

·特约综述·

## 哺乳动物心肌代谢与心脏再生

谭静<sup>1,2,3</sup>, 蔡卫斌<sup>1,2,3</sup>

(1. 中山大学中山医学院生物化学与分子生物学系; 2. 中山大学实验动物中心; 3. 广东省疾病模式动物技术研究中心, 广东广州 510080)



**作者简介:**蔡卫斌, 医学博士, 中山大学中山医学院教授、博士生导师。现任中山大学实验动物中心执行主任、中山大学深圳校区实验动物中心主任、广东省疾病模式动物工程技术研究中心主任, 兼任中山大学实验动物使用与管理委员会(IACUC)执行主席、中山大学实验室安全委员会委员、广东省实验动物学会常务副理事长、广东省医学会心血管病分会基础学组委员、中国实验动物学会实验动物标准化专业委员会常务委员、中国实验动物学会实验动物设备工程专业委员会委员、中国实验动物学会实验动物模型鉴定与评价工作委员会委员、国家规划教材《医学实验动物学》(第3版, 研究生用)副主编、国家规划教材《实验动物学》(第3版, 本科生用)副主编。主要致力于心脏发育与损伤修复的分子基础研究、疾病模式动物研发与标准化, 并注重以临床重大疾病为导向的应用基础研究。近年来在 *Nat Commun*、*Cell Reports*、*Circulation Research*、*Theranostics*、*Development* 等期刊发表SCI论文50余篇(第一作者或通讯作者24篇), 发明专利和著作权授权6项。主持国家自然科学基金7项、国家科技重大专项分题2项、省部级基金共10余项, 获资助科研经费800多万元。曾获教育部自然科学奖和广东省科学技术奖(二等奖, 第三完成人)等奖励, 入选广东省高等学校千百十工程培养对象, 获得2020年度中国实验动物学会“优秀青年人才奖”。  
E-mail: caiwb@mail.sysu.edu.cn。

**摘要:**心血管疾病是目前全球重大的公共卫生问题, 其中冠心病及急性心梗为主的心血管病死亡率处于持续上升阶段。由于成年哺乳动物心肌细胞的增殖能力非常有限, 目前的治疗方法均无法逆转心肌受损后大量心肌细胞的丢失。哺乳动物心肌细胞的能量代谢胚胎期以糖酵解为主逐渐转变为出生后的脂肪酸氧化为主, 而出生前后心肌细胞的能量代谢转变与其增殖能力变化高度相关。近几年来, 通过诱导心肌细胞的代谢重编程促进心脏再生是心血管研究领域的前沿及热点。本文将就心肌细胞的生物学特性、诱导心肌再生的策略与研究进展, 以及心脏代谢在其中的重要作用进行综述及展望。

**关键词:**心肌细胞能量代谢; 心脏再生; 代谢重编程; 心肌损伤与修复

中图分类号: R34

文献标志码: A

文章编号: 1672-3554(2023)04-0560-10

DOI: 10.13471/j.cnki.j.sun.yat-sen.univ(med.sci).2023.0403

## Cardiomyocyte Energy Metabolism in Mammalian Cardiac Regeneration

TAN Jing<sup>1,2,3</sup>, CAI Wei-bin<sup>1,2,3</sup>

(1. Department of Biochemistry and Molecular Biology, Zhongshan School of Medicine, Sun Yat-sen University; 2. Laboratory Animal Center of Sun Yat-sen University; 3. Institute of Guangdong Engineering and Technology Research Center for Disease-Model Animals, Guangzhou 510080, China)

Correspondence to: CAI Wei-bin; E-mail: caiwb@mail.sysu.edu.cn

**Abstract:** Cardiovascular disease, such as coronary heart disease and acute myocardial infarction, is a leading cause of death globally. Due to the limited proliferative and regenerative capacity of adult mammalian cardiomyocytes (CMs),

收稿日期: 2023-02-14

基金项目: 国家自然科学基金(82170261; 81970219; 82200289); 广东省自然科学基金(2021A1515110233)

any of the current therapies cannot reverse the massive loss of CMs and subsequent fibrosis resulting from cardiac injury. Mammals mainly rely on glycolysis in the embryonic stage and fatty acid oxidation after birth for energy production. Recent reports have indicated that this metabolic pattern switch is closely related to the loss of CM proliferation. In this review, we summarize the biological characteristics of CMs and advances in heart regeneration, meanwhile shed light on the important role of CMs energy metabolism in cardiac regeneration.

**Key words:** cardiomyocyte energy metabolism; cardiac regeneration; metabolic reprogramming; myocardial injury and repair

[J SUN Yat-sen Univ(Med Sci), 2023, 44(4): 560-569]

## 1 前言

《中国心血管健康与疾病报告 2021》显示,心血管病死亡仍是城乡居民死亡原因的首位,并呈逐步上升趋势,其中农村为 46.74%,城市为 44.26%。心血管病已成为近几十年来的重大公共卫生问题,加强心血管病的防治工作刻不容缓。虽然近年来的抗心衰、降脂、抗凝药物和心脏植入器械研究取得突破,大大降低患者死亡率、延长生存时间<sup>[1]</sup>,但成年哺乳动物心肌细胞的增殖能力非常有限,目前的治疗方法无法逆转心肌受损后大量心肌细胞的丢失,心肌梗死后心力衰竭的长期预后仍然很差<sup>[2]</sup>。若能启动心肌的再生和修复以替换梗死的心肌,将有望从根本上治愈心肌梗死乃至其他心脏疾病,是目前心血管领域的研究前沿和热点。本文将就心肌细胞的生物学特性、诱导心肌再生的策略与研究进展,以及心脏代谢在其中的重要作用进行综述。

## 2 心肌细胞生物学特性

心肌细胞、骨骼肌细胞和平滑肌细胞均为肌细胞,胞内含有大量肌丝且具有收缩能动性,是机体维持运动、消化、呼吸、循环、排泄等生理活动的动力来源<sup>[3]</sup>。区别于其他肌细胞,为满足心脏作为不停做功的动力泵维持全身血液循环,保障各组织器官的氧气及营养物质供应,心肌细胞具备独特的生物学特性。兴奋性、传导性、收缩性和自动节律性是心肌细胞的电生理特性,而心室肌细胞持续的搏动决定了其对能量的高需求,必须通过不断产生能量以维持其收缩功能<sup>[4]</sup>;在出生后的肝脏中,线粒体氧化代谢满足了心脏 90% 以上的能量需求,其中

脂肪酸氧化是最重要的来源,仅有 10% 来源于葡萄糖、乳酸、酮体和氨基酸等能量底物,但这也增加了其能量代谢的可塑性<sup>[5]</sup>。此外,心肌细胞由胚胎期的增生性生长转变为出生后的肥大性生长,其增殖能力急剧下降,曾经一度被认为是“终末分化的细胞”<sup>[6]</sup>。

综上所述,除了传统的电生理特性,我们总结了成熟哺乳动物心肌细胞具有的 3 种生物学特性,即持续节律性搏动、脂肪酸氧化为主的能量代谢模式以及十分有限的增殖能力。3 者间是否存在内在联动机制和相互调控能力,并借此寻找诱导心肌再生的策略,是目前心脏再生研究领域亟须回答和解决的问题。

## 3 内源性心肌再生进展

### 3.1 哺乳动物心肌细胞具备增殖能力和短暂的再生窗口期

近几十年来,哺乳动物心脏再生研究有了突破性进展,越来越多研究有力地证明了心肌细胞在哺乳动物的整个生命周期中均存在自我更新能力。Bergmann 等<sup>[2]</sup>利用冷战时期核爆炸产生 <sup>14</sup>C,检测其掺入人类心肌细胞 DNA 后的变化速率,揭示了人类成人心脏中心肌细胞仍具备每年 0.3%~1% 的更新率。此外,有学者利用 <sup>15</sup>N 同位素成像质谱标记和鉴定小鼠心脏中心肌细胞的更替,揭示了正常衰老过程及心肌损伤后的心肌细胞更新主要通过原位心肌细胞的增殖分裂完成<sup>[2]</sup>。

尽管成熟心肌细胞的增殖能力有限,但胚胎期及新生儿哺乳动物心脏仍具有较强的再生能力。在胎儿阶段,心肌细胞具备增殖能力,能够实现完全胞质分裂,促进心脏的增生性生长。出生后,对

新生小鼠或新生猪进行心尖切除术,均发现其在一定时间窗内可实现心肌的完全再生<sup>[7-9]</sup>。在人类心脏中,患有左冠状动脉异常起源于肺动脉综合征(anomalous origin of left coronary artery from the pulmonary artery, ALCAPA)(又称 Bland-White-Garland 综合征)导致心肌缺血的新生儿在一岁之前进行冠状动脉畸形矫正手术,可实现心脏形态及功能的完全恢复,但延迟治疗则通常会导致缺血性心脏病<sup>[10]</sup>;一名患有严重心力衰竭继发扩张性心肌病的8月龄的新生儿,在接受了异位心脏移植治疗并同时保留自体心脏约10年后,自体心脏完全恢复正常功能,最终摘除供体心脏<sup>[11]</sup>;以上临床案例支持新生儿心脏亦具有一个早期的再生窗口期。因此,明确哺乳动物心脏在发育过程中心肌细胞逐渐退出增殖周期的原因,诱导心肌细胞细胞周期的再进入和分裂以促进受损心脏的再生性修复,对改善心肌梗死患者的预后至关重要。

### 3.2 哺乳动物心肌细胞成熟转化与心肌再生的关系

哺乳动物心肌细胞从胚胎期至出生后的成熟转化过程,经历了包括基因表达转变:如细胞周期蛋白及激酶相关基因表达下调、周期蛋白抑制因子表达上调、肌节相关蛋白亚型转换、代谢酶相关蛋白亚型转换等;结构转变:由增生性生长转变为肥大性生长、心肌细胞形态由多边形变为细长形、微观结构中肌丝结构由不规则转变为致密排列、线粒体含量增加及成熟、细胞由单核二倍体转变为多核多倍体,且核孔数量逐渐减少等;微环境转变:氧浓度、激素变化等;新陈代谢转变:由胚胎期糖酵解为主转变为出生后脂肪酸氧化为主等多种因素的变化<sup>[6]</sup>。哺乳动物心肌细胞成熟转变是否以增殖能力丧失为代价,最终导致心脏损伤后无法再生修复,干预这种转变能否重启心脏再生是研究者们关注的重点。

3.2.1 细胞周期相关基因表达调控与心肌再生为促进心肌细胞的增殖,最直接的手段即调控细胞周期相关因子,诱导心肌细胞重新进入细胞周期。Mohamed 等<sup>[12]</sup>通过筛选在胚胎期心肌细胞中高表达的细胞周期相关蛋白,发现同时过表达 CDK1(cyclin dependent kinase 1)、CDK4(cyclin dependent kinase 4)、Cyclin B 和 Cyclin D 可以诱导成年小鼠、大鼠和人心肌细胞的细胞周期再进入。结果表明同时诱导上述四种周期蛋白,可促进 15%~20%

成年心肌细胞的持续增殖进而显著改善心肌梗死后的的心脏收缩功能。

此外在参与细胞周期蛋白表达调控的相关转录因子中,TBX20 可以促进成年小鼠心脏中 Cyclin D1 及 Cyclin E1 的表达,增强 G1/S 期的转化,最终促进成年心肌细胞增殖<sup>[13]</sup>;髓系嗜亲性病毒整合位点 1(myeloid ecotropic viral integration site 1, Mesi1)则通过促进周期蛋白抑制因子 p21,参与心肌细胞的细胞周期停滞,通过条件性敲除心脏中的 Mesi1 可以诱导成年小鼠心肌细胞重新进入细胞周期<sup>[14]</sup>。因此,过表达关键细胞周期蛋白或下调周期抑制蛋白是诱导心肌再生的可行方法。

3.2.2 心肌细胞结构转变与心肌再生 在出生后,Hippo/YAP 信号通路是抑制细胞生长、控制器官大小,使心脏由增生性生长转变为肥大性生长最核心的信号通路。Heallen 等<sup>[15]</sup>发现,Hippo 通路通过抑制 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路影响心肌细胞的增殖并且控制心脏的大小。YAP 作为 Hippo 通路中的关键转录因子,抑制其磷酸化可使其入核促进增殖基因转录,心脏特异过表达 YAP 可促进梗死小鼠的心脏再生,进而提高梗死小鼠的心功能和生存率<sup>[16-17]</sup>。

哺乳动物出生后心脏由增生性生长转变为肥大性生长,无法完成胞质分裂,使得心肌细胞通过多核化或多倍体化增加其 DNA 含量。有趣的是,大部分具备心脏再生能力的物种如斑马鱼、蝾螈,其心肌细胞主要为单核二倍体。这提示心肌细胞的多核、多倍体化可能与其增殖能力的丢失有密切的关系。Patterson 等<sup>[18]</sup>系统性统计分析了 120 种不同品系小鼠的心肌细胞,发现即使同一物种其单核心肌细胞比例也存在差异,其中差异最大的两个小鼠品系间的相差倍数高达 7 倍以上,且单核心肌细胞比例较高的品系心肌增殖能力相对较强。同样的现象在斑马鱼中也得到证实,上皮细胞转化因子 2(epithelial cell transforming 2, Ect2)的功能缺失可致斑马鱼多倍体心肌细胞的比例增加,抑制了斑马鱼的心脏再生能力<sup>[19]</sup>。此外,核纤层蛋白 B2(lamin B2)的缺失也可导致多倍体心肌细胞的增加,从而抑制心脏的再生能力<sup>[20]</sup>。

最新研究指出,在心脏发育过程中,胎儿-新生儿-成年期心肌细胞的核孔数量由平均 1 856 个减少到 1 040 个再减少至平均仅 678 个,因此,成熟心肌细胞的核孔减少了近 63%,这意味着到达细胞核

的增殖转录信息交换越来越少,进而使心肌细胞在出生后逐渐退出细胞周期。其中Lamin B2的过表达可促进核孔数量增加,反之则减少<sup>[21]</sup>。

**3.2.3 心肌细胞微环境变化与心肌再生** 哺乳动物从胚胎期到出生后,生存环境中氧浓度由相对缺氧转变为富氧。有研究团队关注到这一明显的差异,并证实了哺乳动物出生后的富氧环境是造成心肌细胞细胞周期阻滞的重要原因。其中的机制是出生后心脏心肌细胞的线粒体呼吸增强,由此产生大量活性氧造成心肌细胞的DNA损伤,从而导致细胞周期阻滞<sup>[22-23]</sup>。针对这一发现,该研究团队进一步将成年小鼠置于7%氧浓度的低氧环境中饲养,观察发现低氧环境明显降低心肌细胞活性氧含量,减轻其DNA损伤,从而促进其增殖,同时还促进心脏血管新生,实现成年小鼠心脏损伤后的心脏再生和修复<sup>[24]</sup>。

除氧浓度外,哺乳动物出生后循环血液中甲状腺素T3的水平也急剧增加,且有文献报道,给予早产绵羊新生儿一定浓度的甲状腺素T3以模拟围产期环境浓度,可以诱导心肌细胞的成熟转化,如细胞肥大、细胞核多倍体及增殖率降低等<sup>[25-26]</sup>。Hirose等<sup>[27]</sup>通过对41个物种心脏中二倍体心肌细胞的比例、基础代谢率和体温的关联性分析,发现血液中甲状腺素水平与心肌细胞增殖能力之间呈现明显负相关的关系,通过抑制甲状腺激素相关信号通路可减少小鼠心肌细胞的多倍体化,延缓细胞周期的退出,促进成年小鼠心脏再生。相反,额外添加甲状腺激素则抑制了斑马鱼心脏再生。该研究提出,哺乳动物心脏再生能力的丧失,是恒温动物为适应环境,在进化过程中由于对甲状腺激素产热的依赖而做出的权衡取舍。

综上所述,我们总结了在心肌细胞成熟转化过程中,基因调控、结构转变及环境变化对心肌增殖能力的影响。随着机体的快速生长,心脏重量与体重的比例在出生后逐渐降低,使得心肌细胞需要通过心肌细胞结构、兴奋收缩偶联和能量代谢的转变来适应出生后心脏的高耗能状态。因此心脏的代谢状态也发生了巨大的变化,主要表现为由糖酵解为主的氧化供能转变为以脂肪酸 $\beta$ 氧化为主的线粒体氧化磷酸化供能。在胚胎期,心肌细胞增殖能力旺盛,具有心肌细胞增殖所需生物合成代谢的需求,而这些合成途径中的代谢底物大多由糖酵解代谢过程中产生,这凸显了糖酵解途径在心肌再生过

程中的重要性<sup>[5]</sup>。因此我们在下一章节中将详细阐述目前关于心肌细胞能量代谢与心脏再生的研究进展。

## 4 代谢是重启心肌再生之门的“钥匙”吗?

### 4.1 心肌细胞的能量代谢

心脏在胚胎发育早期就建立起血液循环,如小鼠心脏约在妊娠第8天,人类心脏约在妊娠第22天或更早开始收缩<sup>[28]</sup>。此时胎儿心脏利用葡萄糖、乳酸作为主要能量来源和生物合成的碳源,而循环中甘油三酯、脂肪酸、酮体的含量则很低<sup>[4]</sup>。此时未成熟的心肌细胞利用碳水化合物作为主要的能量底物,大约50%的ATP来源于无氧糖酵解,其次,葡萄糖氧化及乳酸可通过转化为丙酮酸,通过线粒体氧化磷酸化产生能量<sup>[29]</sup>。在出生后,为适应环境及生长压力变化,心肌细胞发生代谢重构。新生儿主要利用乳酸氧化供能,然而出生7d后,糖酵解水平及血乳酸含量降低,丙二酰CoA作为肉毒碱棕榈酰转移酶1(carnitine palmitoyl transferase1, CPT1)的强效抑制剂,出生后含量也急剧下降,促使脂肪酸氧化代谢随之增强<sup>[30]</sup>。新生儿时期代谢从糖酵解到氧化磷酸化的转变是心脏持续搏动收缩的基础,成熟的心脏可利用多种代谢底物如脂肪酸、葡萄糖、乳酸、酮体、氨基酸等维持其超高的能量需求,其中利用脂肪酸作为主要能量底物,大约80%的能量由线粒体进行脂肪酸 $\beta$ 氧化提供。正常成人心肌细胞中,产生的60%以上的ATP用于维持其节律性收缩,其次是支持心肌肌浆网Ca<sup>2+</sup>-ATP酶(sarcoplasmic reticulum Ca<sup>2+</sup>-ATPase, SERCA)和其他离子转运蛋白的活性<sup>[31]</sup>(图1)。

### 4.2 心肌细胞能量代谢在心脏再生中的作用

近几年逐渐有文献报道表明促进成年心肌细胞的糖代谢水平及糖代谢关键酶表达,如上调葡萄糖转运体1(glucose transporter protein type 1, Glut1)<sup>[32]</sup>,M2型丙酮酸激酶(M2-pyruvate kinase, PKM2)<sup>[33]</sup>,可促进心肌细胞增殖;相反,抑制脂肪酸代谢可促进出生后心肌细胞的分裂,通过给予新生小鼠饲喂缺乏脂肪酸的乳汁,可延长心肌细胞增殖的时间窗<sup>[34]</sup>。因此,出生后心肌细胞的能量代谢重编程与心肌细胞增殖能力的丢失密切相关。

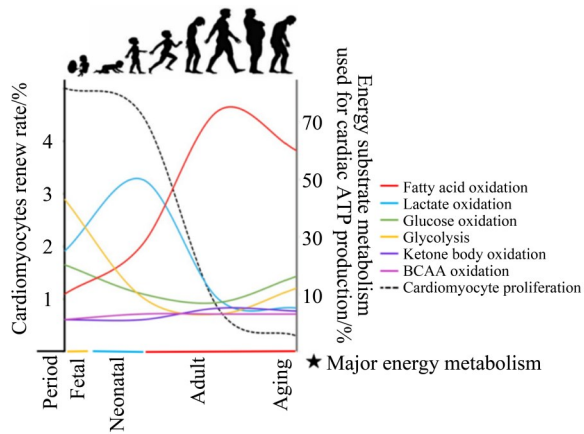


图1 不同发育阶段心脏能量代谢变化与心肌细胞更新速率  
Fig. 1 Variation in cardiac energy metabolism and cardiomyocyte turnover rate at different developmental stages

4.2.1 心脏发育中的代谢转变 为深入探究心肌细胞能量代谢与其增殖能力之间的关系,有三个研究团队,都利用了转录组学、蛋白质组学和代谢组学的多组学联合分析,系统性观察心脏的代谢酶及代谢产物变化及与其增殖停滞的相关性(表1)。其中Lalowski等<sup>[35]</sup>检测出生后1 d和7 d的小鼠心肌组织,结果显示,7日龄新生小鼠心脏中脂肪酸转运及 $\beta$ 氧化的关键酶上调,明确出生后小鼠心脏发生由糖酵解转向脂肪酸氧化的代谢重编程,同时伴随着活性氧及氧化应激标志物的显著增加,此外还提出1日龄小鼠糖酵解及糖原合成旺盛,有益于细胞增殖所需的细胞膜生物合成等的增加。果糖及果糖驱动的糖酵解增强是新生小鼠心脏的关键

代谢途径,并提出这些差异可能是新生小鼠心脏逐渐退出增殖周期的观点;另一研究团队Talman等<sup>[36]</sup>则分析了心脏四个时间点(1、4、9、23 d)的基因、蛋白及代谢物的变化情况,筛选出151种显著变化的代谢物。除糖酵解的下降及脂肪酸氧化的增加外,研究还发现羟甲基戊二酰辅酶A合成酶(hydroxymethylglutaryl coenzyme a synthase, HMGCS)介导的甲戊酸途径和酮体生成途径在新生期有一个短暂的激活。进一步实验验证了HMGCS抑制剂hymeglusin能降低BrdU阳性心肌细胞的百分比,提示甲戊酸盐和酮体生成途径可能参与调节心肌细胞细胞周期进程。最新研究报道,Chong等<sup>[37]</sup>在胚胎期18.5 d、出生后1 d和7 d小鼠心脏中,也关注到自胎儿期到成人期酮体代谢的变化。Hmgcs2的mRNA和蛋白表达的变化显示在新生期有一个表达高峰,且酮体在新生儿心脏中含量增加,并证实酮体可调节线粒体成熟且参与出生前后的代谢重编程,对产后心脏的发育至关重要。除心脏发育外,酮体代谢也参与了心肌细胞的增殖调控。在心脏中特异性过表达Oct4、Sox2、Klf4和c-Myc(OSKM)四种转录因子,可诱导成年小鼠心肌细胞的去分化,从而促进心脏再生<sup>[38]</sup>,Cheng<sup>[39]</sup>等在心脏特异性诱导OSKM的心肌增殖模型中,发现HMGCS2诱导的酮生成代谢上调显著,并证实HMGCS2的过表达还可诱导成熟心肌细胞的代谢重编程,进而促使其去分化及增殖,改善心梗后的心脏功能。

表1 转录组、蛋白质组、代谢组多组学检测心脏发育过程的代谢转变  
Table 1 Metabolic reprogramming during cardiac development detected by transcriptomics, proteomics and metabolomics assays

Object of detection	Detection time point	Differentially regulated metabolic pathways	References
Mouse individual frozen hearts	Postnatal day 1, 7	Fatty acid metabolism; Lipid peroxidation; Altered sphingolipid and plasmalogen metabolism	<i>Front Physiol.</i> 2018,9:365.
Mouse ventricular tissue samples	Postnatal day 1, 4, 7, 23	Branched chain amino acid degradation; Fatty acid metabolism; HMGCS-mediated mevalonate pathway and ketogenesis	<i>J AM Heart Assoc.</i> 2018,7(20):e010378.
Mouse heart tissues	Gestational day 18.5, postnatal day 1, 7	Fatty acid metabolism; Mitochondrial oxidative phosphorylation; Pyruvate metabolism; Glucose metabolism; Ketone body metabolism	<i>Cell Discov.</i> 2022,8(1):106.

4.2.2 糖代谢 Fukuda等<sup>[40]</sup>利用单细胞转录组测序,比较斑马鱼心脏损伤后增殖的心肌细胞与原生心肌细胞的差异,研究发现增殖的心肌细胞表现出类似胚胎期心肌细胞的代谢状态,线粒体相关基因表达下调,线粒体活性减弱,同时糖酵解相关基因的表达及糖摄取增加,该研究证实了增殖的心肌细胞发生了代谢重编程;进一步研究发现这种代谢重编程主要通过激活 Nrg1/ErbB2 信号通路进而促进心肌的增殖。

糖代谢是诱导哺乳动物心脏再生的关键因素。Fajardo等<sup>[32]</sup>在心脏中过表达 Glut1 后发现心脏中葡萄糖摄取增强,糖原储存增加,心肌损伤后的再生性修复能力增加。随后代谢组学结果还显示,心脏特异性 Glut1 过表达小鼠的核苷酸含量显著增加,以上结果说明 Glut1 的过表达,可通过促进心肌细胞的糖原合成及核苷酸生物合成途径,促进心肌细胞增殖。

PKM2 是糖酵解途径中的关键代谢酶,既往研究表明,肿瘤细胞中的 PKM2 可直接结合  $\beta$ -catenin,促进 cyclin D1 及 c-Myc 的转录活性,Magadan 等<sup>[33]</sup>发现心脏特异性的 PKM2 过表达,也能通过该途径促进心肌细胞细胞周期再进入;此外,PKM2 还可促进葡萄糖-6-磷酸脱氢酶(glu-ucose-6-phosphate dehydrogenase, G6PD)的酶活性,促进葡萄糖进入磷酸戊糖途径(the pentose phosphate pathway, PPP),产生还原当量以降低心肌细胞的 ROS 含量和氧化应激造成的 DNA 损伤,共同促进心肌细胞增殖。

4.2.3 脂代谢 哺乳动物出生后心脏的代谢逐渐转变为脂肪酸 $\beta$ 氧化,成熟心脏约 80% 依赖脂肪酸氧化供能。Cao 等<sup>[41]</sup>利用脂肪酸 $\beta$ 氧化关键酶肉毒碱棕榈酰基转移酶(carnitine palmitoyl transferase-I, CPT-1)的抑制剂 Etomoxir 改变乳鼠心肌细胞的脂肪酸代谢,发现抑制心脏的脂肪酸 $\beta$ 氧化可延长心肌细胞退出细胞周期的窗口期;相反过氧化物酶体增殖物激活受体(peroxisome proliferator-activated receptor alpha, PPAR $\alpha$ )激动剂 GW7647,则可以增加心肌细胞的脂肪酸摄取和 $\beta$ 氧化,促进心肌细胞的肥大与成熟。

有学者通过减少心肌细胞的脂肪酸能量底物来源,给予新生小鼠饲喂缺乏脂肪酸的乳汁,同样发现可以减少脂肪酸 $\beta$ 氧化进而延长心肌细胞增殖的时间窗,进一步发现丙酮酸脱氢酶激酶同工酶

4(pyruvate dehydrogenase kinase 4, PDK4)的缺失会导致丙酮酸脱氢酶的增加,使脂肪酸氧化水平相对下降,通过减轻心肌细胞的 DNA 损伤,进而促进心肌细胞的增殖<sup>[34]</sup>。

我们研究团队在前期研究中,也通过观察不同年龄小鼠心脏组织中糖脂代谢相关酶的表达变化,发现脂肪酸代谢的关键酶长链酰基辅酶 A 合成酶 1 (acyl-CoA synthetase long-chain family member 1, ACSL1)的表达随着出生后表达升高且上调倍数最高。通过抑制 ACSL1 的表达,可抑制其介导的脂肪酸摄取,并观察到新生小鼠及成年心梗小鼠的心肌细胞增殖增加,机制上抑制 ACSL1 可激活 AKT/FOXO1 的磷酸化,诱导下游 Cyclin B1 的表达,启动心肌细胞细胞周期进程<sup>[42]</sup>。

4.2.4 三羧酸循环代谢 琥珀酸是三羧酸循环反应中的底物之一,并由琥珀酸脱氢酶(succinate dehydrogenase, SDH)催化为延胡索酸。在心肌梗死等缺血性心肌损伤过程中,会出现心肌细胞中琥珀酸的异常堆积,当缺血再灌注时,累积的琥珀酸被迅速氧化,产生大量活性氧,造成缺血再灌注损伤<sup>[43]</sup>。Bae 等<sup>[44]</sup>探讨了琥珀酸代谢是否影响心肌细胞增殖,首先给新生乳鼠注射琥珀酸盐,诱导心肌细胞的 DNA 损伤从而增殖能力降低,再生能力丢失;随后研究人员分别给乳鼠及成年心梗小鼠注射琥珀酸的类似物丙二酸,SDH 的竞争性抑制物,阻断三羧酸循环,可以显著增加心肌细胞的增殖,减轻损伤心肌的纤维化程度,促进心功能的恢复。

4.2.5 生物合成代谢 除能量代谢外,增殖细胞需要激活生物合成代谢,以满足子细胞增殖过程中形成细胞膜、蛋白质、核酸等生物大分子。Mohamed 等<sup>[12]</sup>证实了生物合成代谢也参与诱导心肌细胞的增殖。该研究团队通过对人胚胎干细胞诱导的心肌细胞进行 Cyclin B1、Cyclin D1、CDK1 和 CDK4 的过表达处理,诱导心肌细胞处于增殖旺盛状态。进一步利用稳定同位素标记的葡萄糖检测增殖心肌细胞的代谢通量变化,发现葡萄糖及脂肪酸有氧氧化减少;除此之外,糖酵解途径的多条生物合成相关代谢旁路被激活,包括糖原合成、磷酸戊糖途径、己糖胺生物合成途径、甘油磷脂及丝氨酸生物合成途径等;过表达磷酸烯醇式丙酮酸羧激酶 2(phosphoenolpyruvate carboxy kinase 2, PCK2),可以抑制碳来源的能量底物进入三羧酸循环氧化代谢,更多地形成糖酵解中间产物,促进生物合成代谢,最终

诱导心肌细胞的细胞周期再进入<sup>[45]</sup>。

色氨酸(tryptophan, Trp)是一种必需氨基酸,能产生多种活性代谢产物参与机体的生理调节,并且对蛋白质合成至关重要。Trp通过吲哚胺2,3-双加氧酶1(indoleamine 2,3-dioxygenase 1, IDO1)分解代谢生成犬尿氨酸(kynurenine, Kyn)。Zhang等<sup>[46]</sup>的最新研究报道给新生小鼠补充Kyn可促进乳鼠心尖切除后的损伤修复。通过敲除心肌中的IDO1,证实IDO1减少其分解代谢产生的Kyn是新生小鼠心脏再生所必需的,但其缺失不影响生理状态下心脏的代谢及功能。Kyn通过激活芳基碳氢化合物受体(aryl hydrocarbon receptor, AHR)影响下游YAP/ERK信号通路促进心肌细胞的增殖,同时还可以激活AHR的入核转运,上调血管内皮生长因子A(vascular endothelial growth factor A, VEGFA),从而促进心脏血管新生,共同促进心脏的再生性修复。

**4.2.6 能量代谢需求与心脏再生** 目前认为,心脏再生能力强的物种,如斑马鱼、蝾螈及哺乳动物胎儿新生儿,均表现为利用糖酵解产生ATP为主的低能量需求代谢模式。而哺乳动物成年期的能量需求很高,主要利用氧化磷酸化(oxidative phosphorylation, OXPHOS)产生ATP。OXPHOS会在心肌细胞中产生大量活性氧,与心肌细胞的DNA损伤和细胞周期阻滞有关。那么通过改变心肌细胞的能量代谢需求,是否可以改变其增殖能力呢<sup>[47]</sup>?

本课题组基于成熟心肌细胞的三大特性,通过改变心脏搏动的快慢,影响心脏的能量代谢需求,探讨是否能改变心肌细胞的增殖能力。在这项研究中,我们发现乳鼠与成年小鼠的心率与心肌增殖能力呈负相关。进一步对鼠源及人源心肌细胞进行临床常用降心率药物的干预,证实在降低心肌细胞原有搏动频率的10%~20%,可诱导心肌细胞增殖。同时,还采用了体外物理电刺激方式改变心肌细胞搏动,以排除药物自身药理作用的影响。随后在三种心肌损伤模型(乳鼠及斑马鱼心尖切除模型、成鼠急性心肌梗死模型)中进行正反验证,证实适度降低心率可重启心肌细胞增殖进而促进损伤心脏的再生性修复。在机制探究中, RNA-Seq结果提示降低心率主要改变了心肌细胞中细胞周期与代谢相关基因的表达。系统性检测细胞周期变化证实,降低心率主要上调了心肌细胞中Cyclin D1的表达,促进G1/S期转化,从而诱导心肌细胞重新

进入细胞周期。进一步通过细胞能量代谢检测,结合代谢组学及代谢流分析发现,降低心率使心肌细胞发生能量代谢重编程即能量代谢需求降低,而糖代谢相对增加;一方面糖代谢酶发挥非酶活性促进细胞周期进程,另一方面磷酸戊糖途径被激活,以满足增殖心肌细胞所需的生物合成代谢需求,共同促进心肌细胞增殖。该研究揭示了心肌细胞持续节律性搏动、独特能量代谢模式以及增殖能力弱这三大生物学特性的内在联系,即降低心肌细胞的搏动速率,可影响其能量代谢模式,进而促进心脏再生<sup>[48]</sup>。

除心率调节外,体温的变化会改变机体的基础代谢率。物种间二倍体心肌细胞的比例及心脏再生潜能与其基础代谢率、体温和血中甲状腺激素水平成反比<sup>[27]</sup>。新生哺乳动物在出生后,需要激活机体产热以维持和调节体温,产热过程主要受交感神经及甲状腺激素的控制。Payumo等<sup>[49]</sup>采用酚苄明与普萘洛尔抑制 $\alpha$ 和 $\beta$ 肾上腺素受体,丙硫氧嘧啶抑制甲状腺激素的合成,通过对肾上腺素受体及甲状腺激素信号共同作用调节机体的体温。结果显示通过降低小鼠体温来减少机体的能量需求,可以诱导心肌细胞增殖,促进梗死小鼠的心功能恢复及纤维化损伤修复。

综上所述,在本节中我们总结了糖脂代谢、三羧酸循环途径、生物合成途径及能量代谢需求与心脏再生的研究现状(附表)。近几年来,通过诱导心肌细胞的代谢重编程促进心脏再生是心血管研究领域的前沿及热点。目前的研究已经证实,通过模拟胚胎期心肌细胞的代谢模式:即激活心肌细胞的糖代谢与生物合成途径;抑制脂肪酸氧化减轻氧化应激损伤,可以促进心肌细胞的增殖。课题组前期研究也证实,从心肌细胞的生理学特性出发,适度降低心率可减少心肌细胞的能量代谢需求,通过调控心率的方式诱导心肌细胞能量代谢重编程,亦可促进心脏再生<sup>[48]</sup>。因此基于心肌细胞能量代谢调控为靶点以诱导心脏再生,可为心脏疾病治疗提供适用、可行的新策略和方案。



附表

Appendix table

## 5 展望

本文总结了近五年来心脏代谢及再生的研究进展,基于已有研究成果可知,心肌细胞的代谢状

态与其增殖能力密不可分,通过改变不同的代谢酶、代谢产物及代谢状态等,均能调控心肌细胞的增殖。目前研究虽证实心脏的代谢状态与其再生能力存在关联,但仍有许多尚未解决的科学问题,值得我们进一步探索。一方面心脏在出生前后的代谢转变究竟如何调控心肌细胞增殖,其具体机制尚不明确。目前主要观点认为出生后逐渐转变为OXPHOS的代谢模式使得活性氧急剧增加,导致心肌细胞DNA损伤从而退出增殖周期。除此之外,出生后代谢转变引起的代谢产物的变化,是否可以通过与信号蛋白或代谢酶的别构结合、入核发生表观遗传修饰等方式影响心肌细胞增殖还需进一步证实。另一方面对人的心肌细胞发育过程中代谢转变相关的基因、蛋白及代谢物的变化有一个具象的认识,可为我们从中提供心血管疾病治疗策略的线索。心肌组织的基因转录变化、蛋白质表达变化均有报道,但发育过程中代谢物谱的分析仍有空缺。Murashige等<sup>[50]</sup>报道了心衰及非心衰成人心脏底物利用的具体量化成果,此研究收集了因房颤行射频消融术时患者的冠状静脉、桡动脉及股静脉血,进行非靶向代谢组学检测,描绘了心衰及非心衰心脏对不同代谢底物的利用情况。但此研究仅检测心脏对机体循环血液中能量底物的利用,无法描述心脏本身产生的代谢底物利用情况及是否能对其自身产生调控作用,因此检测不同发育阶段心脏组织中的代谢底物变化,以期阐明特定代谢底物是否参与调控心肌增殖尤为重要。

最后回归到心肌细胞的生理学特性本身,在心

脏发育过程中,心肌细胞的成熟与增殖两种状态及诱导因素似乎是相悖的。人多能干细胞诱导的心肌细胞是高通量药筛、疾病建模、心肌再生相关研究的一大利器。研究者们致力于诱导人多能干细胞(human induced pluripotent stem cells, hPSC)分化为具备成熟心肌细胞特性的hPSC-CM研究中指出,在诱导体系中额外补充脂肪酸会增加hPSC-CM的心肌收缩力、钙瞬变、动作电位传导及OXPHOS能力,促进hPSC-CM的成熟<sup>[51]</sup>;相反在诱导体系中补充葡萄糖则激活了磷酸戊糖途径,促进hPSC-CM的生物合成,抑制hPSC-CM的成熟转化<sup>[52]</sup>。Wang等<sup>[53]</sup>追踪了成年小鼠心肌梗后心肌细胞的增殖过程,初步证实了成熟心肌细胞的增殖需要经过三个步骤。首先发生去分化、增殖,随后邻近心肌细胞通过缝隙连接蛋白Cx43传导Ca<sup>2+</sup>信号诱导其再分化,最终形成具有收缩功能的成熟心肌细胞。

在心脏再生的机制研究中,我们的最终目的并非为改变心脏自然的生理过程,而是在心肌损伤这一特殊阶段下,诱导心肌细胞的增殖能力短暂激活,抑制心脏的纤维化以及促使心功能恢复。通过代谢重编程诱导心肌细胞增殖后,如何进一步诱导其分化为具有收缩功能的成熟心肌细胞?而心脏功能恢复后如何使其恢复正常生理功能?如何平衡心脏修复过程中对能量代谢和生物合成的需求?以及在心肌损伤过程中心脏的代谢重构与诱导心肌细胞增殖的代谢重编程的过程如何协调?以上问题仍需要我们进一步思考和探讨。

#### 参考文献

- [1] Writing C, Maddox TM, Januzzi JL, et al. 2021 update to the 2017 ACC expert consensus decision pathway for optimization of heart failure treatment: answers to 10 pivotal issues about heart failure with reduced ejection fraction: a report of the American college of cardiology solution set oversight committee[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2021, 77(6): 772-810.
- [2] 王小文,郑哲,黄洁.脑卒中供者心脏的心肌损伤机制与临床研究进展[J]. *器官移植*, 2023, 14(1): 42-48.  
Wang XW, Zheng Z, Huang J. Clinical research progress and mechanism on myocardial injury in hearts from donors with stroke[J]. *Organ Transpl*, 2023, 14(1): 42-48.
- [3] Henderson CA, Gomez CG, Novak SM, et al. Overview of the muscle cytoskeleton[J]. *Compr Physiol*, 2017, 7(3): 891-944.
- [4] Lopaschuk GD, Jaswal JS. Energy metabolic phenotype of the cardiomyocyte during development, differentiation, and postnatal maturation[J]. *J Cardiovasc Pharmacol*, 2010, 56(2): 130-140.
- [5] Taegtmeier H, Young ME, Lopaschuk GD, et al. Assessing cardiac metabolism: a scientific statement from the American heart association[J]. *Circ Res*, 2016,

- 118(10): 1659–1701.
- [6] Karbassi E, Fenix A, Marchiano S, et al. Cardiomyocyte maturation: advances in knowledge and implications for regenerative medicine [J]. *Nat Rev Cardiol*, 2020, 17(6): 341–359.
- [7] Porrello ER, Mahmoud AI, Simpson E, et al. Transient regenerative potential of the neonatal mouse heart [J]. *Science*, 2011, 331(6020): 1078–1080.
- [8] Ye L, D'agostino G, Loo SJ, et al. Early regenerative capacity in the porcine heart [J]. *Circulation*, 2018, 138(24): 2798–2808.
- [9] Zhu W, Zhang E, Zhao M, et al. Regenerative potential of neonatal porcine hearts [J]. *Circulation*, 2018, 138(24): 2809–2816.
- [10] Wesselhoeft H, Fawcett JS, Johnson AL. Anomalous origin of the left coronary artery from the pulmonary trunk. Its clinical spectrum, pathology, and pathophysiology, based on a review of 140 cases with seven further cases [J]. *Circulation*, 1968, 38(2): 403–425.
- [11] Tsang V, Yacoub M, Sridharan S, et al. Late donor cardiectomy after paediatric heterotopic cardiac transplantation [J]. *Lancet*, 2009, 374(9687): 387–392.
- [12] Mohamed TMA, Ang YS, Radzinsky E, et al. Regulation of cell cycle to stimulate adult cardiomyocyte proliferation and cardiac regeneration [J]. *Cell*, 2018, 173(1): 104–116. e12.
- [13] Xiang FL, Guo M, Yutzey KE. Overexpression of Tbx20 in adult cardiomyocytes promotes proliferation and improves cardiac function after myocardial infarction [J]. *Circulation*, 2016, 133(11): 1081–1092.
- [14] Mahmoud AI, Kocabas F, Muralidhar SA, et al. Meis1 regulates postnatal cardiomyocyte cell cycle arrest [J]. *Nature*, 2013, 497(7448): 249–253.
- [15] Heallen T, Zhang M, Wang J, et al. Hippo pathway inhibits Wnt signaling to restrain cardiomyocyte proliferation and heart size [J]. *Science*, 2011, 332(6028): 458–461.
- [16] Lin Z, Von Gise A, Zhou P, et al. Cardiac-specific YAP activation improves cardiac function and survival in an experimental murine MI model [J]. *Circ Res*, 2014, 115(3): 354–363.
- [17] Xin M, Kim Y, Sutherland LB, et al. Hippo pathway effector Yap promotes cardiac regeneration [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, 110(34): 13839–13844.
- [18] Patterson M, Barske L, van Handel B, et al. Frequency of mononuclear diploid cardiomyocytes underlies natural variation in heart regeneration [J]. *Nat Genet*, 2017, 49(9): 1346–1353.
- [19] Gonzalez-Rosa JM, Sharpe M, Field D, et al. Myocardial polyploidization creates a barrier to heart regeneration in zebrafish [J]. *Dev Cell*, 2018, 44(4): 433–446. e7.
- [20] Han L, Choudhury S, Mich-Basso JD, et al. Lamin B2 levels regulate polyploidization of cardiomyocyte nuclei and myocardial regeneration [J]. *Dev Cell*, 2020, 53(1): 42–59. e11.
- [21] Han L, Mich-Basso JD, Li Y, et al. Changes in nuclear pore numbers control nuclear import and stress response of mouse hearts [J]. *Dev Cell*, 2022, 57(20): 2397–2411. e9.
- [22] Puente BN, Kimura W, Muralidhar SA, et al. The oxygen-rich postnatal environment induces cardiomyocyte cell-cycle arrest through DNA damage response [J]. *Cell*, 2014, 157(3): 565–579.
- [23] Kimura W, Xiao F, Canseco DC, et al. Hypoxia fate mapping identifies cycling cardiomyocytes in the adult heart [J]. *Nature*, 2015, 523(7559): 226–230.
- [24] Nakada Y, Canseco DC, Thet S, et al. Hypoxia induces heart regeneration in adult mice [J]. *Nature*, 2017, 541(7636): 222–227.
- [25] Chattergoon NN. Thyroid hormone signaling and consequences for cardiac development [J]. *J Endocrinol*, 2019, 242(1): T145–T160.
- [26] Chattergoon NN, Giraud GD, Thornburg KL. Thyroid hormone inhibits proliferation of fetal cardiac myocytes in vitro [J]. *J Endocrinol*, 2007, 192(2): R1–R8.
- [27] Hirose K, Payumo AY, Cutie S, et al. Evidence for hormonal control of heart regenerative capacity during endothermy acquisition [J]. *Science*, 2019, 364(6436): 184–188.
- [28] Tyser RC, Miranda AM, Chen CM, et al. Calcium handling precedes cardiac differentiation to initiate the first heartbeat [J]. *Elife*, 2016, 5: e17113.
- [29] Gibb AA, Hill BG. Metabolic coordination of physiological and pathological cardiac remodeling [J]. *Circ Res*, 2018, 123(1): 107–128.
- [30] Lopaschuk GD, Witters LA, Itoi T, et al. Acetyl-CoA carboxylase involvement in the rapid maturation

- of fatty acid oxidation in the newborn rabbit heart[J]. *J Biol Chem*, 1994, 269(41): 25871–25878.
- [31] Stanley WC, Recchia FA, Lopaschuk GD. Myocardial substrate metabolism in the normal and failing heart [J]. *Physiol Rev*, 2005, 85(3): 1093–1129.
- [32] Fajardo VM, Feng I, Chen BY, et al. GLUT1 overexpression enhances glucose metabolism and promotes neonatal heart regeneration [J]. *Sci Rep*, 2021, 11(1): 8669.
- [33] Magadam A, Singh N, Kurian AA, et al. Pkm2 regulates cardiomyocyte cell cycle and promotes cardiac regeneration [J]. *Circulation*, 2020, 141(15): 1249–1265.
- [34] Cardoso AC, Lam NT, Savla JJ, et al. Mitochondrial substrate utilization regulates cardiomyocyte cell cycle progression[J]. *Nat Metab*, 2020, 2(2): 167–178.
- [35] Lalowski MM, Björk S, Finckenberg P, et al. Characterizing the key metabolic pathways of the neonatal mouse heart using a quantitative combinatorial omics approach[J]. *Front Physiol*, 2018, 9: 365.
- [36] Talman V, Teppo J, Pöhö P, et al. Molecular atlas of postnatal mouse heart development [J]. *J Am Heart Assoc*, 2018, 7(20): e010378.
- [37] Chong D, Gu Y, Zhang T, et al. Neonatal ketone body elevation regulates postnatal heart development by promoting cardiomyocyte mitochondrial maturation and metabolic reprogramming[J]. *Cell Discov*, 2022, 8(1): 106.
- [38] Chen Y, Lüttmann FF, Schoger E, et al. Reversible reprogramming of cardiomyocytes to a fetal state drives heart regeneration in mice[J]. *Science*, 2021, 373(6562): 1537–1540.
- [39] Cheng YY, Gregorich Z, Prajnamitra RP, et al. Metabolic changes associated with cardiomyocyte dedifferentiation enable adult mammalian cardiac regeneration [J]. *Circulation*, 2022, 146(25): 1950–1967.
- [40] Fukuda R, Marín-Juez R, El-Sammak H, et al. Stimulation of glycolysis promotes cardiomyocyte proliferation after injury in adult zebrafish [J]. *EMBO Rep*, 2020, 21(8): e49752.
- [41] 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.
- [42] Li Y, Yang M, Tan J, et al. Targeting ACSL1 promotes cardiomyocyte proliferation and cardiac regeneration[J]. *Life Sci*, 2022, 294: 120371.
- [43] Kula-Alwar D, Prag HA, Krieg T. Targeting succinate metabolism in ischemia/reperfusion injury [J]. *Circulation*, 2019, 140(24): 1968–1970.
- [44] Bae J, Salamon RJ, Brandt EB, et al. Malonate promotes adult cardiomyocyte proliferation and heart regeneration [J]. *Circulation*, 2021, 143(20): 1973–1986.
- [45] Abouleisa RRE, McNally L, Salama ABM, et al. Cell cycle induction in human cardiomyocytes is dependent on biosynthetic pathway activation [J]. *Redox Biol*, 2021, 46: 102094.
- [46] 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.
- [47] Vivien CJ, Hudson JE, Porrello ER. Evolution, comparative biology and ontogeny of vertebrate heart regeneration[J]. *Npj Regen Med*, 2016, 1: 16012.
- [48] Tan J, Yang M, Wang H, et al. Moderate heart rate reduction promotes cardiac regeneration through stimulation of the metabolic pattern switch[J]. *Cell Rep*, 2022, 38(10): 110468.
- [49] Payumo AY, Chen X, Hirose K, et al. Adrenergic-thyroid hormone interactions drive postnatal thermogenesis and loss of mammalian heart regenerative capacity[J]. *Circulation*, 2021, 144(12): 1000–1003.
- [50] Murashige D, Jang C, Neinast M, et al. Comprehensive quantification of fuel use by the failing and non-failing human heart [J]. *Science*, 2020, 370(6514): 364–368.
- [51] Yang X, Rodriguez ML, Leonard A, et al. Fatty acids enhance the maturation of cardiomyocytes derived from human pluripotent stem cells [J]. *Stem Cell Reports*, 2019, 13(4): 657–668.
- [52] Nakano H, Minami I, Braas D, et al. Glucose inhibits cardiac muscle maturation through nucleotide biosynthesis [J]. *Elife*, 2017, 6: e29330.
- [53] Wang WE, Li L, Xia X, et al. Dedifferentiation, proliferation, and redifferentiation of adult mammalian cardiomyocytes after ischemic injury [J]. *Circulation*, 2017, 136(9): 834–848.