

· 综述 ·

心肌细胞增殖影响因素分析*

潘蒙蒙¹ 吴成龙³ 钟书城¹ 湛传红⁵ 惠羽凡⁴ 段艳宇^{2,*}

1. 赣南医学院基础医学院 (江西 赣州 341000)

2. 赣南医学院第一附属医院 (江西 赣州 341000)

3. 赣南医学院第一临床学院 (江西 赣州 341000)

4. 深圳爱湾医学检验实验室 (广东 深圳 518000)

5. 深圳罕见病代谢组学精准医学工程研究中心 (广东 深圳 518000)

【摘要】 心血管疾病是全球死亡的主要原因，其中心力衰竭和急性心肌梗死占比最高。成人的心脏受损后无法再生是阻碍心血管疾病疗效的重要因素。近几年，研究发现通过控制心肌细胞的去分化和增殖能促进心脏再生，为治疗心血管疾病提供了潜在的靶点。因此，了解心肌细胞去分化和增殖的调控机制，寻找促进方法成为心脏再生研究领域的热点。在这里，我们回顾了心肌细胞增殖的方式，简述了影响心肌细胞增殖的因素，探讨了当下心肌细胞增殖研究领域的进展。

【关键词】 心肌细胞；细胞增殖；转录因子；氧化代谢；信号通路

【中图分类号】 R541

【文献标识码】 A

【基金项目】 江西省研究生创新专项资金项目 (YC2021-S803)；国家自然科学基金 (82260332)；深圳市工程研究中心(工程实验室)组建项目 (F-2020-Z99-502615)；深圳市科技创新委员会基础研究学科布局项目 (JCYJ20180507183428877:20180253)

DOI:10.3969/j.issn.1009-3257.2023.05.047

The Impact Factors on Cell Proliferation in Cardiomyocytes*

PAN Meng-meng¹, WU Cheng-long³, ZHONG Shu-cheng¹, ZHAN Chuan-hong⁵, HUI Yu-fan⁴, DUAN Yan-yu².

1. School of Basic Medicine, Gannan Medical University, Ganzhou 341000, Jiangxi Province, China

2. First Affiliated Hospital of Gannan Medical University, Ganzhou 341000, Jiangxi Province, China

3. First Clinical College of Gannan Medical University, Ganzhou 341000, Jiangxi Province, China

4. Shenzhen Aone Medical Laboratory Co., Ltd, Shenzhen 518000, Guangdong Province, China

5. Shenzhen Rare Disease Engineering Research Center of Metabolomics in Precision Medicine, Shenzhen Aone Medical Laboratory Co., Ltd, Shenzhen 518000, Guangdong Province, China

Abstract: Cardiovascular disease is the main cause of death in the world, with heart failure and acute myocardial infarction accounting for the highest proportion. The inability of adult heart to regenerate after injury is an important factor hindering the efficacy of cardiovascular disease. In recent years, studies have found that cardiac regeneration can be promoted by controlling the dedifferentiation and proliferation of myocardial cells, which provides a potential target for the treatment of cardiovascular diseases. Therefore, understanding the regulatory mechanism of cardiomyocyte proliferation and looking for ways to promote cardiomyocyte proliferation have become a hot topic in the field of heart regeneration research. Here, we reviewed the way of cardiomyocyte proliferation, briefly described the factors affecting cardiomyocyte proliferation, and discussed the current progress in the field of cardiomyocyte proliferation.

Keywords: Cardiomyocytes; Cell Proliferation; Transcription Factors; Oxidative Metabolism; Signaling Pathways.

心血管疾病是全球死亡的主要原因^[1]。广泛的心肌细胞死亡导致心室重塑和心力衰竭。成人心脏心肌受损后再生能力有限，不足以使心肌功能恢复；而新生儿心脏损伤后心肌功能可恢复和先天性心脏病心脏手术后儿童无瘢痕的报道提示早期心肌细胞具有再生能力^[2]；可见，人类心肌再生具有年龄依赖性。而低等脊椎动物的心脏则不同，Kenneth D Poss等人发现，成年斑马鱼的心肌能够完全再生^[3]。因此，解析心肌细胞去分化和增殖的机制对于实现并指导人类的治疗策略具有研究价值。近几年，从新生心肌细胞增殖机制着眼进而探讨成年心脏再生是广泛使用的策略。对心肌细胞增殖机制的研究中，主要热点在于转录因子、氧化代谢、信号通路等，然而干预这些靶点促心肌细胞的效果是否具有临床意义仍不清楚，这些干预方法是否有潜在的副作用尚待明确。因此解析影响调控心肌细胞增殖能力的因素，对调控心肌细胞增殖能力的关键因素进一步研究十分关键。本文将对心肌细胞增殖方式及心肌细胞增殖的影响因素展开综述。

1 心肌细胞的来源和再生

哺乳动物胚胎发育早期，心肌细胞来源于中胚层中的祖细胞形成的原始条纹中，随后这些祖细胞逐步分化形成心肌细胞；在后期，心肌细胞开始向初始的成熟状态转变，增殖能力逐渐降低^[4]。出生后，哺乳动物的心肌增殖能力快速丧失。小鼠心肌细胞的增殖能力在出生一周内处于暂时激活状态，并且增殖能力会随着年龄的增加而减弱^[5]。心肌损伤后，哺乳动物心肌再生能力具

有年龄依赖性。Enzo R Porrello等人通过对小鼠切除心尖和手术结扎冠状动脉实验发现，新生小鼠心脏的再生能力在出生后的第一周内丧失^[6]。Enik Lázár等人通过放射性碳(14C)出生日期测定实验表明，即使是在中年和老年人中，人类心脏仍能产生新的心肌细胞，但不足以弥补心脏损伤后心肌组织的极度丧失^[7]。

值得关注的是，Bettencourt-Dias M等人通过对斑马鱼截肢实验和螺旋谱系跟踪研究发现，低等脊椎动物中成年受损心肌，可以通过去分化的心肌细胞的再分化和增殖得到弥补^[8-9]。此后，Senyo等人应用两种不同的脉冲追踪方法即稳定同位素标记的遗传命运图和多同位素成像质谱(MIMS)，发现在成年小鼠的正常心肌稳态及心肌损伤后，新的心肌细胞可由先前存在的心肌细胞产生^[10]。

2 影响心肌细胞增殖的因素

2.1 转录因子 心肌细胞增殖时受到许多转录因子的调控。Spielmann N等人证明，Nkx2-5和Tbx20两种转录因子对早期心脏发育很重要^[11]。Owen W J Prall等人对小鼠的研究表明，在心脏形态发生的最早阶段，Nkx2-5与Bmp2和Smad1一起在负反馈回路中调节心脏祖细胞池的规模和分化之间的时间平衡^[12]。Cornelis J Boogerd等人通过对小鼠胚胎的研究发现，Tbx20是驱动心脏祖细胞形成的关键组成部分，细胞周期分析表明Tbx20突变会导致心肌细胞的增殖减少及其在G1-S相变时期的停滞^[13]。Ahmed I Mahmoud等人对大鼠新生儿心肌细胞研究发现，Meis1与出生后早期心肌细胞增殖有关，在出生后

【第一作者】潘蒙蒙，女，硕士研究生，主要研究方向：心血管罕见病。E-mail: 1046084197@qq.com

【通讯作者】段艳宇，女，副教授，主要研究方向：心血管罕见病。E-mail: hugrainbow@dingtalk.com

第7天的表达增加^[14]。Meis1缺失会刺激周期正调控因子如检查点激酶1和细胞周期蛋白D2等的上调,可以将出生后新生儿心肌细胞增殖的窗口期从7天延长至14天^[15]。Nguyen NUN等人采用免疫沉淀和邻近结扎试验在对小鼠心脏的研究中发现同源盒蛋白Hoxb13在出生后心肌细胞增殖中充当Meis1的辅助因子,与Meis1有相似的表达模式。缺失Hoxb13在出生后第7天可延长心肌细胞增殖的窗口期,重新激活成人心脏中的心肌细胞周期^[16]。

成纤维细胞生长因子(FGF)在心脏发育中发挥关键功能。FGF通过影响第二心区来影响流出道的形成,在正常形态发生中发挥核心作用。FGF家族中的FGF3、FGF8、FGF10和FGF15/19在胚胎心脏发育中主要以旁分泌信号发挥作用,参与胎儿心肌细胞增殖的调节^[17]。Karin Jennbacken等人研究发现,FGF16特异性诱导心脏祖细胞的增殖并诱导人心肌细胞中的细胞周期活性^[18]。Fabien Hubert等人通过对小鼠心肌梗死(MI)模型的研究发现,Fgf10表达降低导致成年小鼠MI后心肌细胞增殖受损,心肌纤维化增强。Fgf10上调可以增强心肌细胞增殖和防止瘢痕,这些实验表明FGF10是一个潜在的临床靶点,可以促进心脏修复和再生^[19]。

2.2 非编码RNA 非编码RNA(Non-coding RNA)如长链非编码RNA(lncRNA)和小分子RNA(miRNA)在心肌细胞增殖过程中发挥着重要的作用。Ning Liu等人对新生和成年小鼠的研究表明,一种新的富含心肌细胞的长链非编码RNA,在心肌细胞增殖过程中参与转录和转录后调节过程,对成人心脏稳态至关重要^[20]。Feng Gao等人通过对成年小鼠心脏的研究发现,miR-19a/19b可增强心肌细胞增殖并刺激心肌再生,以应对MI损伤^[21]。miR-195通过直接抑制细胞周期基因刺激出生后心肌细胞退出细胞周期,从而抑制细胞增殖;而miR-195-5p敲低则减轻了缺氧/有氧诱导的心肌细胞损伤^[22]。miR-20、miR-30、miR-141通过抑制Cyclin-A2,并且上调CDK抑制剂以及负性细胞周期调节剂的表达来抑制心肌细胞增殖^[23]。

2.3 氧化代谢 环境缺氧、缺氧诱导的细胞信号和线粒体代谢也是脊椎动物心肌细胞周期和心脏再生的关键调节因子。最近,Lincai Ye等人发现,中度缺氧(75%~85%)能减少线粒体氧化DNA损伤,降低DNA损伤反应,促进心肌细胞增殖。轻度缺氧(>85%)和重度缺氧(<75%)会增加DNA损伤,导致细胞周期停滞^[24]。线粒体活性氧(ROS)对心肌细胞增殖有不同的效果,Ratul Datta Chaudhuri通过对大鼠心肌细胞的研究发现,ROS积累增加可以激活ERK-1/2,稳定细胞核内缺氧诱导因子-1即HIF-1 α 的表达量,促进bnip3介导的细胞凋亡。而ROS的表达量降低会下调ERK-1/2活性,从而抑制bnip3的表达而抑制细胞凋亡^[25]。

代谢过程和代谢物与哺乳动物心肌的再生有紧密的联系。Jiyoung Bae等人通过对新生小鼠心脏的研究发现,对出生一周内的小鼠注射琥珀酸盐可导致心肌细胞周期过早退出,从而抑制新生儿心脏再生反应,高水平的琥珀酸盐可以诱导心肌细胞DNA损伤,降低先前存在的心肌细胞的增殖潜力。丙二酸通过抑制琥珀酸脱氢酶活性将代谢向糖酵解转变,促进成人心肌梗死后的心肌细胞的增殖和心脏再生^[26]。此外,新生儿早期,脂肪酸 β 氧化在促进新生小鼠心脏的心肌细胞增殖和肥厚生长中起着至关重要的作用。Tongtong Cao等人研究发现,小鼠在出生后2~5天时,心肌细胞代谢从糖酵解转向脂肪酸 β 氧化;如果抑制脂肪酸 β 氧化或增强糖酵解,可以实现维持新生小鼠心肌细胞增殖的能力^[27]。

2.4 信号通路 影响心肌细胞增殖的信号通路主要有Hippo、Wnt/ β -Catenin和Notch信号通路等。Hippo通路是一种核心激酶级联反应,激活时会负调节转录共激活因子YAP及其较小的旁系同源物TAZ。Hippo途径失活时,YAP去磷酸化并易位到细胞核中,与TEAD转录共激活因子结合,从而刺激基因表达,有助于细胞存活、迁移和增殖^[28]。此外,Jaemin Byun等人通过对小鼠的心脏研究发现,YAP的下调作用减弱了压力超负荷期间心脏肥大的程度,同时增加了左心室壁应激,心肌细胞细胞的凋亡和心功能不全^[29]。

Wnt/ β -Catenin信号通路在进化上高度保守,主要参与器官发育、损伤修复、组织重塑和炎症,在心脏发育和正常心脏稳态中均起核心作用。Gregory A Quaife-Ryan等人研究发现, β -Catenin在未成熟和成熟的心肌细胞中具有不同的作用。 β -Catenin驱动细胞周期相关的基因网络,促进未成熟新生小鼠心肌细胞和人多能干细胞-心肌细胞的增殖。虽然不能促进成人心肌细胞增殖,改善了心肌梗死后的疤痕大小,起到了保护心脏的效应^[30]。在心脏发育中,Wnt信号通路的GSK-3 β 通过激活细胞周期和相关转录因子的机制,如Cyclin D1、Gata4、NF-AT家族和c-Myc,促进心肌细胞增殖^[31]。

Notch信号传导在心肌损伤后的心肌细胞增殖中起着重要作用。Wenyuan Wang等人通过对斑马鱼的研究发现,阻断Notch信号传导可能致使增殖性心肌细胞的数量普遍减少,最终导致细胞周期在G0/G1期停滞。Notch信号也能通过激活Bmp信号传导,从而促进心肌细胞重编程和心脏再生^[32]。此外,神经调节蛋白(NRG)可以诱导心肌细胞增殖;Long Zhao等人研究发现,Notch信号传导通过间接控制NRG影响心肌细胞增殖。并且,Notch信号的过度激活也抑制了心肌细胞的增殖,这意味着心肌细胞增殖性更新可能对Notch信号的干扰较为敏感^[33]。

3 小结与展望

心肌细胞去分化和增殖是一个严格调节的过程。尽管心肌细胞增殖和分化方面的研究取得了一定进展,为寻求通过心肌再生策略修复成人受损心脏提供了新知识,但仍然面临诸多挑战。这篇综述论述了转录因子、氧化代谢、信号通路和小RNA在调节心肌细胞增殖和心脏再生中的关键作用。值得注意的是这些机制中的大多数似乎都集中在对细胞周期和细胞周期蛋白的调控上;这提示细胞周期和细胞周期蛋白在心肌再生和调控心肌细胞增殖方面的研究具有临床转化前景。

参考文献

- [1] Roth G A, Johnson C, Abajobir A, et al. Global, Regional, and National Burden of Cardiovascular Diseases for 10 Causes, 1990 to 2015[J]. J Am Coll Cardiol, 2017, 70(1): 1-25.
- [2] Fratz S, Hager A, Schreiber C, et al. Long-term myocardial scarring after operation for anomalous left coronary artery from the pulmonary artery[J]. Ann Thorac Surg, 2011, 92(5): 1761-1765.
- [3] Poss K D, Wilson L G, Keating M T. Heart regeneration in zebrafish[J]. Science, 2002, 298(5601): 2188-2190.
- [4] Sereti K I, Nguyen N B, Kamran P, et al. Analysis of cardiomyocyte clonal expansion during mouse heart development and injury[J]. Nat Commun, 2018, 9(1): 754.
- [5] Bishop S P, Zhou Y, Nakada Y, et al. Changes in Cardiomyocyte Cell Cycle and Hypertrophic Growth During Fetal to Adult in Mammals[J]. J Am Heart Assoc, 2021, 10(2): e17839.
- [6] Porrello E R, Mahmoud A I, Simpson E, et al. Transient regenerative potential of the neonatal mouse heart[J]. Science, 2011, 331(6020): 1078-1080.
- [7] Lazar E, Sadek H A, Bergmann O. Cardiomyocyte renewal in the human heart: insights from the fall-out[J]. Eur Heart J, 2017, 38(30): 2333-2342.
- [8] Jopling C, Sleep E, Raya M, et al. Zebrafish heart regeneration occurs by cardiomyocyte dedifferentiation and proliferation[J]. Nature, 2010, 464(7288): 606-609.
- [9] Bettencourt-Dias M, Mittnacht S, Brookes J P. Heterogeneous proliferative potential in regenerative adult newt cardiomyocytes[J]. J Cell Sci, 2003, 116(Pt 19): 4001-4009.
- [10] Senyo S E, Steinhauser M L, Pizzimenti C L, et al. Mammalian heart renewal by pre-existing cardiomyocytes[J]. Nature, 2013, 493(7432): 433-436.
- [11] Spielman M, Miller G, Oprea T I, et al. Extensive identification of genes involved in congenital and structural heart disorders and cardiomyopathy[J]. Nat Cardiovasc Res, 2022, 1(2).
- [12] Prall O W, Menon M K, Sollway M J, et al. An Nkx2-5/Bmp2/Smad1 negative feedback loop controls heart progenitor specification and proliferation[J]. Cell, 2007, 128(5): 947-959.
- [13] Boogerd C J, Zhu X, Aneas I, et al. Tbx20 Is Required in Mid-Gestation Cardiomyocytes and Plays a Central Role in Atrial Development[J]. Circ Res, 2018, 123(4).
- [14] Mahmoud A I, Kocabas F, Muralidhar S A, et al. Meis1 regulates postnatal cardiomyocyte cell cycle arrest[J]. Nature, 2013, 497(7448): 249-253.
- [15] Paul S, Zhang X, He J Q. Homeobox gene Meis1 modulates cardiovascular regeneration[J]. Semin Cell Dev Biol, 2020, 100: 52-61.
- [16] Nguyen N, Canseco D C, Xiao F, et al. A calcineurin-Hoxb13 axis regulates growth mode of mammalian cardiomyocytes[J]. Nature, 2020, 582(7811): 271-276.
- [17] Khosravi F, Ahmadvand N, Bellusci S, et al. The Multifunctional Contribution of FGF Signaling to Cardiac Development, Homeostasis, Disease and Repair[J]. Front Cell Dev Biol, 2021, 9: 672935.
- [18] Jennbacken K, Wagberg F, Karlsson U, et al. Phenotypic Screen with the Human Secretome Identifies FGF16 as Inducing Proliferation of iPSC-Derived Cardiac Progenitor Cells[J]. Int J Mol Sci, 2019, 20(23): 6037.
- [19] Hubert F, Payan S M, Pelce E, et al. FGF10 promotes cardiac repair through a dual cellular mechanism increasing cardiomyocyte renewal and inhibiting Fibrosis[J]. Cardiovasc Res, 2022, 118(12): 2625-2637.
- [20] Liu N, Kataoka M, Wang Y, et al. LncRNA LncRt preserves cardiac metabolic homeostasis and heart function by modulating the LKB1-AMPK signaling pathway[J]. Basic Res Cardiol, 2021, 116(1): 48.
- [21] 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.
- [22] Fisher L. Retraction: Long noncoding RNA ANRIL protects cardiomyocytes against hypoxia/reoxygenation injury by sponging miR-195-5p and upregulating Bcl-2[J]. RSC Adv, 2021, 11(11): 6238.
- [23] Zhang Y, Matsushita N, Eigler T, et al. Targeted MicroRNA Interference Promotes Postnatal Cardiac Cell Cycle Re-Entry[J]. J Regen Med, 2013, 2: 2.
- [24] Ye L, Qiu L, Feng B, et al. Role of Blood Oxygen Saturation During Post-Natal Human Cardiomyocyte Cell Cycle Activities[J]. JACC Basic Transl Sci, 2020, 5(5): 447-460.
- [25] Datta C R, Banerjee D, Banik A, et al. Severity and duration of hypoxic stress differentially regulates HIF-1 α -mediated cardiomyocyte apoptotic signaling milieu during myocardial infarction[J]. Arch Biochem Biophys, 2020, 690: 108430.
- [26] Bae J, Salamon R J, Brandt E B, et al. Malonate Promotes Adult Cardiomyocyte Proliferation and Heart Regeneration[J]. Circulation, 2021, 143(20): 1973-1986.
- [27] Cao T, Liccardo D, LaCanna R, et al. Fatty Acid Oxidation Promotes Cardiomyocyte Proliferation Rate but Does Not Change Cardiomyocyte Number in Infant Mice[J]. Front Cell Dev Biol, 2019, 7: 42.
- [28] Heng B C, Zhang X, Aubel D, et al. An overview of signaling pathways regulating YAP/TAZ activity[J]. Cell Mol Life Sci, 2021, 78(2): 497-512.
- [29] Byun J, Del R D, Zhai P, et al. Yes-associated protein (YAP) mediates adaptive cardiac hypertrophy in response to pressure overload[J]. J Biol Chem, 2019, 294(10): 3603-3617.
- [30] Quaife-Ryan G A, Mills R J, Lavers G, et al. beta-Catenin drives distinct transcriptional networks in proliferative and nonproliferative cardiomyocytes[J]. Development, 2020, 147(22): dev193417.
- [31] Singh A P, Umbarkar P, Guo Y, et al. Inhibition of GSK-3 to induce cardiomyocyte proliferation: a recipe for in situ cardiac regeneration[J]. Cardiovasc Res, 2019, 115(1): 20-30.
- [32] Wang W, Hu Y F, Pang M, et al. BMP and Notch Signaling Pathways Differentially regulate Cardiomyocyte Proliferation during Ventricle Regeneration[J]. Int J Biol Sci, 2021, 17(9): 2157-2166.
- [33] Zhao L, Borikova A L, Ben-Yair R, et al. Notch signaling regulates cardiomyocyte proliferation during zebrafish heart regeneration[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2014, 111(4): 1403-1408.

(收稿日期: 2022-11-12)

(校对编辑: 姚丽娜)