- [3] Taylor DA, Sampaio LC, Ferdous Z, et al. Decellularized matrices in regenerative medicine [J]. *Acta Biomater*, 2018, 74: 74-89.
- [4] Zhang X, Chen X, Hong H, et al. Decellularized extracellular matrix scaffolds: recent trends and emerging strategies in tissue engineering [J]. *Bioact Mater*, 2022, 10: 15-31.
- [5] Ferdowsi Khoshroshahi A, Soleimani Rad J, Kheirjou R, et al. Adipose tissue-derived stem cells upon decellularized ovine small intestine submucosa for tissue regeneration: an optimization and comparison method [J]. *J Cell Physiol*, 2020, 235(2): 1556-1567.
- [6] Yusof F, Sha'ban M, Azhim A. Development of decellularized meniscus using closed sonication treatment system: potential scaffolds for orthopedics tissue engineering applications [J]. *Int J Nanomedicine*, 2019, 14: 5491-5502.
- [7] Nakamura N, Kimura T, Kishida A. Overview of the development, applications, and future perspectives of decellularized tissues and organs [J]. *ACS Biomater Sci Eng*, 2017, 3(7): 1236-1244.
- [8] Gupta SK, Mishra NC, Dhasmana A. Decellularization methods for scaffold fabrication [J]. *Methods Mol Biol*, 2018, 1577: 1-10.
- [9] Paulo Zambon J, Atala A, Yoo JJ. Methods to generate tissue-derived constructs for regenerative medicine applications [J]. *Methods*, 2020, 171: 3-10.
- [10] Ott HC, Matthies TS, Goh SK, et al. Perfusion-decellularized matrix: using nature's platform to engineer a bioartificial heart [J]. *Nat Med*, 2008, 14(2): 213-221.
- [11] Bai R, Tian L, Li Y, et al. Combining ECM hydrogels of cardiac bioactivity with stem cells of high cardiomyogenic potential for myocardial repair [J]. *Stem Cells Int*, 2019, 2019: 6708435.
- [12] Shi Q, Chen Y, Li M, et al. Designing a novel vacuum aspiration system to decellularize large-size entheses with preservation of physicochemical and

- biological properties[J]. *Ann Transl Med*, 2020, 8(21):1364.
- [13] Wang Z, Sun F, Lu Y, et al. Rapid preparation method for preparing tracheal decellularized scaffolds; vacuum assistance and optimization of DNase I[J]. *ACS Omega*, 2021, 6(16):10637-10644.
- [14] Nguyen DT, O'Hara M, Graneli C, et al. Humanizing miniature hearts through 4-flow cannulation perfusion decellularization and recellularization[J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1):7458.
- [15] Wang X, Ansari A, Pierre V, et al. Injectable extracellular matrix microparticles promote heart regeneration in mice with post-ischemic heart injury[J]. *Adv Healthc Mater*, 2022, 11(8):e2102265.
- [16] Tsui JH, Leonard A, Camp ND, et al. Tunable electroconductive decellularized extracellular matrix hydrogels for engineering human cardiac microphysiological systems[J]. *Biomaterials*, 2021, 272:120764.
- [17] Gómez-Cid L, López-Donaire ML, Velasco D, et al. Cardiac extracellular matrix hydrogel enriched with polyethylene glycol presents improved gelation time and increased on-target site retention of extracellular vesicles[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(17):9226.
- [18] Wang X, Pierre V, Liu C, et al. Exogenous extracellular matrix proteins decrease cardiac fibroblast activation in stiffening microenvironment through CAPG[J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2021, 159:105-119.
- [19] Wang X, Pierre V, Senapati S, et al. Microenvironment stiffness amplifies post-ischemia heart regeneration in response to exogenous extracellular matrix proteins in neonatal mice[J]. *Front Cardiovasc Med*, 2021, 8:773978.
- [20] Huang K, Ozpinar EW, Su T, et al. An off-the-shelf artificial cardiac patch improves cardiac repair after myocardial infarction in rats and pigs[J]. *Sci Transl Med*, 2020, 12(538):eaat9683.
- [21] Mendibil U, Ruiz-Hernandez R, Retegi-Carrion S, et al. Tissue-specific decellularization methods; rationale and strategies to achieve regenerative compounds[J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(15):5447.
- [22] Costa A, Naranjo JD, Londono R, et al. Biologic scaffolds[J]. *Cold Spring Harb Perspect Med*, 2017, 7(9):a025676.
- [23] Singelyn JM, DeQuach JA, Seif-Naraghi SB, et al. Naturally derived myocardial matrix as an injectable scaffold for cardiac tissue engineering[J]. *Biomaterials*, 2009, 30(29):5409-5416.
- [24] Singelyn JM, Sundaramurthy P, Johnson TD, et al. Catheter-deliverable hydrogel derived from decellularized ventricular extracellular matrix increases endogenous cardiomyocytes and preserves cardiac function post-myocardial infarction[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2012, 59(8):751-763.
- [25] Mousavi A, Mashayekhan S, Baheiraei N, et al. Biohybrid oxidized alginate/myocardial extracellular matrix injectable hydrogels with improved electromechanical properties for cardiac tissue engineering[J]. *Int J Biol Macromol*, 2021, 180:692-708.
- [26] Curley CJ, Dolan EB, Otten M, et al. An injectable alginate/extracellular matrix (ECM) hydrogel towards acellular treatment of heart failure[J]. *Drug Deliv Transl Res*, 2019, 9(1):1-13.
- [27] Chen P, Wang L, Fan X, et al. Targeted delivery of extracellular vesicles in heart injury[J]. *Theranostics*, 2021, 11(5):2263-2277.
- [28] Reis LA, Chiu LL, Feric N, et al. Biomaterials in myocardial tissue engineering[J]. *J Tissue Eng Regen Med*, 2016, 10(1):11-28.
- [29] Ullah I, Busch JF, Rabien A, et al. Adult tissue extracellular matrix determines tissue specification of human iPSC-derived embryonic stage mesodermal precursor cells[J]. *Adv Sci (Weinh)*, 2020, 7(5):1901198.
- [30] Rajabi S, Pahlavan S, Ashtiani MK, et al. Human embryonic stem cell-derived cardiovascular progenitor cells efficiently colonize in bFGF-tethered natural matrix to construct contracting humanized rat hearts[J]. *Biomaterials*, 2018, 154:99-112.
- [31] Qian Z, Sharma D, Jia W, et al. Engineering stem cell cardiac patch with microvascular features representative of native myocardium[J]. *Theranostics*, 2019, 9(8):2143-2157.
- [32] Diaz MD, Tran E, Spang M, et al. Injectable myocardial matrix hydrogel mitigates negative left ventricular remodeling in a chronic myocardial infarction model[J]. *JACC Basic Transl Sci*, 2021, 6(4):350-361.
- [33] Wang X, Senapati S, Akinbote A, et al. Microenvironment stiffness requires decellularized cardiac extracellular matrix to promote heart regeneration in the neonatal mouse heart[J]. *Acta Biomater*, 2020, 113:380-392.
- [34] Wang Z, Long DW, Huang Y, et al. Decellularized neonatal cardiac extracellular matrix prevents widespread ventricular remodeling in adult mammals after myocardial infarction[J]. *Acta Biomater*, 2019, 87:140-151.
- [35] Traverse JH, Henry TD, Dib N, et al. First-in-man study of a cardiac extracellular matrix hydrogel in early and late myocardial infarction patients[J]. *JACC Basic Transl Sci*, 2019, 4(6):659-669.
- [36] Waters R, Alam P, Pacelli S, et al. Stem cell-inspired secretome-rich injectable hydrogel to repair injured cardiac tissue[J]. *Acta Biomater*, 2018, 69:95-106.
- [37] Zhu D, Li Z, Huang K, et al. Minimally invasive delivery of therapeutic agents by hydrogel injection into the pericardial cavity for cardiac repair[J]. *Nat Commun*, 2021, 12(1):1412.
- [38] 蒋永生, 李锐, 韩春婵, 等. 脱细胞基质水凝胶促组织再生的研究进展[J]. *中国生物医学工程学报*, 2021, 40(5):628-635.
- [39] Yan J, Xu Y. Preparation and application of decellularized extracellular matrix bioink; a review[J]. *Sheng Wu Gong Cheng Xue Bao*, 2021, 37(11):4024-4035.
- [40] Shin YJ, Shafranek RT, Tsui JH, et al. 3D bioprinting of mechanically tuned bioinks derived from cardiac decellularized extracellular matrix[J]. *Acta Biomater*, 2021, 119:75-88.
- [41] Das S, Kim SW, Choi YJ, et al. Decellularized extracellular matrix bioinks and the external stimuli to enhance cardiac tissue development in vitro[J]. *Acta Biomater*, 2019, 95:188-200.
- [42] Yu C, Ma X, Zhu W, et al. Scanningless and continuous 3D bioprinting of human tissues with decellularized extracellular matrix[J]. *Biomaterials*, 2019, 194:1-13.

收稿日期:2022-11-28