

陈梦琪,刘婷婷,孙芳玲,等. 新生鼠心肌再生相关调节机制的研究进展 [J]. 中国比较医学杂志, 2024, 34(2): 144-153.
Chen MQ, Liu TT, Sun FL, et al. Advances in research on mechanisms related to myocardial regeneration in neonatal murine [J].
Chin J Comp Med, 2024, 34(2): 144-153.
doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2024.02.018

新生鼠心肌再生相关调节机制的研究进展

陈梦琪^{1,2}, 刘婷婷^{1,2}, 孙芳玲^{1,2}, 田欣^{1,2}, 郑文荣^{1,2}, 祝自新^{1,2}, 王宇峰^{1,2},
马连素^{3*}, 王文^{1,2,4*}

(1.首都医科大学宣武医院实验动物室,北京 100053;2.北京市老年病医疗研究中心,北京 100053;
3.北京医药健康科技发展中心,北京 100101;4.北京市脑重大疾病研究院,北京 100069)

【摘要】 心血管疾病是一种危害人类健康的疾病,心肌梗死导致的收缩性心力衰竭是造成死亡的主要原因。既往观点认为,成年哺乳动物心脏中心肌细胞自我增殖更新能力有限,而近年来大量报道指出,哺乳动物在出生早期具备心肌再生的能力,并且其强度足以修复受损的心脏组织。新生鼠心肌再生现象的发现,为探讨影响心肌再生的相关机制提供了理想的动物模型,继而许多能够逆转心肌细胞周期阻滞和促进心肌再生的调控机制得以揭示。本文基于近几年开展的有关新生鼠心肌再生的研究,综述了影响心肌再生基因表达的因素(ncRNAs、转录因子等)、心肌再生相关信号通路和非心肌细胞(细胞外基质、免疫反应、心外膜等)对心肌再生的调节作用,以期为实现成年哺乳动物心肌损伤后心肌再生提供方向。

【关键词】 心肌再生;心血管疾病;细胞增殖;新生心脏;分子机制

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856 (2024) 02-0144-10

Advances in research on mechanisms related to myocardial regeneration in neonatal murine

CHEN Mengqi^{1,2}, LIU Tingting^{1,2}, SUN Fangling^{1,2}, TIAN Xin^{1,2}, ZHENG Wenrong^{1,2}, ZHU Zixin^{1,2}, WANG Yufeng^{1,2},
MA Liansu^{3*}, WANG Wen^{1,2,4*}

(1. Department of Experimental Animal Laboratory, Xuanwu Hospital of Capital Medical University, Beijing 100053, China.
2. Beijing Geriatric Medical Research Center, Beijing 100053. 3. Beijing Medical Health Technology Development Center,
Beijing 100101. 4. Beijing Institute for Brain Disorders, Beijing 100069)

【Abstract】 Cardiovascular disease is a health hazard to humans and systolic heart failure due to myocardial infarction is a major cause of death. It was previously thought that myocardial cells of the adult mammalian heart possess a limited ability to proliferate and self-renew. However, it has been widely reported that mammals have the ability to regenerate the myocardium, which is restricted to early postnatal life, and that it is strong enough to repair damaged heart tissue. The discovery of myocardial regeneration in neonatal hearts has provided an ideal animal model to investigate the mechanisms that affect myocardial regeneration, and many mechanisms that reverse myocardial cell cycle arrest and promote

【基金项目】 国家自然科学基金(82173795)。

【作者简介】 陈梦琪(2000—),女,硕士,研究方向:心血管药理基础研究。E-mail:1531812315@qq.com

【通信作者】 马连素(1989—),女,博士,助理研究员,研究方向:生物医药,生命科学前沿关键技术,医药健康产业集群研究。
E-mail:maliansu@kw.beijing.gov.cn

王文(1968—),男,博士,研究员,博士生导师,研究方向:心脑血管再生修复治疗。E-mail:lzwwang@163.com

* 共同通信作者

myocardial regeneration have been revealed. In this article, we review the factors affecting gene expression for myocardial regeneration (e. g., ncRNAs and transcription factors), myocardial regeneration-related signaling pathways, and the regulation of myocardial regeneration by non-myocardial cells (e. g., extracellular matrix, immune response, and epicardium) to provide directions for achieving myocardial regeneration after myocardial injury in adult mammals.

【 Keywords 】 myocardial regeneration; cardiovascular disease; cell proliferation; neonatal heart; molecular mechanism

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

随心血管疾病危险因素的流行,全球心血管疾病(cardiovascular diseases, CVD)患病率持续上升,其中,由心肌梗死(acute myocardial infarction, AMI)导致的收缩性心力衰竭一直是造成死亡的重要原因之一。由于人类心肌再生能力十分有限,一旦心脏发生缺血损伤,心肌细胞则会迅速凋亡或坏死,最终被无收缩性的瘢痕组织取代,目前的医疗手段仅能在心脏受损后改善心脏功能,无法修复受损的心肌,这也是冠状动脉疾病高死亡率的重要原因^[1]。随着心肌再生现象在斑马鱼、蝾螈及新生哺乳动物中的发现,大量研究表明,非心肌细胞、生长因子、ncRNAs 以及小分子等均可通过调控心肌细胞的有丝分裂、心肌纤维化、血管生成等,影响心肌再生,这些发现及临床前结果为开发治疗人类心力衰竭的方法提供了新的方向^[2]。目前在针对心脏内源性机制的再生策略研究中,由于新生鼠心脏在出生后的短期内保有强大的再生能力,成为研究心肌再生现象和机制的理想模型。为了实现心肌再生现象向临床治疗转化,深入并系统研究心肌再生机制,了解心脏中不同细胞群及信号分子之间的相互关联就显得十分迫切。

1 新生鼠心肌再生相关基因表达的调控

1.1 非编码 RNA (non-coding RNAs, ncRNAs) 与心肌再生

ncRNAs 是新生鼠心肌细胞增殖、分化和修复中的关键调节因子^[3],目前研究较多的主要包括微小 RNA (microRNA, miRNA)、长链非编码 RNA (long non-coding RNA, lncRNA) 和环状 RNA (circular RNA, circRNA)。miRNA 中如 miRlet-7i-5p、miR-26a、miR-128 等在出生后上调,乳鼠心肌再生能力也随之消失。其中,miRlet-7i-5p 通过与 E2f2 和 Cend2 的 mRNA 3' UTR 末端结合,抑制 E2f2 和 Cend2 的表达,影响心肌细胞周期进程,抑制心肌损伤后的再生^[4];miR-26a 能够抑制 Ezh2 的表达,而 Ezh2 是多梳蛋白抑制复合物 2 (polycomb repressive

complex 2, PRC2) (能够抑制细胞周期负调控因子)的组成成分,进而使心肌细胞增殖受到抑制^[5];miR-128 通过抑制 Suz12 的表达,上调 p27 (上调下游靶标 Cyclin E 和 CDK2 的表达)的转录,抑制心肌细胞增殖^[6]。除了抑制再生,miR-31a-5p、miR-106b-25、miR-199a、miR-302/367 等则促进再生相关基因的表达,促进心肌再生的发生。其中,miR-31a-5p 通过与 RhoBTB1 (心脏中功能尚不明确的肿瘤抑制基因)的 mRNA 3' UTR 末端结合抑制其表达,进而促进心肌细胞增殖^[7];miR-106b-25 通过调控多种细胞周期基因以及一些关键的细胞周期负调控因子(E2f5、Cdkn1c、Ccn1 和 Wee1),发挥促进心肌细胞增殖的作用^[8];miR-199a 通过抑制 Cd151 的表达进而抑制 p38 (心肌细胞增殖的负调节因子)的表达促进心肌再生^[9];miR-302-367 通过抑制 Mst1、Lsts2 和 Mob1b 的表达,抑制 Hippo-Yap 信号通路,促进新生鼠心肌细胞的增殖和再生^[10]。下文总结了近年来有关 miRNA 在心肌再生中的作用及相关机制的研究(表 1)。

lncRNA 也影响着心肌细胞增殖能力,虽然通常细胞中 lncRNA 的丰度低于 miRNA,但其往往具有更强的组织特异性。在新生鼠中,反义 lncRNA Sirt1 能够与 Sirt1 的 mRNA 结合并提高其稳定性和表达水平,促进心肌细胞增殖^[27];lncRNA Snhg1 可与 PTEN 结合诱导其降解,激活 PI3K/Akt 信号通路,诱导新生鼠心脏损伤后心肌细胞细胞质的分裂,同时 c-Myc 作为 PI3K/Akt 信号通路的下游靶点,又可作为 Snhg1 的转录因子促进其转录,实现对 PI3K/Akt 信号通路的持续激活,促进心肌细胞增殖和再生,改善心功能^[28]。在新生鼠中,lncRNA NPPA-AS1 和 lncDACH1 抑制心肌细胞的增殖,其中,lncRNA NPPA-AS1 的缺失不会影响心脏发育,但可以延长新生鼠心尖切除(apex resection, AR)后的心肌再生窗口,这是由于 NPPA-AS1 可与 SFPQ 蛋白竞争性结合,抑制了 SFPQ-NONO 异构体(能够促进 DNA 双链修复)的形成,DNA 损伤增加,进而

表 1 miRNA 对新生鼠心肌再生的影响及机制总结

Table 1 A summary of the miRNAs on neonatal murine cardiomyocyte proliferation and mechanism

ncRNA	物种 Species		靶点 Targets	影响(+/-) Effect (+/-)	作者 Authors
	体内 <i>In vitro</i>	体外 <i>In vivo</i>			
miR-302-367	NMCMs	小鼠 Mouse	Mst1-, Lts2-, Mob1b-	+	TIAN Y, et al. [10]
miR-1825	/	小鼠 Mouse	p16-, Rb1-, Meis2-	+	PANDEY R, et al. [11]
miR-128	NMCMs	小鼠 Mouse	SUZ12-, Cyclin E-, CDK2-	-	HUANG W, et al. [6]
miR-34a	NRCMs	小鼠 Mouse	Bcl2-, CyclinD1-, Sirt1-	-	YANG Y, et al. [12]
miR-31a-5p	NRCMs	大鼠 Mouse	RhoBTB1+	+	XIAO J, et al. [7]
miR-7i-5p	NMCMs	小鼠 Mouse	E2F2-, CCND2-	-	HU Y, et al. [4]
miR-222	NRCMs	/	p27-, HIPK1-, Hmbox-1-	+	VUJIC A, et al. [13]
miR-19a/19b	NRCMs	/	PTEN-, BIM-	+	GAO F, et al. [14]
miR-204	NRCMs	/	Jarid2-	+	LIANG D, et al. [15]
miR-294	NRCMs	/	Wee1/CDK1-, CyclinB1 axis-	+	BORDEN A, et al. [16]
miR-410, miR-495	NRCMs	/	Cited2-	+	CLARK A L, et al. [17]
miR-708	NMCMs NRCMs	/	MAPK14-	+	DENG S, et al. [18]
miR-106b-25	NRCMs	/	E2f5-, Cdkn1c-, Ccne1-, Wee1-, Hand2-, Mef2d-	+	RASO A, et al. [8]
miR-486	/	小鼠 Mouse	GATA4+, FoxO1-, TGFβ/Smad-	+	LANGE S, et al. [19]
miR-26a	NRCMs	小鼠 Mouse	Ezh2-	+	CRIPPA S, et al. [5]
miR-1180	NRCMs	/	NKIRAS2-	+	DING Y, et al. [20]
miR-152	NMCMs	小鼠 Mouse	YAP1-, P27kip1-, DNMT1-	+	WANG X, et al. [21]
miR-199a-3p	NRCMs	/	CD151-, P38-	+	TAO Y, et al. [9]
miR-24	NRCM	/	CDKN1B-	+	GAO J, et al. [22]
miR-301a	NRCMs	/	PTEN-	+	ZHEN J, et al. [23]
miR-143-3p	NMCMs	/	YAP-, Ctnd1-	-	MA W Y, et al. [24]
miR-411	NMCMs	/	YAP+	+	NUGROHO A B, et al. [25]
miR-378a-3p	NRCMs	/	ATg12-, LC3-, P62+	-	ZHAO J. et al. [26]

注: +表示对心肌再生具有促进作用或促进基因表达; -表示对心肌再生具有抑制作用或抑制基因表达; NMCMs: 新生小鼠心肌细胞; NRCMs: 新生大鼠心肌细胞。

Note. + indicates the facilitation to myocardial regeneration or promoting gene expression. - indicates the inhibition to myocardial regeneration or inhibition of gene expression. NMCMs, Neonatal mouse cardiomyocytes. NRCMs, Neonatal rat cardiomyocytes.

导致细胞周期停滞的发生^[29]。lncDACH1 的表达在小鼠出生后逐渐上调, 研究发现, lncDACH1 能够通过和蛋白磷酸酶 1 催化亚基 α (protein phosphatase 1 catalytic subunit alpha, PP1A) 结合, 抑制其去磷酸化活性, 进而促进 YAP1 的磷酸化并使其核转运受到抑制, 最终导致新生鼠 AMI 后的心肌再生障碍^[30]。

除 miRNA 和 lncRNA 外, 近期研究发现, 具有突出稳定性和组织特异性的 circRNA 在心脏生长发育和疾病进程中也发挥重要作用^[31]。如 circHipk3 通过促进 Notch1 的乙酰化激活 Notch1 信号, 促进

AMI 后心肌细胞的增殖, 同时通过抑制 miR-133a 促进结缔组织生长因子 (connective tissue growth factor, CTGF) 的表达, 通过促进 AMI 后血管生成促进心肌再生^[32]; circCDYL 通过与 miR-4793-5p 结合, 调控 APP 的表达, 促进 AMI 后心肌细胞增殖^[33]; circSamd4 通过诱导 VCP 蛋白的线粒体易位减少氧化应激反应的发生, 进而下调 Vdac1 的表达并抑制线粒体通透性转换孔的打开^[34], 促进心肌细胞增殖并阻止心肌细胞凋亡; cirMdc1 通过与 PABP 结合抑制 Mdc1 的翻译, 引发心肌细胞的 DNA 损伤

和染色体稳定性的下降,进而影响受损心脏的再生和修复能力^[31]。

1.2 转录因子 (transcription factor, TF) 与心肌再生

转录因子能够通过调控再生相关基因的表达,如转录因子 Nrf1、GATA4、Meis1 等,在新生鼠心脏发育和再生中发挥关键作用^[35]。其中,Nrf1 是实现新生鼠 AMI 后心脏再生的关键因素,其通过调控蛋白酶体和抗氧化反应通路相关基因的表达介导新生鼠心肌再生反应的发生,并且在成年鼠中 Nrf1 也可以为心脏提供保护作用^[36]。在心脏发育过程中,转录因子 GATA 家族可在彼此之间及与其他 TF 或信号分子产生相互作用,激活特定的下游靶标基因,影响心脏再生能力^[37]。其中,从小鼠出生后 1~7 d,心脏中 GATA4 蛋白含量不断降低,这与心肌细胞周期退出时间一致,心脏冷冻损伤新生小鼠在特异性敲除 GATA4 之后无法再生,而提高其在 7 日龄心脏冷冻损伤小鼠心脏中的水平可显著促进心脏再生^[38]。研究表明,GATA4 可调控成纤维细胞生长因子 16 (fibroblast growth factors 16, FGF-16) 的表达,诱导心肌再生^[39]。Meis1 可调节新生鼠心肌细胞周期和心肌再生能力,缺失 Meis1 的新生鼠心肌再生窗口可延长至 14 d^[40]。在成年鼠中的研究发现,Meis1 可以上调多种细胞周期蛋白依赖性激酶抑制剂基因 (包括 p16、p19、p15、p21) 的表达,诱导心肌细胞周期再入及心肌再生^[41]。还有研究通过分析再生小鼠和非再生小鼠的转录组,发现具有再生能力的心肌亚群在受损后转录因子 NFYA 和 NFE2L1 显著高表达,进一步研究发现,NFYA 可提高心肌细胞的分裂能力,NFE2L1 则对心肌细胞有明显保护作用^[42]。

1.3 表观遗传学与心肌再生

在心脏成熟过程中,新生鼠心肌细胞中的染色质结构会在特定区域发生剧烈变化,对特定基因的表达造成影响。研究人员比较了具备再生能力的 1 日龄小鼠和几乎丧失再生能力的 14 日龄及 56 日龄小鼠心肌细胞染色质构象,发现在心肌细胞成熟过程中,与增殖相关的基因关闭,而与肌肉发育相关的基因开放^[43]。这一变化的发生与组蛋白修饰、先锋转录因子、ATP 依赖性染色质重塑以及 DNA 甲基化有关^[44],所以通过调控以上因素,将对心肌细胞的增殖能力造成影响。

在分析对比了 1 日龄小鼠和 8 日龄小鼠心脏

H3K27ac 组蛋白修饰情况后,研究人员发现具备再生能力的 1 日龄小鼠与非再生 8 日龄小鼠在组蛋白修饰层面的明显区别及其与心脏再生能力的直接联系。1 日龄 AMI 小鼠在 1.5 d 后上调的 H3K27ac 峰优先富集于 FOXH1、NF- κ B 和 STAT5 等转录因子,这些转录因子在再生中均发挥重要作用^[45]。抑制参与染色质构象调节的转录因子激活蛋白 1 (activator protein 1, AP-1) 的功能将降低 Fbxl22 和 Ilk 位点 (调节肌节分解和心肌细胞向受损区域的增殖) 的染色质可及性,使心肌细胞无法增殖,而其过表达则能够促进心脏损伤区域心肌细胞的去分化和增殖^[46]。研究人员将 Hippo 通路的效应器 YAP 重编程为 YAP5SA (抵抗磷酸化的 YAP 突变体,心肌细胞中所有 YAP 的 LATS1/2 磷酸化位点从丝氨酸 S 突变为丙氨酸 A),这避开了 Hippo 信号通路对 YAP 活性的负调节,实现了部分成年鼠心肌细胞增殖状态的胎儿化,基因组研究结果显示,这与 YAP5SA 增加了心肌细胞染色质胚胎基因的表达有关^[47]。

1.4 其他

RHAU 是具有 G4 溶解酶活性的 RNA 结合蛋白,研究发现,RHAU 的缺失将使新生鼠心肌细胞丧失再生能力,最终导致心力衰竭^[48]。这是由于 RHAU 能够与 Yap1 和 Hexim1 基因的 5' 和 3' UTR 相偶联,使 mRNA 稳定性降低,提高翻译水平,这是新生鼠心脏受损后再生的必要条件。研究表明,具有强大再生能力的新生鼠心肌细胞几乎全部为单核二倍体,在成熟过程中,二倍体心肌细胞逐渐向多倍体转化,心脏再生能力也逐渐消失^[48]。针对这一现象,有研究发现,核纤层蛋白 B2 (lamin B2, Lmnb2) 可以促进核膜破裂,促进哺乳动物心肌细胞从单倍体向多倍体转化^[49],缺失 Lmnb2 的新生小鼠多倍体心肌细胞百分比增加,同时心肌再生能力降低。与 Lmnb2 类似,E2f 通路也与心肌细胞的多核化有关^[50],但研究表明,虽然缺失 E2f7/8 的小鼠心脏中心肌细胞单核二倍体增加,但发生 AMI 的小鼠心肌细胞的增殖并未受到刺激^[51]。所以心肌细胞染色体倍性与再生的联系还需要进一步深入研究。

2 新生鼠心肌再生的分子机制

2.1 Hippo/YAP 信号通路

Hippo/YAP 信号通路在器官大小和组织生长

的调节中发挥着重要作用,其在心肌再生领域的作用已经进行了广泛的研究,抑制 Hippo 通路中的调节因子,可以促进心肌细胞重新进入细胞周期进行细胞增殖,促进心肌再生^[52-53],其中,Hippo 的下游靶标 YAP 是心肌再生过程中的重要调节因子^[54]。YAP 也可独立于 Hippo 信号通路在其他信号的刺激下影响心肌细胞增殖和再生,如 GP130、TLR3 等均可通过作用于 YAP 促进心肌细胞增殖^[21,55]。其中,通过构建新生小鼠的 AR 心脏再生模型,研究人员发现了 GP130-YAP-Notch 通路在心肌再生中的重要作用,GP130 通过磷酸化 SRC 蛋白激活 YAP,这并不依赖于经典的 Hippo 信号通路^[55]。TLR3 能够诱导糖酵解依赖性的 YAP1 的激活,促进 miR-152 的表达,进而抑制 P27kip1、细胞周期抑制蛋白及 DNA 甲基转移酶 (DNA Methyltransferase 1, DNMT1) 的表达,促进新生鼠心脏受损后的再生及修复^[21]。

2.2 Wnt 信号通路

Wnt 信号的下调是细胞周期停滞的诱因之一^[56-57],抑制该信号通路可促进受损心肌中心肌细胞增殖并减少纤维化^[58]。该信号通路可分成两个亚类:经典的 β -catenin 依赖性和非经典的非 β -catenin 依赖性信号通路。近期研究发现,Wnt 配体的共受体 LRP6 通过 ING5/P21 信号通路激活新生和成年小鼠的心肌细胞周期活性,促进心脏的再生修复^[59],而下调共受体 LRP5 可促进 AKT 的降解,提高 p21 的表达水平,促进再生^[60]。Wnt 信号通路还可被 RNA 结合蛋白 CUGBP1 激活,通过 CUGBP1-Wnt/ β -catenin-GATA4 调控轴促进新生鼠心肌损伤后心肌细胞的增殖^[61]。此外,Wnt 信号通路还可与 Hippo 通路共同协调心肌细胞和成纤维细胞之间的相互作用,调控新生鼠心肌再生过程。在新生鼠的心肌细胞中,YAP 活性高时,Wnt 转运蛋白(wntless, WLS)被激活,介导心肌细胞与成纤维细胞之间非经典的 Wnt 信号通路交流,进而抑制心脏成纤维细胞的激活和转分化,抑制心脏受损后的纤维化,促进心肌再生^[62]。

2.3 其他

除了以上研究外,在新生鼠的心肌再生中发挥重要作用的还有 Notch 信号通路,通过该信号通路不仅可以减少氧化应激和细胞凋亡,还可以控制心肌损伤后的心肌细胞纤维化并促进血运重建,促进心肌细胞增殖和再生^[63]。

PI3K/p-AKT 信号通路在生理和病理条件下调节着细胞的增殖、分化、凋亡和自噬,在心肌再生中,通过该信号通路能够促进心肌细胞分裂增殖、降低 Bad 和 Bax 表达水平抑制细胞凋亡以及增加 Bcl-2 和 Vegf 的表达水平诱导梗死心肌的血管新生^[64]。近期研究发现,血小板衍生生长因子受体 β (platelet-derived growth factor receptor β , PDGFR- β) 可通过靶向 PI3K/p-AKT 信号通路控制心肌细胞中 Ezh2 的表达,促进心肌细胞增殖^[65]。在 AKT 的介导下,由内皮细胞分泌的髓源性生长因子 (myeloid-derived growth factor, Mydgf) 能够通过 c-Myc/FoxM1 通路,诱导新生 AR 小鼠心脏的心肌细胞增殖,促进心肌再生,并且在受损的成年小鼠心脏中,Mydgf 对再生同样有促进作用^[66]。

由 L-色氨酸 (L-Tryptophan, Trp) 在吲哚胺 2,3-双加氧酶 1 (Indoleamine 2,3-Dioxygenase 1, IDO1) 催化下产生的犬尿氨酸 (kynurenine, Kyn),在细胞中以烟酰胺腺嘌呤二核苷酸的形式参与细胞供能。研究表明,Trp-Kyn 代谢在新生鼠心肌再生和血管生成中发挥着双重作用,一方面,Kyn 可以通过与 AHR 结合激活 Src-YAP/ERK 通路促进 AR 新生鼠心脏的心肌细胞增殖,另一方面,Kyn 还可通过促进内皮细胞中 AHR 的核易位提高 VEGFA 的转录水平,进而促进血管新生^[67]。这一研究证明,IDO1-Kyn-AHR-Yap/ERK 轴是心肌再生中内皮细胞和心肌细胞之间相互作用的重要途径。

3 影响新生鼠心肌再生能力的非心肌细胞因素

3.1 细胞外基质

ECM (extracellular matrix, ECM) 是一个复杂的蛋白质网络,含有多种细胞合成的酶、生长因子、结构蛋白 (如胶原蛋白) 和多糖,影响着细胞的生物学特性并赋予组织特定的理化和机械特性,越来越多的研究表明,ECM 影响着心脏的再生能力^[68-69]。ECM 组成不是一成不变的,在生长发育过程中不断发生着动态变化,1 日龄新生鼠心脏中分离的 ECM 与 7 日龄相比,能更显著地促进心肌细胞增殖。针对这种现象,研究人员比较了不同生长发育阶段心脏 ECM 组成,发现多种存在显著差异的成分,尤其是其中的 ECM 蛋白 Agrin 含量变化与小鼠心脏再生能力的大小高度相关,研究表明 Agrin 能够促进 AMI 后的心肌细胞的增殖和再生,缺失 Agrin 基因则会造成心脏提前成熟并在损伤后发生显著纤维

化^[70]。对于 Agrin 的作用机制,研究人员提出了 Agrin-DGC-YAP 调控轴模型。ECM 中的骨膜蛋白也是新生鼠心肌再生中的关键蛋白,敲除骨膜蛋白基因的小鼠在 AMI 后无法实现心肌的完全再生,并会出现显著的纤维化和血管生成减少现象^[71]。此外,有研究比较了胚胎期和出生后小鼠 ECM 的组成,发现两种在胚胎期富集的 ECM 蛋白 Slit2 和肾连蛋白(nephronectin, NPNT)在体外和体内均能够发挥刺激心肌细胞增殖的作用^[72]。

上述 ECM 成分都是通过直接促进心肌细胞增殖发挥促进心肌再生的作用,除此之外,有效的血运重建也是心肌再生的必要条件,而在血运重建时,ECM 不仅是血管新生的物理支撑,也是这一过程中调节血管生成的细胞因子和生长因子的重要来源^[73]。新生鼠中的相关研究比较有限,但在成年小鼠中的研究表明,ECM 中大量存在的蛋白多糖家族 HSPG,抑制其在梗死小鼠心脏中的硫酸化可以促进其与血管内皮生长因子受体 2 (vascular endothelial growth factor receptor 2, VEGFR2) 的结合,进而促进 VEGFA 的释放,诱导血管生成,使梗死后的心脏功能改善^[74]。在斑马鱼中的研究也充分证实了 ECM 蛋白(如胶原蛋白)的血管支架和信号传导作用^[75-77]。虽然新生鼠中的研究尚未涉及 ECM 中的具体成分,但已有研究证实,在心肌再生过程中,内皮细胞向损伤区域的迁移先于心肌细胞的增殖过程^[78]。

除了组成外,ECM 的机械性能也影响着心脏再生能力。在新生小鼠及大鼠心肌细胞体外培养过程中,ECM 硬度的增加将导致细胞周期停滞的发生^[79],而在使用赖氨酰氧化酶(lysyl oxidases, LOX)降低 ECM 的硬度后,小鼠能够在出生后的 3 d 内保持心脏的再生能力,这表明 ECM 的硬度是新生鼠心肌再生的影响因素之一^[80]。

3.2 心外膜

心外膜是心脏的最外层,是各种心脏间质细胞(如成纤维细胞、血管壁细胞、内皮细胞)的起源,而且在胚胎发育阶段,心外膜和心外膜衍生细胞(epicardial and epicardium-derived cells, EPDCs)能够通过分泌生长因子(FGF9, IGF2, TGF- β , PDGF),调控心外膜衍生细胞的发育方向,进而影响心脏纤维化、血管成熟、心肌细胞增殖和心脏发育进程^[81]。虽然心外膜在出生后即进入休眠状态,但在新生鼠中,其中许多旁分泌信号通路在心脏修复或再生期

间又可重新启动^[82]。其中,胰岛素生长因子 2 (insulin-like growth factor 2, IGF-2)是心脏发育过程中重要的有丝分裂原,是新生鼠心脏再生所必须的,IGF2 缺失的新生小鼠心肌细胞几乎无法进入细胞周期^[83]。细胞外囊泡(extracellular vesicles, EVs)作为细胞间通讯和信号传导的重要媒介,是心外膜作用发挥所必须的物质。近期有研究人员通过向新生鼠心脏受损区域注射从永生化小鼠胚胎中分离的外源心外膜 EVs,促进了 1 日龄 AMI 心脏再生模型小鼠的心肌细胞增殖,并且诱导了 7 日龄小鼠心肌细胞周期再入和增殖,这种促再生作用的发挥是由囊泡中的 miR-30a、miR-100 等保守的促再生 miRNA 介导的^[84]。

3.3 免疫反应

研究表明,AMI 后新生鼠和成年鼠心脏的免疫反应和巨噬细胞亚群存在显著差异,在心脏损伤的新生鼠中,这些免疫反应能够刺激心肌再生^[85]。研究人员把从新生小鼠心脏中分离得到的巨噬细胞移植到成年小鼠 AMI 部位,促进了心肌细胞的增殖,受损的心肌显著修复,心脏功能改善,这证实新生小鼠受损心脏中巨噬细胞在心肌再生中发挥的重要作用^[86]。此外,对新生鼠来说,心脏受损后的急性炎症反应是心肌再生的必要条件,急性炎症反应被抑制或 IL-13 缺陷的新生小鼠在 AR 后无法实现完全的心肌再生,相反,外源 IL-13 可激活 ERK1/2 和 AKT,进而促进心肌细胞的增殖,促进心肌再生^[87]。

4 细胞代谢与心肌再生

在出生后,心肌细胞的代谢方式逐渐从糖酵解过渡到脂肪酸氧化或有氧呼吸^[88],这种转变的发生将造成心肌细胞中活性氧(reactive oxygen species, ROS)含量的增加,引发 DNA 的氧化损伤,导致细胞周期停滞的发生^[89]。使用 N-乙酰半胱氨酸(N-acetylcysteine, NAC)^[90]、H₂S^[91]等清除 ROS 能够延长新生鼠心肌再生窗口,上调抗氧化基因如 Pitx2 的表达水平,同时避免了 ROS 对心肌细胞的影响,维持心肌的再生能力^[92-93]。由于脂肪酸是氧化代谢的主要原料,研究人员通过控制食物中脂肪酸含量,促进葡萄糖氧化并抑制脂肪酸氧化,成功减少了 ROS 的产生,显著降低了心肌细胞 DNA 的氧化损伤^[52]。除了控制代谢的原料,还有研究通过控制代谢反应的关键酶如丙酮酸激酶的 M2 (pyruvate

kinase M2, pkm2)^[94]、丙酮酸脱氢酶激酶 4 (pyruvate dehydrogenase kinases 4, PDK-4)^[52] 的表达,证实代谢模式可通过影响氧化应激反应影响心脏损伤后的心肌再生能力。

5 新生鼠心肌再生研究的展望与总结

新生鼠心肌再生现象的发现为心肌再生机制的研究和相关疗法的开发提供了有力工具。当前在相关研究中,还有诸多亟待解决的问题,如心肌细胞的倍性是如何影响心肌再生能力的;心肌细胞代谢方式从脂肪酸氧化到糖酵解的转变具体是如何促进心肌再生的;心脏中是否存在一个对有丝分裂刺激更敏感心肌细胞亚群等。虽然目前凭借新生鼠心肌再生模型已经发现了诸多心肌再生相关的调节机制,但新生鼠与成年鼠或其他哺乳动物在心肌细胞的细胞核成倍性、端粒长度、能量利用形式等方面存在显著差异,通过任何一种单一途径对心肌再生的促进作用都十分有限,这表明从新生鼠心肌再生向其他哺乳动物心肌再生的过渡还需要厘清多种影响因素的相互作用关系,综合考虑各种因素从整体上实现更有效的心肌再生。未来,要想在人类心脏治疗中开发出心肌再生疗法,还需要对心肌再生机制进一步深入研究。

参考文献:

- [1] ROTH G A, MENSAH G A, JOHNSON C O, et al. Global burden of cardiovascular diseases and risk factors, 1990-2019; update from the GBD 2019 study [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2020, 76(25): 2982-3021.
- [2] CHEN C H, POSS K D. Regeneration genetics [J]. *Annu Rev Genet*, 2017, 51: 63-82.
- [3] HUNKLER H J, GROB S, THUM T, et al. Non-coding RNAs: key regulators of reprogramming, pluripotency, and cardiac cell specification with therapeutic perspective for heart regeneration [J]. *Cardiovasc Res*, 2022, 118(15): 3071-3084.
- [4] HU Y, JIN G, LI B, et al. Suppression of miRNA let-7i-5p promotes cardiomyocyte proliferation and repairs heart function post injury by targeting CCND2 and E2F2 [J]. *Clin Sci*, 2019, 133(3): 425-441.
- [5] CRIPPA S, NEMIR M, OUNZAIN S, et al. Comparative transcriptome profiling of the injured zebrafish and mouse hearts identifies miRNA-dependent repair pathways [J]. *Cardiovasc Res*, 2016, 110(1): 73-84.
- [6] HUANG W, FENG Y, LIANG J, et al. Loss of microRNA-128 promotes cardiomyocyte proliferation and heart regeneration [J]. *Nat Commun*, 2018, 9(1): 700.
- [7] XIAO J, LIU H, CRETOIU D, et al. MiR-31a-5p promotes postnatal cardiomyocyte proliferation by targeting RhoBTB1 [J]. *Exp Mol Med*, 2017, 49(10): e386.
- [8] RASO A, DIRKX E, SAMPAIO-PINTO V, et al. A microRNA program regulates the balance between cardiomyocyte hyperplasia and hypertrophy and stimulates cardiac regeneration [J]. *Nat Commun*, 2021, 12(1): 4808.
- [9] TAO Y, ZHANG H, HUANG S, et al. MiR-199a-3p promotes cardiomyocyte proliferation by inhibiting Cd151 expression [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2019, 516(1): 28-36.
- [10] TIAN Y, LIU Y, WANG T, et al. A microRNA-Hippo pathway that promotes cardiomyocyte proliferation and cardiac regeneration in mice [J]. *Sci Transl Med*, 2015, 7(279): 279ra38.
- [11] PANDEY R, VELASQUEZ S, DURRANI S, et al. MicroRNA-1825 induces proliferation of adult cardiomyocytes and promotes cardiac regeneration post ischemic injury [J]. *Am J Transl Res*, 2017, 9(6): 3120-3137.
- [12] YANG Y, CHENG H W, QIU Y, et al. MicroRNA-34a plays a key role in cardiac repair and regeneration following myocardial infarction [J]. *Circ Res*, 2015, 117(5): 450-459.
- [13] VUJIC A, LERCHENMÜLLER C, WU T D, et al. Exercise induces new cardiomyocyte generation in the adult mammalian heart [J]. *Nat Commun*, 2018, 9(1): 1659.
- [14] GAO F, KATAOKA M, LIU N, et al. Therapeutic role of miR-19a/19b in cardiac regeneration and protection from myocardial infarction [J]. *Nat Commun*, 2019, 10(1): 1802.
- [15] LIANG D, LI J, WU Y, et al. miRNA-204 drives cardiomyocyte proliferation via targeting Jarid2 [J]. *Int J Cardiol*, 2015, 201: 38-48.
- [16] BORDEN A, KURIAN J, NICKOLOFF E, et al. Transient introduction of miR-294 in the heart promotes cardiomyocyte cell cycle reentry after injury [J]. *Circ Res*, 2019, 125(1): 14-25.
- [17] CLARK A L, NAYA F J. MicroRNAs in the myocyte enhancer factor 2 (MEF2)-regulated Gtl2-Dio3 noncoding RNA locus promote cardiomyocyte proliferation by targeting the transcriptional coactivator Cited2 [J]. *J Biol Chem*, 2015, 290(38): 23162-23172.
- [18] DENG S, ZHAO Q, ZHEN L, et al. Neonatal heart-enriched miR-708 promotes proliferation and stress resistance of cardiomyocytes in rodents [J]. *Theranostics*, 2017, 7(7): 1953-1965.
- [19] LANGE S, BANERJEE I, CARRION K, et al. MiR-486 is modulated by stretch and increases ventricular growth [J]. *JCI Insight*, 2019, 4(19): e125507.
- [20] DING Y, BI L, WANG J. MiR-1180 promotes cardiomyocyte cell cycle re-entry after injury through the NKIRAS2-NFκB pathway [J]. *Biochem Cell Biol*, 2020, 98(4): 449-457.
- [21] WANG X, HA T, LIU L, et al. TLR3 mediates repair and regeneration of damaged neonatal heart through glycolysis dependent YAP1 regulated miR-152 expression [J]. *Cell Death Differ*, 2018, 25(5): 966-982.
- [22] GAO J, ZHU M, LIU R F, et al. Cardiac hypertrophy is

- positively regulated by microRNA-24 in rats [J]. *Chin Med J*, 2018, 131(11): 1333-1341.
- [23] ZHEN L, ZHAO Q, LÜ J, et al. MiR-301a-PTEN-AKT signaling induces cardiomyocyte proliferation and promotes cardiac repair post-MI [J]. *Mol Ther Nucleic Acids*, 2020, 22: 251-262.
- [24] MA W Y, SONG R J, XU B B, et al. Melatonin promotes cardiomyocyte proliferation and heart repair in mice with myocardial infarction via miR-143-3p/Yap/Ctnd1 signaling pathway [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2021, 42(6): 921-931.
- [25] NUGROHO A B, STAFFORD N, ZI M, et al. Micro RNA-411 expression improves cardiac phenotype following myocardial infarction in mice [J]. *JACC Basic Transl Sci*, 2022, 7(9): 859-875.
- [26] ZHAO J, CHEN F, MA W, et al. Suppression of long noncoding RNA NEAT1 attenuates hypoxia-induced cardiomyocytes injury by targeting miR-378a-3p [J]. *Gene*, 2020, 731: 144324.
- [27] LI B, HU Y, LI X, et al. Sirt1 antisense long noncoding RNA promotes cardiomyocyte proliferation by enhancing the stability of Sirt1 [J]. *J Am Heart Assoc*, 2018, 7(21): e009700.
- [28] LI M, ZHENG H, HAN Y, et al. LncRNA Snhg1-driven self-reinforcing regulatory network promoted cardiac regeneration and repair after myocardial infarction [J]. *Theranostics*, 2021, 11(19): 9397-9414.
- [29] FU W, REN H, SHOU J, et al. Loss of NPPA-AS1 promotes heart regeneration by stabilizing SFPQ-NONO heteromer-induced DNA repair [J]. *Basic Res Cardiol*, 2022, 117(1): 10.
- [30] CAI B, MA W, WANG X, et al. Targeting LncDACH1 promotes cardiac repair and regeneration after myocardium infarction [J]. *Cell Death Differ*, 2020, 27(7): 2158-2175.
- [31] MA W, WANG X, SUN H, et al. Oxidant stress-sensitive circRNA Mdc1 controls cardiomyocyte chromosome stability and cell cycle re-entry during heart regeneration [J]. *Pharmacol Res*, 2022, 184: 106422.
- [32] SI X, ZHENG H, WEI G, et al. circRNA Hipk3 induces cardiac regeneration after myocardial infarction in mice by binding to Notch1 and miR-133a [J]. *Mol Ther Nucleic Acids*, 2020, 21: 636-655.
- [33] ZHANG M, WANG Z, CHENG Q, et al. Circular RNA (circRNA) CDYL induces myocardial regeneration by ceRNA after myocardial infarction [J]. *Med Sci Monit*, 2020, 26: e923188.
- [34] ZHENG H, HUANG S, WEI G, et al. CircRNA Samd4 induces cardiac repair after myocardial infarction by blocking mitochondria-derived ROS output [J]. *Mol Ther*, 2022, 30(11): 3477-3498.
- [35] WANG M, HU S, NIE Y, et al. Proteomic profiling of key transcription factors in the process of neonatal mouse cardiac regeneration capacity loss [J]. *Cell Biol Int*, 2019, 43(12): 1435-1442.
- [36] CUI M, ATMANLI A, MORALES M G, et al. Nrf1 promotes heart regeneration and repair by regulating proteostasis and redox balance [J]. *Nat Commun*, 2021, 12(1): 5270.
- [37] WHITCOMB J, GHARIBEH L, NEMER M. From embryogenesis to adulthood: critical role for GATA factors in heart development and function [J]. *IUBMB Life*, 2020, 72(1): 53-67.
- [38] MALEK MOHAMMADI M, KATTIH B, GRUND A, et al. The transcription factor GATA4 promotes myocardial regeneration in neonatal mice [J]. *EMBO Mol Med*, 2019, 11(6): e10678.
- [39] YU W, HUANG X, TIAN X, et al. GATA4 regulates Fgf16 to promote heart repair after injury [J]. *Development*, 2016, 143(6): 936-949.
- [40] MAHMOUD A I, KOCABAS F, MURALIDHAR S A, et al. Meis1 regulates postnatal cardiomyocyte cell cycle arrest [J]. *Nature*, 2013, 497(7448): 249-253.
- [41] MURALIDHAR S A, SADEK H A. Meis1 regulates postnatal cardiomyocyte cell cycle arrest [J]. 2016: 93-101.
- [42] CUI M, WANG Z, CHEN K, et al. Dynamic transcriptional responses to injury of regenerative and non-regenerative cardiomyocytes revealed by single-nucleus RNA sequencing [J]. *Dev Cell*, 2020, 55(5): 665-667.
- [43] QUAIFE-RYAN G A, SIM C B, ZIEMANN M, et al. Multicellular transcriptional analysis of mammalian heart regeneration [J]. *Circulation*, 2017, 136(12): 1123-1139.
- [44] CHIARELLA A M, LU D, HATHAWAY N A. Epigenetic control of a local chromatin landscape [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(3): 943.
- [45] WANG Z, CUI M, SHAH A M, et al. Mechanistic basis of neonatal heart regeneration revealed by transcriptome and histone modification profiling [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2019, 116(37): 18455-18465.
- [46] BEISAW A, KUENNE C, GUENTHER S, et al. AP-1 contributes to chromatin accessibility to promote sarcomere disassembly and cardiomyocyte protrusion during zebrafish heart regeneration [J]. *Circ Res*, 2020, 126(12): 1760-1778.
- [47] MONROE T O, HILL M C, MORIKAWA Y, et al. YAP partially reprograms chromatin accessibility to directly induce adult cardiogenesis *in vivo* [J]. *Dev Cell*, 2019, 48(6): 765-779, e7.
- [48] JIANG M, HU H, ZHAO K, et al. The G4 resolvase RHAU modulates mRNA translation and stability to sustain postnatal heart function and regeneration [J]. *J Biol Chem*, 2021, 296: 100080.
- [49] HAN L, CHOUDHURY S, MICH-BASSO J D, et al. Lamin B2 levels regulate polyploidization of cardiomyocyte nuclei and myocardial regeneration [J]. *Dev Cell*, 2020, 53(1): 42-59, e11.
- [50] WINDMUELLER R, LEACH J P, BABU A, et al. Direct comparison of mononucleated and binucleated cardiomyocytes reveals molecular mechanisms underlying distinct proliferative competencies [J]. *Cell Rep*, 2020, 30(9): 3105-3116, e4.
- [51] YU Z, ZHANG L, CATTANEO P, et al. Increasing mononuclear diploid cardiomyocytes by loss of E2F transcription

- factor 7/8 fails to improve cardiac regeneration after infarct [J]. *Circulation*, 2023, 147(2): 183–186.
- [52] CARDOSO A C, LAM N T, SAVLA J J, et al. Mitochondrial substrate utilization regulates cardiomyocyte cell cycle progression [J]. *Nat Metab*, 2020, 2(2): 167–178.
- [53] XIE J, WANG Y, AI D, et al. The role of the Hippo pathway in heart disease [J]. *FEBS J*, 2022, 289(19): 5819–5833.
- [54] XIN M, KIM Y, SUTHERLAND L B, et al. Hippo pathway effector Yap promotes cardiac regeneration [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2013, 110(34): 13839–13844.
- [55] LI Y, FENG J, SONG S, et al. gp130 controls cardiomyocyte proliferation and heart regeneration [J]. *Circulation*, 2020, 142(10): 967–982.
- [56] MAJIDINIA M, AGHAZADEH J, JAHANBAN-ESFAHLANI R, et al. The roles of Wnt/ β -catenin pathway in tissue development and regenerative medicine [J]. *J Cell Physiol*, 2018, 233(8): 5598–5612.
- [57] QUAIFE-RYAN G A, MILLS R J, LAVERS G, et al. β -Catenin drives distinct transcriptional networks in proliferative and nonproliferative cardiomyocytes [J]. *Development*, 2020, 147(22): dev193417.
- [58] BERTOZZI A, WU C C, HANS S, et al. Wnt/ β -catenin signaling acts cell-autonomously to promote cardiomyocyte regeneration in the zebrafish heart [J]. *Dev Biol*, 2022, 481: 226–237.
- [59] WU Y, ZHOU L, LIU H, et al. LRP6 downregulation promotes cardiomyocyte proliferation and heart regeneration [J]. *Cell Res*, 2021, 31(4): 450–462.
- [60] ZHOU H, ZHANG F, WU Y, et al. LRP5 regulates cardiomyocyte proliferation and neonatal heart regeneration by the AKT/P21 pathway [J]. *J Cell Mol Med*, 2022, 26(10): 2981–2994.
- [61] LIU Y, WANG H, ZHANG H, et al. CUGBP1, a crucial factor for heart regeneration in mice [J]. *Cell Death Dis*, 2022, 13(2): 120.
- [62] LIU S, TANG L, ZHAO X, et al. Yap promotes noncanonical Wnt signals from cardiomyocytes for heart regeneration [J]. *Circ Res*, 2021, 129(8): 782–797.
- [63] KACHANOVA O, LOBOV A, MALASHICHEVA A. The role of the Notch signaling pathway in recovery of cardiac function after myocardial infarction [J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(20): 12509.
- [64] VALIZADEH A, ASGHARI S, MANSOURI P, et al. The roles of signaling pathways in cardiac regeneration [J]. *Curr Med Chem*, 2022, 29(12): 2142–2166.
- [65] YUE Z, CHEN J, LIAN H, et al. PDGFR- β signaling regulates cardiomyocyte proliferation and myocardial regeneration [J]. *Cell Rep*, 2019, 28(4): 966–978, e4.
- [66] WANG Y, LI Y, FENG J, et al. Mydgd promotes Cardiomyocyte proliferation and Neonatal Heart regeneration [J]. *Theranostics*, 2020, 10(20): 9100–9112.
- [67] ZHANG D, NING J, RAMPRASATH T, et al. Kynurenine promotes neonatal heart regeneration by stimulating cardiomyocyte proliferation and cardiac angiogenesis [J]. *Nat Commun*, 2022, 13(1): 6371.
- [68] HORTELLS L, JOHANSEN A K Z, YUTZEY K E. Cardiac fibroblasts and the extracellular matrix in regenerative and nonregenerative hearts [J]. *J Cardiovasc Dev Dis*, 2019, 6(3): 29.
- [69] LI H, BAO M, NIE Y. Extracellular matrix-based biomaterials for cardiac regeneration and repair [J]. *Heart Fail Rev*, 2021, 26(5): 1231–1248.
- [70] BASSAT E, MUTLAK Y E, GENZELINAKH A, et al. The extracellular matrix protein agrin promotes heart regeneration in mice [J]. *Nature*, 2017, 547(7662): 179–184.
- [71] CHEN Z, XIE J, HAO H, et al. Ablation of periostin inhibits post-infarction myocardial regeneration in neonatal mice mediated by the phosphatidylinositol 3 kinase/glycogen synthase kinase 3 β /cyclin D1 signalling pathway [J]. *Cardiovasc Res*, 2017, 113(6): 620–632.
- [72] WU C C, JERATSCH S, GRAUMANN J, et al. Modulation of mammalian cardiomyocyte cytokinesis by the extracellular matrix [J]. *Circ Res*, 2020, 127(7): 896–907.
- [73] DEL MONTE-NIETO G, FISCHER J W, GORSKI D J, et al. Basic biology of extracellular matrix in the cardiovascular system, part 1/4; JACC focus seminar [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2020, 75(17): 2169–2188.
- [74] KORF-KLINGEBIEL M, REBOLL M R, GROTE K, et al. Heparan sulfate-editing extracellular sulfatases enhance VEGF bioavailability for ischemic heart repair [J]. *Circ Res*, 2019, 125(9): 787–801.
- [75] MARÍN-JUEZ R, EL-SAMMAK H, HELKER C S M, et al. Coronary revascularization during heart regeneration is regulated by epicardial and endocardial cues and forms a scaffold for cardiomyocyte repopulation [J]. *Dev Cell*, 2019, 51(4): 503–515, e4.
- [76] MUKHERJEE D, WAGH G, MOKALLED M H, et al. Ccn2a is an injury-induced matricellular factor that promotes cardiac regeneration in zebrafish [J]. *Development*, 2021, 148(2): dev193219.
- [77] EL-SAMMAK H, YANG B, GUENTHER S, et al. A vegfc-Emilin2a-Cxcl8a signaling axis required for zebrafish cardiac regeneration [J]. *Circ Res*, 2022, 130(7): 1014–1029.
- [78] INGASON A B, GOLDSTONE A B, PAULSEN M J, et al. Angiogenesis precedes cardiomyocyte migration in regenerating mammalian hearts [J]. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 2018, 155(3): 1118–1127, e1.
- [79] YAHALOM-RONEN Y, RAJCHMAN D, SARIG R, et al. Reduced matrix rigidity promotes neonatal cardiomyocyte dedifferentiation, proliferation and clonal expansion [J]. *Elife*, 2015, 4: e07455.
- [80] NOTARI M, VENTURA-RUBIO A, BEDFORD-GUAUS S J, et al. The local microenvironment limits the regenerative potential of the mouse neonatal heart [J]. *Sci Adv*, 2018, 4(5):

eao5553.

- [81] CAO J, POSS K D. The epicardium as a hub for heart regeneration [J]. *Nat Rev Cardiol*, 2018, 15(10): 631–647.
- [82] QUIJADA P, TREMBLEY M A, SMALL E M. The role of the epicardium during heart development and repair [J]. *Circ Res*, 2020, 126(3): 377–394.
- [83] SHEN H, GAN P, WANG K, et al. Mononuclear diploid cardiomyocytes support neonatal mouse heart regeneration in response to paracrine IGF2 signaling [J]. *Elife*, 2020, 9: e53071.
- [84] DEL CAMPO C V, LIAW N Y, GUNADASA-ROHLING M, et al. Regenerative potential of epicardium-derived extracellular vesicles mediated by conserved miRNA transfer [J]. *Cardiovasc Res*, 2022, 118(2): 597–611.
- [85] HAN C, NIE Y, LIAN H, et al. Acute inflammation stimulates a regenerative response in the neonatal mouse heart [J]. *Cell Res*, 2015, 25(10): 1137–1151.
- [86] LI Y, LI H, PEI J, et al. Transplantation of murine neonatal cardiac macrophage improves adult cardiac repair [J]. *Cell Mol Immunol*, 2021, 18(2): 492–494.
- [87] WODESDALEK D J, PADDOCK S J, WAN T C, et al. IL-13 promotes *in vivo* neonatal cardiomyocyte cell cycle activity and heart regeneration [J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2019, 316(1): H24–H34.
- [88] BO B, LI S, ZHOU K, et al. The regulatory role of oxygen metabolism in exercise-induced cardiomyocyte regeneration [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2021, 9: 664527.
- [89] MOHAMED T M A, ABOULEISA R, HILL B G. Metabolic determinants of cardiomyocyte proliferation [J]. *Stem Cells*, 2022, 40(5): 458–467.
- [90] PUENTE B N, KIMURA W, MURALIDHAR S A, et al. The oxygen-rich postnatal environment induces cardiomyocyte cell-cycle arrest through DNA damage response [J]. *Cell*, 2014, 157(3): 565–579.
- [91] EGHBALI A, DUKES A, TOISCHER K, et al. Cell cycle-mediated cardiac regeneration in the mouse heart [J]. *Curr Cardiol Rep*, 2019, 21(10): 131.
- [92] LIU S, MARTIN J F. The regulation and function of the Hippo pathway in heart regeneration [J]. *Wiley Interdiscip Rev Dev Biol*, 2019, 8(1): e335.
- [93] TAO G, KAHR P C, MORIKAWA Y, et al. Ptx2 promotes heart repair by activating the antioxidant response after cardiac injury [J]. *Nature*, 2016, 534(7605): 119–123.
- [94] MAGADUM A, SINGH N, KURIAN A A, et al. Pkm2 regulates cardiomyocyte cell cycle and promotes cardiac regeneration [J]. *Circulation*, 2020, 141(15): 1249–1265.

[收稿日期]2023-06-06

(上接第 44 页)

- [22] KUCIA M, JANKOWSKI K, RECA R, et al. CXCR4-SDF-1 signalling, locomotion, chemotaxis and adhesion [J]. *J Mol Histol*, 2004, 35(3): 233–245.
- [23] 李德保, 周莉, 孙祖越. 早发性卵巢功能不全相关信号通路研究进展 [J]. *中国比较医学杂志*, 2020, 30(2): 121–127.
- LI D B, ZHOU L, SUN Z Y. Research advances of premature ovarian insufficiency-related signaling pathways [J]. *Chin J Comp Med*, 2020, 30(2): 121–127.
- [24] CHON S J, UMAIR Z, YOON M S. Premature ovarian insufficiency: past, present, and future [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2021, 9: 672890.
- [25] 陈子江, 田秦杰, 乔杰, 等. 早发性卵巢功能不全的临床诊疗中国专家共识 [J]. *中华妇产科杂志*, 2017, 52(9): 577–581.
- CHEN Z J, TIAN Q J, QIAO J, et al. China expert consensus on clinical diagnosis and treatment of early-onset ovarian insufficiency [J]. *Chin J Obstet Gynecol*, 2017, 52(9): 577–581.
- [26] 许万枫, 苏洁, 翁路安, 等. 孕康口服液对早发性卵巢功能不全小鼠的影响 [J]. *中成药*, 2020, 42(5): 1180–1186.
- XU W F, SU J, WENG L A, et al. Effects of Yunkang Oral Liquid on mice with premature ovarian insufficiency [J]. *Chin Tradit Pat Med*, 2020, 42(5): 1180–1186.
- [27] DUTTA S, SENGUPTA P. Men and mice; relating their ages [J]. *Life Sci*, 2016, 152: 244–248.
- [28] 张芳, 丁怡, 于潇, 等. 补肾养精颗粒调控早发性卵巢功能不全模型大鼠卵巢颗粒细胞凋亡机制研究 [J]. *山东中医药大学学报*, 2022, 46(3): 365–372, 378.
- ZHANG F, DING Y, YU X, et al. Mechanism of Bushen Yangjing Granule in regulating apoptosis of ovarian granulosa cell in model rats with premature ovarian insufficiency [J]. *J Shandong Univ Tradit Chin Med*, 2022, 46(3): 365–372, 378.
- [29] 陈峰荣, 周彤, 尚坤. 二至丸对卵巢早衰大鼠治疗作用及机制的实验研究 [J]. *中华中医药学刊*, 2022, 40(7): 145–149, 271–273.
- CHEN F R, ZHOU T, SHANG K. Experimental study on therapeutic effect and mechanism of erzhi pill on rats with premature ovarian failure [J]. *Chin Arch Tradit Chin Med*, 2022, 40(7): 145–149, 271–273.
- [30] 中华中医药学会, 中药实验药理专业委员会. 雌性不孕症动物模型制备规范(草案) [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2018, 24(19): 25–30.
- Traditional Chinese Medicine Experimental Pharmacology Professional Committee, Medicine CAOC. Specifications for preparation of female infertility animal models (draft) [J]. *Chin J Exp Tradit Med Formulae*, 2018, 24(19): 25–30.

[收稿日期]2023-04-28