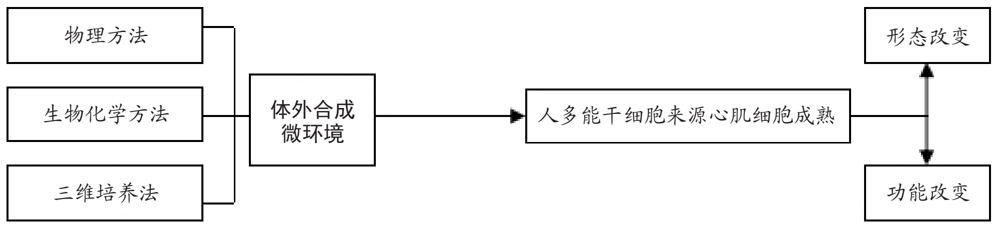
中国组织工程研究
www.CJTER.com Chinese Journal of Tissue Engineering Research

体外合成微环境促进人多能干细胞来源心肌细胞成熟的学术进展及临床应用

刘 璐[1]，钟 畅[2]，余 欣[2]，任晨媛[2]，巩杨杨[2]，周 平[2]，王迎斌[1]

https://doi.org/10.12307/2025.748
投稿日期：2024-08-19
采用日期：2024-10-22
修回日期：2024-12-09
在线日期：2024-12-26
中图分类号：
R459.9；R318.11；R318.08
文章编号：
2095-4344(2025)36-07856-07
文献标识码：A

文章快速阅读： 体外合成微环境促进人多能干细胞来源心肌细胞的成熟



文题释义：

体外合成微环境：是指细胞在体外培养时所处人工合成的环境，参与构成细胞生存的状态，这个环境的稳定是保持细胞正常增殖、分化、代谢和功能活动的重要条件，包括生物、物理和化学因素。

人多能干细胞来源心肌细胞：是来源于具有多向分化潜能的干细胞，通过定向诱导分化技术产生的表达心肌表型的细胞，具有部分成熟心肌细胞的功能，可应用于疾病的研究和治疗。

摘要

背景：人多能干细胞来源心肌细胞为研究心脏疾病、药物筛选、体外心脏建模及潜在的细胞治疗方法等提供了理想的细胞来源。然而，人多能干细胞来源心肌细胞属于未成熟细胞，主要表现为缺乏特定基因表达，Ca^{2+}处理水平低及结构、代谢、电生理特性等不成熟，严重阻碍了人多能干细胞来源心肌细胞的应用。

目的：综述通过体外合成微环境促进人多能干细胞来源心肌细胞成熟的学术进展及临床应用。

方法：检索中国知网、万方数据库、维普数据库、PubMed、Web of Science和Medline数据库，以“human pluripotent stem cells，human myocardial cells，hPSC-CMs，mature，OA，human pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes，hPSC-CMs”为英文检索词， 以“人多能干细胞，心肌细胞，成熟，OA，hPSC-CMs”为中文检索词，检索2002年1月至2024年7月发表的所有相关文献，最后纳入82篇文献进行综述。

结果与结论：①近年来，体外合成微环境由于刚度、可塑性、纳米级形貌和化学功能等优良固有特性而受到广泛关注；②人多能干细胞来源心肌细胞可作为治疗心血管疾病的有效平台；③机械刺激、电刺激、生物化学分子添加及三维培养法等作为促人多能干细胞来源心肌细胞成熟的有效方法，可进一步推进人多能干细胞来源心肌细胞在临床的应用。

关键词：体外合成微环境；人多能干细胞；心肌细胞；细胞成熟；物理方法；生物化学方法；三维培养法；临床应用；综述

Academic progress and clinical application of *in vitro* synthetic microenvironment to promote maturation of human pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes

Liu Lu[1], Zhong Chang[2], Yu Xin[2], Ren Chenyuan[2], Gong Yangyang[2], Zhou Ping[2], Wang Yingbin[1]
[1]Second Clinical Medical College of Lanzhou University, Lanzhou 730000, Gansu Province, China; [2]School of Stomatology, Lanzhou University, Lanzhou 730000, Gansu Province, China
Liu Lu, Master candidate, Second Clinical Medical College of Lanzhou University, Lanzhou 730000, Gansu Province, China
Zhong Chang, School of Stomatology, Lanzhou University, Lanzhou 730000, Gansu Province, China
Liu Lu and Zhong Chang contributed equally to this article.
Corresponding author: Wang Yingbin, MD, Chief physician, Second Clinical Medical College of Lanzhou University, Lanzhou 730000, Gansu Province, China
Co-corresponding author: Zhou Ping, MD, Chief physician, School of Stomatology, Lanzhou University, Lanzhou 730000, Gansu Province, China

Abstract

BACKGROUND: Human pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes offer an ideal cellular resource for studying heart diseases, conducting drug screening, developing *in vitro* heart models, and exploring potential cell therapies. However, human pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes are characterized by immaturity with limited specific gene expression, low Ca^{2+} processing levels, and underdeveloped structural, metabolic, and electrophysiological features. These

[1] 兰州大学第二临床医学院，甘肃省兰州市 730000；[2] 兰州大学口腔医学院，甘肃省兰州市 730000
第一作者：刘璐，女，1999 年生，甘肃省天水市人，汉族，兰州大学在读硕士，主要从事心血管保护研究。
共同第一作者：钟畅，女，2001 年生，江西省遂川县人，汉族，兰州大学在读本科，主要从事成骨分化研究。
通讯作者：王迎斌，博士，主任医师，兰州大学第二临床医学院，甘肃省兰州市 730000
共同通讯作者：周平，博士，主任医师，兰州大学口腔医学院，甘肃省兰州市 730000
https://orcid.org/0009-0009-1252-1819(刘璐)；https://orcid.org/0009-0000-6172-0448(王迎斌)
基金资助：甘肃省自然科学基金项目 (24JRRA1106)，项目负责人：王迎斌
引用本文：刘璐，钟畅，余欣，任晨媛，巩杨杨，周平，王迎斌 . 体外合成微环境促进人多能干细胞来源心肌细胞成熟的学术进展及临床应用 [J]. 中国组织工程研究，2025，29(36):7856-7862.

limitations significantly impede the application of human pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes.
OBJECTIVE: To review the academic progress and clinical application of promoting the maturation of human pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes by *in vitro* synthetic microenvironment.
METHODS: CNKI, WanFang, VIP, PubMed, Web of Science, and Medline databases were searched, with "human pluripotent stem cells, human myocardial cells, hPSC-CMs, mature, OA, human pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes, hPSC-CMs" as English search terms and "human pluripotent stem cells, cardiomyocytes, mature, OA, hPSC-CMs" as Chinese search terms. All relevant literature published from January 2002 to July 2024 was retrieved and 82 articles were included in the review.
RESULTS AND CONCLUSION: (1) In recent years, *in vitro* synthetic microenvironments have attracted extensive attention due to their excellent intrinsic properties such as stiffness, plasticity, nanoscale morphology, and chemical functionality. (2) Human pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes can be used as an effective platform for the treatment of cardiovascular diseases. (3) Mechanical stimulation, electrical stimulation, addition of biochemical molecules, and three-dimensional culture methods are effective methods to promote the maturation of human pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes, which can further promote the clinical application of human pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes.
Key words: *in vitro* synthetic microenvironment; human pluripotent stem cell; cardiomyocyte; cell maturation; physical method; biochemical method; three-dimensional culture method; clinical application; review

Funding: Natural Science Foundation of Gansu Province, No. 24JRRA1106 (to WYB)
How to cite this article: *LIU L, ZHONG C, YU X, REN CY, GONG YY, ZHOU P, WANG YB. Academic progress and clinical application of in vitro synthetic microenvironment to promote maturation of human pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu. 2025;29(36):7856-7862.*

0 引言 Introduction

几十年来，心血管疾病一直是全球主要的死亡原因之一[1]。由冠状动脉疾病引起的心肌梗死会导致心肌细胞受损，泵血能力永久降低[2]。成年人的心脏无再生能力，而人诱导多能干细胞 (human pluripotent stem cells，hPSCs) 经过特定的诱导方式可以分化为人心肌细胞，用于细胞治疗、构建药物毒性测试和筛选平台及疾病模型等[3]。事实上，人多能干细胞分化而来的心肌细胞 (human pluripotent stem cells-derived cardiomyocytes，hPSC-CMs) 因成熟度不足而无法直接应用于治疗研究，需要在体外对其进行干预处理，人工合成微环境可促进 hPSC-CMs 在形态结构及功能上向成体心肌细胞进一步发育[4]。近年来，如何获得简单有效的促进 hPSC-CMs 成熟的方法成为研究热点[5-8]，包括长期培养、电刺激、机械负荷、复合生物材料、3D 培养等。该综述主要概述了加速 hPSC-CMs 成熟的方法及机制，同时讨论了体外合成微环境促 hPSC-CMs 成熟所面临的挑战，展望发展方向，为设计体外合成微环境以获得符合临床应用标准的 hPSC-CMs 提供参考。

1 资料和方法 Data and methods

1.1 资料来源

1.1.1 检索人及检索时间　第一作者在 2024 年 8 月进行检索。

1.1.2 检索文献时限　2002 年 1 月至 2024 年 8 月发表的所有文献。

1.1.3 检索数据库　中文数据库包括中国知网、万方数据库和维普数据库；英文数据库包括 PubMed、Web of Science 和 Medline。

1.1.4 检索词　中文检索词："人多能干细胞，人诱导干细胞，人胚胎干细胞，心肌细胞，hPSC，iPSC，hESC，CMs，成熟，OA"；英文检索词："human pluripotent stem cells，human induced stem cells，human embryonic stem cell，myocardial cell，cardiac muscle cell，mature，OA"。

1.1.5 检索文献类型　综述、述评、研究论文、毕业论文、病例报告、会议论文、荟萃分析。

1.1.6 手工检索情况　无。

1.1.7 检索策略　见图 **1**。

中文数据库	英文数据库
#1 人多能干细胞 (主题) #2 人诱导干细胞 (主题) #3 人胚胎干细胞 (主题) #4 hPSCs(主题) #5 心肌细胞 (主题) #6 CMs(主题) #7 成熟 #8 OA(主题) #9 #1 OR #2 OR #3 OR #4 #10 #5 OR #6 OR #11 #7 OR #8 #12 #9 AND #10 AND #11	#1 human pluripotent stem cells (Title/Abstract) #2 human induced stem cells (Title/Abstract) #3 human embryonic stem cell (Title/Abstract) #4 hPSCs (Title/Abstract) #5 cardiac muscle cell #6 myocardial cell (Title/Abstract) #7 CMs(Title/Abstract) #8 mature (Title/Abstract) #9 maturation #10 OA (Title/Abstract) #11 #1 OR #2 OR #3 OR #4 #12 #5 OR #6 OR #7 #13 #8 OR #9 OR #10 #14 #9 AND #10 AND #11

图 1丨中、英文数据库检索策略

1.1.8 检索文献量　共检索到 920 篇相关文献，其中英文文献 810 篇，中文文献 110 篇。

1.2 纳入标准　①刊登在权威期刊上的文献；②研究体外环境促进 hPSC-CMs 成熟及机制的文献。

1.3 排除标准　①重复性文献以及与研究目的不符的文献；②观点陈旧、研究设计不科学的文献；③无法获得全文的文献；④非中英文文献。

1.4 文献筛选和数据提取　按照检索策略，在英文数据库中共检索到 810 篇文献，中文数据库中共检索到 110 篇文献。按入选标准，排除 838 篇文献，最终纳入 82 篇文献，包括 9 篇中文文献和 73 篇英文文献。具体筛选流程如图 **2** 所示。

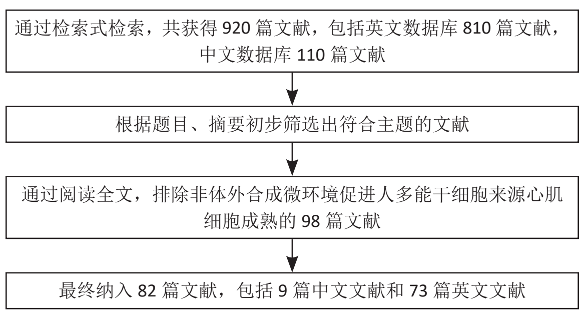


图 2丨文献筛选流程图

2 结果 Results

2.1 hPSC-CMs 分化成熟及其应用的发展进程　见图 **3**。

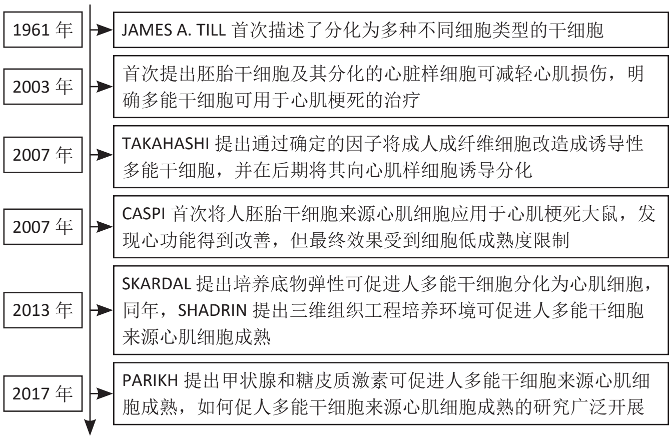
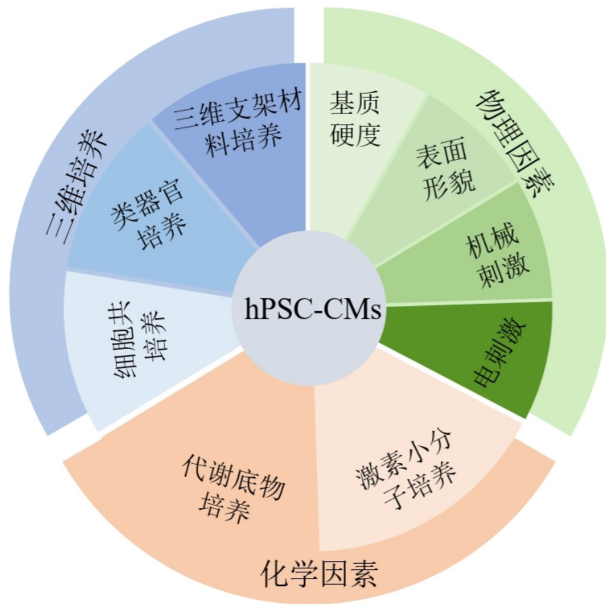


图 3 | 人多能干细胞来源心肌细胞分化成熟及其应用的发展进程



图注：hPSC-CMs 为人多能干细胞来源心肌细胞。

图 4 | 体外合成微环境促进多能干细胞来源心肌细胞成熟的方式

2.2 心肌细胞发育和成熟的调节 心脏从胎儿状态发育到成人状态的过程中，心肌细胞的结构、基因表达、代谢和功能不断改变、完善[9]，如生长因子、细胞外基质、非心肌细胞、机械及电刺激都能通过调节生长因子－骨形态发生蛋白、转化生长因子 β1/activin/NODAL、Wnt/β-catenin、以及整合素/LIMK/Cofilin 轴、Hippo-YAP/TAZ、MAPK、RAS-RA-MEK-ERK、PI3K-AKT-mTOR 等多条通路调节编码肌原纤维、离子通道和代谢蛋白的表达[10-14]，从而促进心脏分化成熟[15-16]。

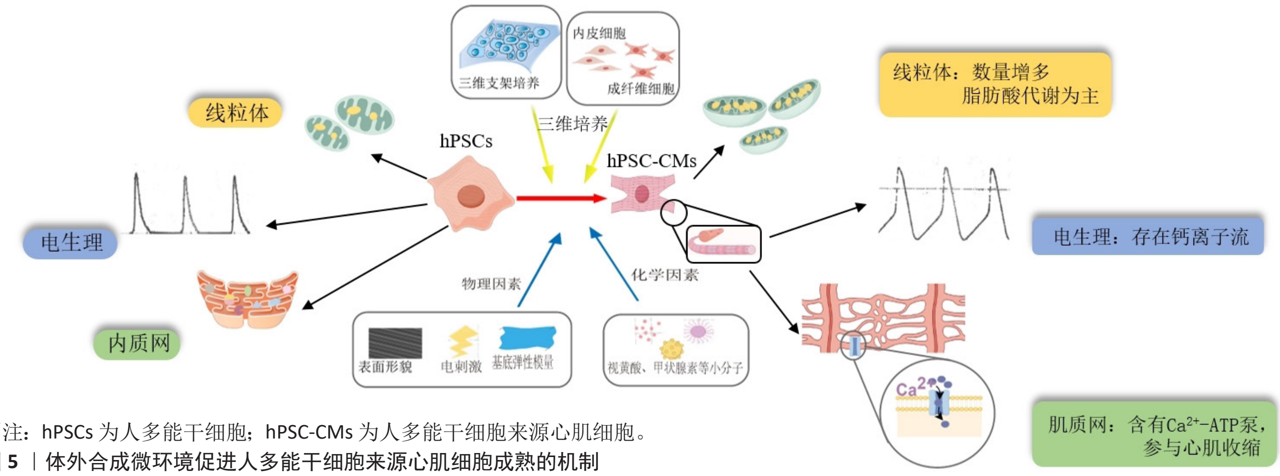
与成年心肌细胞相比，hPSC-CMs 在形态、电生理、钙处理代谢以及增殖能力等多方面都不成熟。形态学方面，成年心肌细胞具有细长的各向异性杆状形态，hPSC-CMs 的形状呈多边形或球形。成年心肌细胞的刚性和高度成熟内部结构使它们能够保持杆状，而 hPSC-CMs 在此方面有一定不足。超微结构方面，成年心肌细胞的肌节长度、排列、交织度和丰度都更高，其中 Z 盘结构沿肌原纤维或肌膜下紧密排列，有明显的、规则分布的层状嵴。电生理方面，hPSC-CMs 易产生自发异步收缩，而成年心肌细胞只有在提供电刺激和同步收缩时才会兴奋[17]。钙处理方面，hPSC-CMs 缺乏横小管，肌浆网发育不全，而成年心肌细胞横小管分散，肌纤维周围有发育良好的肌浆网[18]。此外，hPSC-CMs 的兴奋收缩耦联慢，成年心肌细胞的兴奋收缩耦联快。

如前所述，心肌细胞的体内自然发育过程是精细而复杂的，hPSC-CMs 与成年心肌细胞差距巨大，因此人们探索了许多体外调节促进 hPSC-CMs 成熟的方法，见图 **4**，**5**。

2.3 体外合成微环境促 hPSC-CMs 成熟

2.3.1 电刺激促 hPSC-CMs 成熟 心脏始终处于电场的刺激下，心肌细胞动作电位需要几种离子通道的精确协调，这种协调性是由机体发育所调节的[10]。而 hPSC-CMs 自发收缩、传导慢，缺乏肌节排列，导致低收缩力和钙处理欠佳[19]。LIU 等[20]开发了一个名为“AgNWs-E-PDMS”的平台，通过集成一个纳米纹理的聚二甲基硅氧烷悬臂梁和一根嵌入的银纳米线，在该平台上培养 hPSC-CMs，其同步搏动和钙瞬态信号增强，SOTTAS 等[21]上调连接蛋白 43 表达，使得 hPSC-CMs 之间的缝隙连接形成和电耦合显著增强，因此研究这种特殊的兴奋耦连收缩结构如何在体内组装，可能为促进 hPSC-CMs 闰盘的形成提供更多的线索。RONALDSON-BOUCHARD 等[22]将早期心肌细胞放在含有纤维蛋白水凝胶的培养基中培养并在培养过程中进行电刺激，发现具备成人样基因表达谱及显著的超微结构，且生理肌节长度、线粒体密度和含量与成熟的人类心肌细胞相似。GONZALEZ 等[23]将 hPSC-CMs 在导电聚合物中培养，发现促进了细胞间电信号传递，最终改善了结构蛋白排列及膜去极化速度。

2.3.2 机械刺激促 hPSC-CMs 成熟 从胚胎发生到成熟的所有阶段，心脏受电容性扩张及周围组织产生的持续机械刺激影响并做出反应[15]，研究人员主要通过对细胞施加牵张力或流动剪切应力模拟心脏搏动时受力，从而促进 hPSC-CMs 成熟[24]。目前出现 2 种不同的牵张力模式：静态拉伸和循环拉伸。静态拉伸是使用静态支架进行稳定的牵张力加载，一般使用聚二甲基硅氧烷等材料制作各种形状的弹性支柱等成型体，以施加牵张力[25]。LEONARD 等[26]开发了一个可调节负荷的机械系统，将 hPSC-CMs 悬挂在刚性柱和柔性柱之间，通过应用不同长度的支架来调节收缩阻力；在等距研究中，hPSC-CMs 的肌力随着负荷的增加而增加，然后趋于稳定，实验结果表明施加负荷增加了肌节长度、心肌细胞面积和伸长量。此外，负荷水平的逐步提升改善了钙处理能力，增加了心脏成熟的几个关键标志物的表达，如成人型心室肌凝蛋白重链。循环拉伸需要根据工程组织的内源跳动频率来调整拉伸周期的长度。循环机械拉伸可以改善心肌组织在收缩性、细胞排列、心脏基因表达和内皮细胞网络形成等方面的心血管特性[27]。KYRIAKOU 等[28]提出了制备负载多细胞的圆柱形纤维蛋白基纤维的方法，用于恢复房室结的电信号，他们制造了包含人脐静脉平滑肌细胞、人脐静脉内皮细胞和 hPSC-CMs 3 种细胞的圆柱形结构，并对它们进行循环拉伸培养以模拟天然房室结构，免疫组化分析显示，hPSC-CMs 存在肌节 α- 肌动蛋白和 Cx43 信号的电偶联，展现了一定的成熟度。



图注：hPSCs 为人多能干细胞；hPSC-CMs 为人多能干细胞来源心肌细胞。
图 5 丨体外合成微环境促进人多能干细胞来源心肌细胞成熟的机制

2.3.3 表面形貌促 hPSC-CMs 成熟 细胞外基质、可溶性物质和机械力对细胞产生作用，协同影响细胞的发育。已经有研究证明，心肌细胞的形状影响肌节的排列。心肌细胞的长宽比为 7 ∶ 1 时，表现出定向各向异性。因此，开发先进的细胞培养系统，模拟体内微环境的表面形貌是一种潜在的促成熟方法 [29]。此外，与各种生物材料混合物相比，利用生物材料的表面特性来指导干细胞的行为是一种更明确、更经济有效、更持久的方法 [30]。LIN 等 [31] 将一种命名为 5PM(5 μm 硅和 400 nm 聚甲基丙烯酸甲酯颗粒组成的二元胶体晶体) 的晶体用作人诱导多能干细胞培养和分化的底物，使用原子力显微镜、分子生物学和转座酶及染色质测序 (ATAC-seq) 分析了人诱导多能干细胞的细胞核、细胞骨架和表观遗传状态，结果表明 5PM 的表面形貌对心脏分化成熟的影响可能是普遍存在的。同年，TAN 等 [32] 通过将 hPSC-CMs 组装在氧化石墨烯修饰的蝴蝶翼上，构建了一个传导一致的人心肌贴片；TAKADA 等 [33] 将 hPSC-CMs 接种在带有倒 v 形结构的微加工纤维蛋白凝胶上；同样 XU 等 [34] 用聚二甲基硅氧烷结合表面微图案培养 hPSC-CMs，这些研究均发现通过增加培养过程中 hPSC-CMs 排列结构的均匀有序性，有助于促进其成熟 [35]。

2.3.4 基质硬度促 hPSC-CMs 成熟 细胞外基质硬度是细胞外微环境的重要特征之一，而胶原蛋白是细胞基质硬度的决定因素。从胚胎发育的初始阶段到出生后几周，胶原蛋白的持续积累使心肌组织刚度增加。小鼠实验表明，从胚胎到新生儿阶段，心肌细胞弹性模量增加了 3 倍 [36]。在骨髓间充质干细胞的多谱系细胞研究中，细胞外基质也被证明可以作为一种重要的外部微环境因素用于促进 hPSC-CMs 的成熟。早期研究表明，适当增加培养基中的细胞外基质硬度不仅能加快人胚胎干细胞的分化效率，还能提高其心肌肌钙蛋白 T、成人 α- 肌球蛋白重链与胎儿 β- 肌球蛋白重链的表达比例 [37]。为了更好地研究基质硬度对 hPSC-CMs 成熟的影响，后续研究主要集中在不同细胞黏附基质和 / 或培养表面刚度的作用。FEASTER 等 [38] 在培养基中设置了 0.4-0.8 mm 厚的未稀释基质胶层，将人诱导多功能干细胞衍生的心肌细 胞 (human induced pluripotent stem cell-derived cardiac myocytes，hiPSC-CMs) 放入其中培养 5-7 d 后，与对照组 (< 0.1 mm，1 ∶ 60 稀释基质胶层) 相比，0.4-0.8 mm 厚的未稀释基质胶组 hiPSC-CMs 具有稳健的收缩和成熟特性，表现为更多杆状形态和有序的肌原纤维排列，肌节长度和动作电位上冲速度显著增加。

2.3.5 生化方法调节促 hPSC-CMs 成熟 生化因素主要包括激素、代谢底物及部分非天然化学小分子，这些因素已被广泛用于调节 hPSC-CMs 的成熟 [39]。

(1) 激素小分子促 hPSC-CMs 成熟：对于激素来说，糖皮质激素、甲状腺激素和肾上腺素对心肌细胞的发育和成熟有显著影响。甲状腺激素三碘甲状腺氨酸 (thyroid hormone triiodothyronine，T3) 是主要的甲状腺激素，对心脏生长发育和正常心脏功能的维持具有调节作用。T3 可调节肌球蛋白重链、RYR2 和 SERCA2a 的表达以及胎儿 titin N2BA 到成人 titin N2B 的同工酶转换，T3 水平过低或异常通常与多种心脏疾病有关 [40]。虽然标准的 hiPSC-CMs 诱导培养基中含有甲状腺激素，但研究发现，在培养基中加入更高浓度的甲状腺激素可提高心肌细胞的成熟度。经过 1 周的 T3 培养，hiPSC-CMs 的大小、肌节长度和收缩力都显著增加。内源性糖皮质激素是胎儿心脏发育所必需的，在妊娠晚期至胎儿器官发育成熟这一阶段，糖皮质激素水平急剧增加。实验表明，糖皮质激素水平可改善小鼠心肌细胞的收缩力，促进 Z 盘和成熟肌纤维的形成，并增加线粒体的活力 [41]。此外，许多研究将 T3 和地塞米松联合培养诱导 hiPSC-CMs，发现 hiPSC-CMs 表现出更高的电生理成熟度 [42-43]。除甲状腺激素外，肾上腺素在心肌细胞的发育和成熟过程中也至关重要。肾上腺素可介导早期发育过程中的肥大反应和搏动率。实验表明，新生小鼠心室细胞的成熟受 α- 肾上腺素和 β- 肾上腺素的调节，其中 β- 肾上腺素可引起 hPSC-CMs 的搏动速率增加 [37]。

(2) 代谢底物促 hPSC-CMs 成熟：心脏可以利用葡萄糖、乳酸及其他碳水化合物来产生能量，而脂肪酸氧化仍是 ATP 的主要来源。如前所述，因胚胎发育和出生后环境的变化，随着心肌细胞的成熟，心肌细胞的主要代谢模式也发生了转变，由糖酵解转化为脂肪酸氧化，这一能量来源的转换不仅增加了线粒体的数量和代谢，而且促进了心肌细胞形态、结构和生理的成熟 [44]。研究表明，脂肪酸处理可以通过上调核因子相关因子 2 促进 hPSC-CMs 的成熟，并且显示出与成人心肌细胞相似的代谢特征 [45-46]。

YANG 等[47]在 hiPSCs 分化培养基中以生理浓度添加新生儿血清中所含的 3 种最丰富的脂肪酸 (棕榈酸、油酸和亚油酸)，发现脂肪酸处理可诱导心肌细胞肥大，并显著增加心肌细胞收缩力，伴随钙瞬态峰值高度和动力学的增强，同时脂肪酸还能增强线粒体的呼吸储备能力，促进 hiPSC-CMs 的成熟。HORIKOSHI 等[48]使用含有脂肪酸的培养基来模拟成年心肌细胞的代谢环境，实验结果表明，hiPSC-CMs 的线粒体数量、成熟相关基因的表达和耗氧量均增加。葡萄糖与脂肪酸的作用相反，对心肌细胞的成熟起抑制作用。NAKANO 等[49]发现，高糖培养基抑制了 hPSC-CMs 的遗传、结构、代谢和电生理成熟，实验结果表示高浓度葡萄糖对心肌细胞的成熟起抑制作用，主要与高糖水平激活缺氧诱导因子 1α，通过上调乳酸脱氢酶 A 或过氧化物酶体增殖物激活受体 α 表达来激活糖酵解并抑制氧化磷酸化有关。

(3) 化学小分子促 hPSC-CMs 成熟：除了生物小分子，还可通过化学小分子改善 hPSC-CMs 成熟度[50]，近期发现乙酰辅酶 A 羧化酶 2 抑制剂可促进脂肪酸利用的代谢转变，增强线粒体功能[51]，使用 AA、GW 及非诺贝特可激活过氧化物酶体增殖物激活受体，通过调节糖酵解和脂肪酸氧化改善 hPSC-CMs 成熟度[52-54]，齐墩果酸可通过促进丙酮酸激酶同工型转换促 hPSC-CMs 成熟[55]；POHJOLAINEN 等[56]合成 GATA4 靶向化合物抑制 GATA4-NKX2-5 协同作用，增加了 hiPSC-CMs 的代谢活性和心脏肌钙蛋白 T 的表达；天然分子 Tomatidine 及 AMPK 激活剂能够增加 T 管的密度、线粒体的数量和大小，增强了线粒体结构成熟[57-58]。

2.3.6 3D 培养促 hPSC-CMs 成熟 细胞存在于复杂的 3D 网络结构即细胞外基质中，其间复杂的物理和化学信号、细胞间相互作用等因素共同调节细胞的生长发育。心肌细胞成熟是一个复杂的过程，涉及多种信号通路，传统 2D 培养的方法不能完全重现这一过程。3D 培养通过更好地模拟自然组织，再现 2D 培养无法产生的复杂组织结构、细胞外微环境和细胞串扰等细胞相互作用，细胞更接近自然组织，包括细胞形态、细胞代谢和功能等[59-60]。目前，用于 hPSC-CMs 的 3D 培养系统一般包括类器官、3D 支架材料及共培养。

(1) 类器官培养促 hPSC-CMs 成熟：类器官是来源于胚胎干细胞、诱导多能干细胞或成体干细胞的体外 3D 多细胞簇，具有自我更新和自我组织能力，并能模拟体内器官的结构和功能特征，如与脱细胞的心脏基质组成 3D 结构[61]。近年来，人类心脏类器官组织的研究进展迅速。VARZIDEH 等[62]研究表明，人类心脏类器官组织中的心肌细胞比 2D 培养的心肌细胞更具成熟特征，表现为肌节和离子通道表达量的增加。将人类心脏类器官组织移植到免疫缺陷小鼠腹腔中可进一步增加离子通道蛋白的表达，促进 I、A 带和 T 管的形成，减少去极化时间并延长复极化时间。LI 等[63]设计了含有细胞黏附基序 –RG 和糖 – 葡萄糖 (Bio-Gluc) 的超分子组装糖肽 (Bio-Gluc-RGD)，可促进 hiPSC-CMs 球状体的形成，球状体中的 hiPSC-CMs 更易获得表型成熟，人类心脏类器官组织中的心肌细胞能更好地获得形态和功能的成熟，且能模拟从胎儿到成年心肌细胞的发育过程。

(2) 三维支架材料培养促 hPSC-CMs 成熟：使用 3D 支架材料构建与自然组织接近的 3D 环境也是促 hPSC-CMs 成熟的常用方法。DATTOLA 等[64]设计了一种由聚 (乙烯基) 醇组成的与肌肉组织细胞外基质刚度相似的生物相容性多孔 3D 支架，在此 3D 支架中培养 hiPSCs，其分化后的 hiPSC-CMs 表达较高的心肌组织肌节特异性标志物肌钙蛋白 T。ZHANG 等[65]利用静电纺丝技术构建了聚 –(ε– 己内酯) 纳米纤维支架，并将 hiPSC-CMs 接种到该支架中进行孵育，结果在 3D 纳米支架中观察到明显的肌膜重构和肌丝重定位过程，心肌成熟蛋白如 β-MHC 和 MLC2v 的表达量增加。hiPSC-CMs 具有成熟的 3D 形态，伴随着钙瞬态动力学的增强和最大上冲程速度的增加。近期，KERMANI 等[66]将 hPSC-CMs 培养在长方体 3D 微支架中发现 小管样结构明显增加。

(3) 细胞共培养促 hPSC-CMs 成熟：心肌细胞占心脏组织体积的大部分，约 75%，但只占心脏中存在的细胞总数的 30% 左右[67-68]，其余细胞大部分为非心肌细胞，主要为血管内皮细胞，其次是心脏成纤维细胞[69-70]。在体内心脏微环境中，心肌细胞与心脏成纤维细胞参与形成 3D 结构，其完整性主要由心脏成纤维细胞产生的细胞外基质维持，在胚胎心脏发育阶段以及心肌结构和功能成熟中发挥关键作用，同时心脏成纤维细胞也会调节和干扰心肌细胞的电行为[70]。研究表明，心肌细胞与成纤维细胞、内皮细胞和平滑肌细胞等非心肌细胞结合可以提高形态和功能方面的成熟度[71-73]。许多研究发现，共培养系统中非心肌细胞分泌的旁分泌因子在促进 hPSC-CMs 的增殖或成熟中起着关键作用。TAN 等[74]认为，在共培养系统中心前膜细胞分泌胰岛素样生长因子 2，可能对 hPSC-CMs 产生促增殖成熟作用。同时，考虑到细胞在 3D 环境中的生长更有利于其功能和结构的成熟，大部分方法使 hPSC-CMs 培养更加接近体内环境，将不同的心脏细胞结合在 3D 结构中，可以更好地模拟人类心脏组织中存在的相互作用、复杂信号和动态网络等[75-76]。GIACOMELLI 等[77]联合 hPSC-CMs、心脏成纤维细胞和上皮细胞构建 3D 心脏微组织，发现 hPSC-CMs 的肌节结构和 T 管结构得到了改善，能量代谢和电生理学也更加成熟。

2.3.7 多因素联合培养促 hPSC-CMs 成熟 研究表明，多因素联合应用可额外加速 hPSC-CMs 成熟[78-79]。SHEN 等[80]将钙补充与电起搏结合；SUN 等[81]设计了将 3D 培养和电刺激、部分生物化学分子调控相联合的 biowire 工程平台；最近发现激活 p53 后，可通过正向调节 FOXO-FOXM1 促进 3D 悬浮培养中 hPSC-CMs 成熟特性增加[82]。

hPSC-CMs 成熟的具体表现及其相关基因，见**表 1**。

体外合成微环境促 hPSC-CMs 成熟的方式，见**表 2**。

3 总结 Summary

3.1 既往该领域研究的贡献和存在的问题 目前，主要通过物理刺激、生物化学分子调控及 3D 培养等方式促进 hPSC-CMs 进一步成熟，使得 hPSC-CMs 在形态、结构以及功能上都更加贴近于成体的心肌细胞，为促 hPSC-CMs 成

表 1 | 人多能干细胞来源心肌细胞成熟的具体表现及其相关基因

成熟表现	相关基因	具体改变
细胞形态改变	与细胞骨架相关，具体基因不明	细胞体积增大，细胞由圆形转向棒状，细胞长宽比增加
细胞新陈代谢改变	CPT1B 等	线粒体数量增多，脂肪酸代谢增加
细胞收缩力改变	MYH7，MYL2，TNNT2 等	细胞收缩力增强，肌节长度增加，肌节结构有序性增加
细胞钙处理能力改变	ATP2A2，RYR2 等	肌浆网中 Ca^{2+} 储存增多，钙循环加快，细胞 T 小管增多
细胞电生理改变	KCNJ2(K^+ 通道)，SCN5A(Na^+ 通道)，CACNA1C(Ca^{2+} 通道)	细胞静息膜电位增大 (内外膜差距增加)，去极化速度加快，动作电位时间延长，细胞间动作电位传导速度加快，细胞自发活动电位减少

表 2 | 体外合成微环境促人多能干细胞来源心肌细胞成熟的方式

体外环境类型	改善人多能干细胞来源心肌细胞成熟度的方式	文献
电刺激	细胞体积增大、钙处理能力增强，肌原纤维组织结构改善	[20-23]
机械应力及表面形貌	细胞体积增大，肌原纤维组织结构改善，收缩力增加	[24-35]
基材刚度	增强钙处理能力，增强氧化代谢，增加收缩力	[36-38]
小分子添加	脂肪酸代谢增强，细胞收缩力增加，细胞氧化和糖酵解代谢增强，细胞钙循环增强，细胞膜静息电位增加，细胞去极化电位运行速度升高，细胞体积增加，肌原纤维组织结构改善，T 型小管形成	[43-57]
3D 培养	细胞体积增大，肌原纤维组织结构改善，T 小管形成，细胞中闰盘样结构形成，细胞收缩力增强，钙处理能力增强，细胞氧化代谢方式转变，离子通道相关的基因表达增加，形成工程化心脏组织及球状体结构	[61-76]

熟提供了一定的理论基础与实践经验，推动 hPSC-CMs 更快应用于研究治疗。尽管体外合成微环境促进 hPSC-CMs 成熟研究已取得许多进展，但就目前的研究来看，完善的促 hPSC-CMs 成熟体系仍然没有建立，这些研究提示将不同体外合成微环境进行联合应用可更高效率促进 hiPSC-CMs 的成熟。同时，各研究对于 hPSC-CMs 成熟的评价标准和方法不尽相同，需要建立一个成熟的评价体系和标准，对保证实验结果的可靠性和加速获得符合临床应用标准的 hPSC-CMs 具有重要意义。

3.2 作者综述区别于他人他篇的特点 该综述从物理、化学、生物因素及 3D 培养方面总结了体外合成微环境对 hPSC-CMs 成熟的影响，为实现 hPSC-CMs 在心血管疾病的临床转化应用提供依据。同时总结了多因素相结合的方式，可能成为人工合成微环境促 hPSC-CMs 成熟的热点。

3.3 综述的局限性 由于现有的研究多倾向于提高 hPSC-CMs 成熟度，扩大其应用范围，而较少研究相关通路的改变，故作者仅是片面描述了体外合成环境对于 hPSC-CMs 成熟度的影响，未能从更深层次的分子机制进行阐述。

3.4 综述的重要意义 此文章旨在对体外微环境促进 hPSC-CMs 成熟的研究现状展开综述，加快 hPSC-CMs 进入临床应用，相信不久的将来随着 hPSCs 研究的深入，有望在心血管疾病治疗领域发挥更大作用。

3.5 课题组专家对未来的建议 如何促进 hPSC-CMs 成熟，已成为近期研究的焦点和热点，但其涉及的具体相关机制需要进一步研究。通过有效提高 hPSC-CMs 成熟度，将为推进 hPSC-CMs 应用于临床提供理论及实验依据。

作者贡献：刘璐负责综述构思设计，刘璐、钟畅负责文章写作校对，余欣、任晨媛、巩杨杨参与文献收集、分析总结，王迎斌、周平负责项目指导。

利益冲突：文章的全部作者声明，在课题研究和文章撰写过程中不存在利益冲突。

出版规范：该文章撰写遵守国际医学期刊编辑委员会《系统综述和荟萃分析报告规范》(PRISMA 指南)。文章出版前已经过专业反剽窃文献检测系统进行 3 次查重。文章经小同行外审专家双盲外审，同行评议认为文章符合期刊发稿宗旨。

4 参考文献 References

[1] VIRANI SS, ALONSO A, BENJAMIN EJ, et al. Heart Disease and Stroke Statistics-2020 Update: A Report From the American Heart Association. Circulation. 2020;141(9):e139-e596.
[2] MURRY CE, MACLELLAN WR. Stem cells and the heart-the road ahead. Science. 2020;367(6480):854-855.
[3] TENREIRO MF, LOURO AF, ALVES PM, et al. Next generation of heart regenerative therapies: progress and promise of cardiac tissue engineering. NPJ Regen Med. 2021;6(1):30.
[4] 李涵，国海东 . 诱导多能干细胞衍生的心肌细胞成熟问题及解决策略 [J]. 中国组织化学与细胞化学杂志 ,2020,29(1):81-86.
[5] LOPEZ CA, AL-SIDDIQI HHAA, PURNAMA U, et al. Physiological and pharmacological stimulation for in vitro maturation of substrate metabolism in human induced pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes. Sci Rep. 2021; 11(1):7802.
[6] FORGHANI P, RASHID A, ARMAND LC, et al. Simulated microgravity improves maturation of cardiomyocytes derived from human induced pluripotent stem cells. Sci Rep. 2024;14(1):2243.
[7] JI S, TU W, HUANG C, et al. The Aurora Kinase Inhibitor CYC116 Promotes the Maturation of Cardiomyocytes Derived from Human Pluripotent Stem Cells. Mol Cells. 2022;45(12):923-934.
[8] XIANG H, XU H, TAN B, et al. AKAP1 Regulates Mitochondrial Dynamics during the Fatty-Acid-Promoted Maturation of Human-Induced Pluripotent Stem Cell-Derived Cardiomyocytes as Indicated by Proteomics Sequencing. Int J Mol Sci. 2023;24(9):8112.
[9] GUO Y, PU WT. Cardiomyocyte Maturation: New Phase in Development. Circ Res. 2020;126(8):1086-1106.
[10] KARBASSI E, FENIX A, MARCHIANO S, et al. Cardiomyocyte maturation: advances in knowledge and implications for regenerative medicine. Nat Rev Cardiol. 2020; 17(6):341-359.
[11] GARAY BI, GIVENS S, ABREU P, et al. Dual inhibition of MAPK and PI3K/AKT pathways enhances maturation of human iPSC-derived cardiomyocytes. Stem Cell Reports. 2022;17(9):2005-2022.
[12] NOH JM, CHOI SC, SONG MH, et al. The Activation of the LIMK/Cofilin Signaling Pathway via Extracellular Matrix-Integrin Interactions Is Critical for the Generation of Mature and Vascularized Cardiac Organoids. Cells. 2023;12(16):2029.
[13] 叶亮 .AMPK 调节线粒体功能促进 hiPSC-CMs 成熟的研究 [D]. 重庆 : 重庆医科大学 ,2021.
[14] 李晓童 . 基质硬度对人 iPSCs 源性心肌细胞成熟性的影响及机制 [D]. 上海 : 第二军医大学 ,2017.
[15] SCUDERI GJ, BUTCHER J. Naturally Engineered Maturation of Cardiomyocytes. Front Cell Dev Biol. 2017;5:50.
[16] 刘经纶，秦丽颖，廖凌子，等 . 调控人多能干细胞来源心肌样细胞分化成熟的信号通路及其相关化合物研究进展 [J]. 中国细胞生物学学报 ,2021, 43(9):1861-1868.
[17] SUN X, NUNES SS. Bioengineering Approaches to Mature Human Pluripotent Stem Cell-Derived Cardiomyocytes. Front Cell Dev Biol. 2017;5:19.
[18] GU X, ZHOU F, MU J. Recent Advances in Maturation of Pluripotent Stem Cell-Derived Cardiomyocytes Promoted by Mechanical Stretch. Med Sci Monit. 2021;27:e931063.
[19] PROTZE SI, LEE JH, KELLER GM. Human Pluripotent Stem Cell-Derived Cardiovascular Cells: From Developmental Biology to Therapeutic Applications. Cell Stem Cell. 2019;25(3):311-327.
[20] LIU Y, OYUNBAATAR NE, SHANMUGASUNDARAM A, et al. Nano-textured polydimethylsiloxane cantilever with embedded silver nanowire networks for drug screening applications. Sens Actuators B Chem. 2023;390:134014.
[21] SOTTAS V, WAHL CM, TRACHE MC, et al. Improving electrical properties of iPSC-cardiomyocytes by enhancing Cx43 expression. J Mol Cell Cardiol. 2018;120: 31-41.
[22] RONALDSON-BOUCHARD K, MA SP, YEAGER K, et al. Advanced maturation of human cardiac tissue grown from pluripotent stem cells. Nature. 2018; 556(7700):239-243.

[23] GONZALEZ G, NELSON AC, HOLMAN AR, et al. Conductive electrospun polymer improves stem cell-derived cardiomyocyte function and maturation. Biomaterials. 2023;302:122363.
[24] 戴越，周帆，郑建伟．机械牵张对人诱导多能干细胞分化来源的心肌细胞成熟的影响 [J]. 北京生物医学工程 ,2023,42(2):130-137.
[25] ABILEZ OJ, TZATZALOS E, YANG H, et al. Passive Stretch Induces Structural and Functional Maturation of Engineered Heart Muscle as Predicted by Computational Modeling. Stem Cells. 2018;36(2):265-277.
[26] LEONARD A, BERTERO A, POWERS JD, et al. Afterload promotes maturation of human induced pluripotent stem cell derived cardiomyocytes in engineered heart tissues. J Mol Cell Cardiol. 2018;118:147-158.
[27] LUX M, ANDRÉE B, HORVATH T, et al. In vitro maturation of large-scale cardiac patches based on a perfusable starter matrix by cyclic mechanical stimulation. Acta Biomater. 2016;30:177-187.
[28] KYRIAKOU S, LUBIG A, SANDHOFF CA, et al. Influence of Diameter and Cyclic Mechanical Stimulation on the Beating Frequency of Myocardial Cell-Laden Fibers. Gels. 2023;9(9):677.
[29] YANG X, PABON L, MURRY CE. Engineering adolescence: maturation of human pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes. Circ Res. 2014;114(3):511-523.
[30] CUI C, WANG J, QIAN D, et al. Binary Colloidal Crystals Drive Spheroid Formation and Accelerate Maturation of Human-Induced Pluripotent Stem Cell-Derived Cardiomyocytes. ACS Appl Mater Interfaces. 2019; 11(4):3679-3689.
[31] LIN Y, ZHANG F, CHEN S, et al. Binary Colloidal Crystals Promote Cardiac Differentiation of Human Pluripotent Stem Cells via Nuclear Accumulation of SETDB1. ACS Nano. 2023;17(3):3181-3193.
[32] TAN Y, LU T, CHEN Y, et al. Engineering a conduction-consistent cardiac patch with graphene oxide modified butterfly wings and human pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes. Bioeng Transl Med. 2023;8(3):e10522.
[33] TAKADA T, SASAKI D, MATSUURA K, et al. Aligned human induced pluripotent stem cell-derived cardiac tissue improves contractile properties through promoting unidirectional and synchronous cardiomyocyte contraction. Biomaterials. 2022; 281:121351.
[34] XU C, WANG L, YU Y, et al. Bioinspired onion epithelium-like structure promotes the maturation of cardiomyocytes derived from human pluripotent stem cells. Biomater Sci. 2017;5(9):1810-1819.
[35] JIMENEZ-VAZQUEZ EN, JAIN A, JONES DK. Enhancing iPSC-CM Maturation Using a Matrigel-Coated Micropatterned PDMS Substrate. Curr Protoc. 2022;2(11):e601.
[36] AHMED RE, ANZAI T, CHANTHRA N, et al. A Brief Review of Current Maturation Methods for Human Induced Pluripotent Stem Cells-Derived Cardiomyocytes. Front Cell Dev Biol. 2020;8:178.
[37] ZHANG R, GUO T, HAN Y, et al. Design of synthetic microenvironments to promote the maturation of human pluripotent stem cell derived cardiomyocytes. J Biomed Mater Res B Appl Biomater. 2021;109(7): 949-960.
[38] FEASTER TK, CADAR AG, WANG L, et al. Matrigel Mattress: A Method for the Generation of Single Contracting Human-Induced Pluripotent Stem Cell-Derived Cardiomyocytes. Circ Res. 2015;117(12):995-1000.
[39] WANG Y, YU M, HAO K, et al. Cardiomyocyte Maturation-the Road is not Obstructed. Stem Cell Rev Rep. 2022;18(8):2966-2981.
[40] TAN SH, YE L. Maturation of Pluripotent Stem Cell-Derived Cardiomyocytes: a Critical Step for Drug Development and Cell Therapy. J Cardiovasc Transl Res. 2018;11(5):375-392.
[41] WU P, DENG G, SAI X, et al. Maturation strategies and limitations of induced pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes. Biosci Rep. 2021;41(6): BSR20200833.
[42] PARIKH SS, BLACKWELL DJ, GOMEZ-HURTADO N, et al. Thyroid and Glucocorticoid Hormones Promote Functional T-Tubule Development in Human-Induced Pluripotent Stem Cell-Derived Cardiomyocytes. Circ Res. 2017;121(12): 1323-1330.
[43] WANG L, WADA Y, BALLAN N, et al. Triiodothyronine and dexamethasone alter potassium channel expression and promote electrophysiological maturation of human-induced pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes. J Mol Cell Cardiol. 2021;161:130-138.
[44] GARBERN JC, LEE RT. Mitochondria and metabolic transitions in cardiomyocytes: lessons from development for stem cell-derived cardiomyocytes. Stem Cell Res Ther. 2021;12(1):177.
[45] 高桢，周帆，穆军升．脂肪酸对诱导多能干细胞分化成熟为心肌细胞的影响进展 [J]. 中华实验外科杂志 ,2022,39(11):2285-2288.
[46] 张心愿．人诱导多能干细胞来源心肌细胞成熟过程中 NRF2 对能量代谢的调节作用 [D]. 重庆：重庆医科大学 ,2021.
[47] YANG X, RODRIGUEZ ML, LEONARD A, et al. Fatty Acids Enhance the Maturation of Cardiomyocytes Derived from Human Pluripotent Stem Cells. Stem Cell Reports. 2019;13(4):657-668.
[48] HORIKOSHI Y, YAN Y, TERASHVILI M, et al. Fatty Acid-Treated Induced Pluripotent Stem Cell-Derived Human Cardiomyocytes Exhibit Adult Cardiomyocyte-Like Energy Metabolism Phenotypes. Cells. 2019; 8(9):1095.
[49] NAKANO H, MINAMI I, BRAAS D, et al. Glucose inhibits cardiac muscle maturation through nucleotide biosynthesis. Elife. 2017;6:e29330.
[50] 陈颖，杨礼，宫艺其，等 .Torin1、Nutlin-3a 促进人诱导多能干细胞来源早期心肌细胞成熟的初步研究 [J]. 组织工程与重建外科 ,2021,17(6):511-519.
[51] CORREIA C, CHRISTOFFERSSON J, TEJEDOR S, et al. Enhancing Maturation and Translatability of Human Pluripotent Stem Cell-Derived Cardiomyocytes through a Novel Medium Containing Acetyl-CoA Carboxylase 2 Inhibitor. Cells. 2024;13(16):1339.
[52] LEE SG, RHEE J, SEOK J, et al. Promotion of maturation of human pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes via treatment with the peroxisome proliferator-activated receptor alpha agonist Fenofibrate. Stem Cells Transl Med. 2024;13(8):750-762.
[53] CHIRICO N, KESSLER EL, MAAS RGC, et al. Small molecule-mediated rapid maturation of human induced pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes. Stem Cell Res Ther. 2022;13(1):531.
[54] WICKRAMASINGHE NM, SACHS D, SHEWALE B, et al. PPARdelta activation induces metabolic and contractile maturation of human pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes. Cell Stem Cell. 2022;29(4):559-576.e7.
[55] 谢敏，周琴，颜亮，等．齐墩果酸对 hiPSCs 衍生心肌细胞成熟的促进作用及机制 [J]. 解放军医学杂志 ,2021,46(4):319-326.
[56] POHJOLAINEN L, KINNUNEN SM, AUNO S, et al. Switching of hypertrophic signalling towards enhanced cardiomyocyte identity and maturity by a GATA4-targeted compound. Stem Cell Res Ther. 2024;15(1):5.
[57] KIM YS, YOON JW, KIM D, et al. Tomatidine-stimulated maturation of human embryonic stem cell-derived cardiomyocytes for modeling mitochondrial dysfunction. Exp Mol Med. 2022;54(4):493-502.
[58] LI D, ARMAND LC, SUN F, et al. AMPK activator-treated human cardiac spheres enhance maturation and enable pathological modeling. Stem Cell Res Ther. 2023;14(1):322.
[59] MIRBAGHERI M, ADIBNIA V, HUGHES BR, et al. Advanced cell culture platforms: a growing quest for emulating natural tissues. Mater Horiz. 2019; 6(1): 45-71.
[60] ZHANG G, LI W, YU M, et al. Electric-Field-Driven Printed 3D Highly Ordered Microstructure with Cell Feature Size Promotes the Maturation of Engineered Cardiac Tissues. Adv Sci (Weinh). 2023;10(11):e2206264.
[61] COCA E, CHO S, KAUFFMAN C, et al. Environmental Cues Facilitate Maturation and Patterning of Human Induced Pluripotent Stem Cell-Derived Cardiomyocytes. Cell Physiol Biochem. 2024;58(5):538-547.
[62] VARZIDEH F, PAHLAVAN S, ANSARI H, et al. Human cardiomyocytes undergo enhanced maturation in embryonic stem cell-derived organoid transplants. Biomaterials. 2019;192:537-550.
[63] LI H, YE W, YU B, et al. Supramolecular Assemblies of Glycopeptides Enhance Gap Junction Maturation of Human Induced Pluripotent Stem Cell-Derived Cardiomyocytes via Inducing Spheroids Formation to Optimize Cardiac Repair. Adv Healthc Mater. 2023;12(25):e2300696.
[64] DATTOLA E, PARROTTA EI, SCALISE S, et al. Development of 3D PVA scaffolds for cardiac tissue engineering and cell screening applications. RSC Adv. 2019;9(8):4246-4257.
[65] ZHANG M, XU Y, CHEN Y, et al. Three-Dimensional Poly-(ε-Caprolactone) Nanofibrous Scaffolds Promote the Maturation of Human Pluripotent Stem Cells-Induced Cardiomyocytes. Front Cell Dev Biol. 2022;10:875278.
[66] KERMANI F, MOSQUEIRA M, PETERS K, et al. Membrane remodelling triggers maturation of excitation-contraction coupling in 3D-shaped human-induced pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes. Basic Res Cardiol. 2023;118(1):13.
[67] CAMELLITI P, BORG TK, KOHL P. Structural and functional characterisation of cardiac fibroblasts. Cardiovasc Res. 2005;65(1):40-51.
[68] BRUTSAERT DL. Cardiac endothelial-myocardial signaling: its role in cardiac growth, contractile performance, and rhythmicity. Physiol Rev. 2003;83(1):59-115.
[69] PINTO AR, ILINYKH A, IVEY MJ, et al. Revisiting Cardiac Cellular Composition. Circ Res. 2016;118(3):400-409.
[70] KLESEN A, JAKOB D, EMIG R, et al. Cardiac fibroblasts : Active players in (atrial) electrophysiology? Herzschrittmacherther Elektrophysiol. 2018;29(1):62-69.
[71] YOSHIDA S, MIYAGAWA S, FUKUSHIMA S, et al. Maturation of Human Induced Pluripotent Stem Cell-Derived Cardiomyocytes by Soluble Factors from Human Mesenchymal Stem Cells. Mol Ther. 2018;26(11):2681-2695.
[72] VARZIDEH F, MAHMOUDI E, PAHLAVAN S. Coculture with noncardiac cells promoted maturation of human stem cell-derived cardiomyocyte microtissues. J Cell Biochem. 2019;120(10):16681-16691.
[73] DUNN KK, REICHARDT IM, SIMMONS AD, et al. Coculture of Endothelial Cells with Human Pluripotent Stem Cell-Derived Cardiac Progenitors Reveals a Differentiation Stage-Specific Enhancement of Cardiomyocyte Maturation. Biotechnol J. 2019;14(8):e1800725.
[74] TAN JJ, GUYETTE JP, MIKI K, et al. Human iPS-derived pre-epicardial cells direct cardiomyocyte aggregation expansion and organization in vitro. Nat Commun. 2021;12(1):4997.
[75] MA Z, WANG J, LOSKILL P, et al. Self-organizing human cardiac microchambers mediated by geometric confinement. Nat Commun. 2015;6:7413.
[76] WARMFLASH A, SORRE B, ETOC F, et al. A method to recapitulate early embryonic spatial patterning in human embryonic stem cells. Nat Methods. 2014;11(8):847-854.
[77] GIACOMELLI E, MERAVIGLIA V, CAMPOSTRINI G, et al. Human-iPSC-Derived Cardiac Stromal Cells Enhance Maturation in 3D Cardiac Microtissues and Reveal Non-cardiomyocyte Contributions to Heart Disease. Cell Stem Cell. 2020; 26(6):862-879.e11.
[78] RUAN JL, TULLOCH NL, RAZUMOVA MV, et al. Mechanical Stress Conditioning and Electrical Stimulation Promote Contractility and Force Maturation of Induced Pluripotent Stem Cell-Derived Human Cardiac Tissue. Circulation. 2016;134(20):1557-1567.
[79] MAIHEMUTI W, MURATA K, ABULAITI M, et al. Simultaneous electro-dynamic stimulation accelerates maturation of engineered cardiac tissues generated by human iPS cells. Biochem Biophys Res Commun. 2024;733:150605.
[80] SHEN S, SEWANAN LR, SHAO S, et al. Physiological calcium combined with electrical pacing accelerates maturation of human engineered heart tissue. Stem Cell Reports. 2022;17(9):2037-2049.
[81] SUN X, NUNES SS. Biowire platform for maturation of human pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes. Methods. 2016;101:21-26.
[82] VELAYUTHAM N, GARBERN JC, ELWELL HLT, et al. P53 Activation Promotes Maturational Characteristics of Pluripotent Stem Cell-Derived Cardiomyocytes in 3-Dimensional Suspension Culture Via FOXO-FOXM1 Regulation. J Am Heart Assoc. 2024;13(13):e033155.

（责任编辑：ZLJ，MZH，ZN，QY）

体外合成微环境促进人多能干细胞来源心肌细胞成熟的学术进展及临床应用
文章特色分析

一、文章重要性
1. 解决心肌细胞成熟度不足的核心问题
- hPSC-CMs 在体外分化后仍处于胎儿样未成熟状态，表现为结构、电生理、代谢等方面的不成熟，严重限制了其在疾病建模、药物筛选和细胞治疗中的应用。
- 文章系统梳理了多种促成熟策略，为实现 hPSC-CMs 的临床转化提供了理论依据和实践路径。
2. 推动心血管再生医学与组织工程发展
- 成熟的 hPSC-CMs 是构建体外心脏模型、心脏类器官、工程化心肌组织的基础，对心脏疾病机制研究、药物毒性评估、个体化治疗具有重要意义。
3. 整合多学科方法与技术
- 文章融合了生物材料学、生物力学、电生理学、代谢工程等多个前沿领域，体现了交叉学科研究在解决生物医学难题中的关键作用。

二、文章创新性特色
1. 系统分类与多维度分析
- 将促成熟方法分为物理刺激（电、机械、形貌、刚度）、生化调控（激素、代谢底物、小分子）、3D 培养（类器官、支架、共培养） 等，结构清晰，涵盖全面。
2. 强调“合成微环境”的整体性与可控性
- 不同于传统单一因素研究，本文强调微环境的综合调控，如电-机械联合、3D+生化因子等多因素协同策略，更具现实意义和转化潜力。
3. 聚焦“临床应用导向”的研究趋势
- 不仅总结机制，还重点关注如何将成熟的心肌细胞用于心脏修复、药物筛选、疾病建模等实际场景，体现了从基础研究向临床应用的过渡。
4. 提出“标准化评价体系”的缺失与必要性
- 文章指出当前研究缺乏统一的成熟度评价标准，呼吁建立系统化、可重复的成熟度评估体系，对领域规范化发展具有指导意义。

三、对学科的启示
1. 微环境工程是细胞成熟的关键路径
- 研究表明，单纯依靠细胞自主分化不足以实现成熟，必须通过人工构建的物理、化学、生物微环境来模拟体内发育过程。
2. 多模态联合策略是未来方向
- 单一方法效果有限，电刺激+机械负荷+代谢调控+3D 结构等多模态联合干预，有望更高效地推动 hPSC-CMs 向成人表型转变。
3. 需加强分子机制与通路的深入研究
- 文章也指出目前对促成熟机制的了解仍较浅，未来应加强如 Hippo-YAP、PI3K-AKT、代谢重编程等通路在成熟过程中的作用机制研究。
4. 推动标准化与临床转化并重
- 建议建立统一的成熟度评估指标，并推动 hPSC-CMs 在心脏修复、个性化医疗、药物开发中的实际应用，加速从实验室到临床的转化。

总结
本综述不仅在内容上系统、前沿、实用，更在方法论和学科发展上提出了建设性方向，对从事干细胞生物学、组织工程、心血管再生医学等领域的研究者具有重要的参考价值和启发意义。