

细胞工程和基因技术修复已损害的房室传导或建立人工房室通路**

董皓¹, 李萍¹, 李璇²

Genetic engineering and cell engineering for repair of damaged atrioventricular conduction or construction of artificial atrioventricular bypass

Dong Hao¹, Li Ping¹, Li Xuan²

Abstract

BACKGROUND: Using cell-engineering and gene technology to treat bradyarrhythmia has features such as not requiring external energy resource and not being regulated by the neural hormone. It is a way which is more similar to the nature human body. These advantages are incomparable to drugs and electronic pacing.

OBJECTIVE: To review the development and existing problems in using genetic engineering and cell engineering to treat bradyarrhythmia.

METHODS: A computer online search was performed to retrieve papers published between 2000-01 and 2011-06 in PubMed and CNIK database.

RESULTS AND CONCLUSION: Genetic engineering healing bradyarrhythmia paid close attention to β 2-adrenergic receptor and Kir2.1 first. And HCN, AC-VI and Tbx3 are the most popular ones in recent research. The stem cell transplantations including the stem cell modified by gene, the combination of cells, iPS and CSCs have displayed their great potential in the treatment of bradyarrhythmia. The obvious alternative here would be to build an atrioventricular bypass tract to permit the normal sinus nodal impulse to propagate to the ventricle. However, there are still a lot of key issues to deal with, such as the optimization of the atrioventricular delay, the program design of automatically responding and the position of the artificial bypass tract.

Dong H, Li P, Li X. Genetic engineering and cell engineering for repair of damaged atrioventricular conduction or construction of artificial atrioventricular bypass. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu. 2012;16(1):167-170.
[http://www.crter.cn http://en.zglckf.com]

摘要

背景: 利用细胞工程和基因技术治疗缓慢性心律失常具有不需要外来能源, 不受机体神经激素调控的特点, 是更为接近人体的起搏方式, 具有药物和电子起搏治疗所无法比拟的优势。

目的: 综述目前利用细胞工程和基因技术治疗缓慢性心律失常的进展及存在的问题。

方法: 检索 2000-01/2011-06 PubMed 数据库和万方数据库相关文献。

结果与结论: 基因工程技术治疗缓慢性心律失常最早被关注的是 β 2 肾上腺素受体基因、Kir2.1 基因, 目前研究热门的为 HCN 基因、AC-VI 基因和 Tbx3 基因。细胞工程中的干细胞移植(包括基因修饰干细胞移植)、细胞融合以及新兴的诱导多能干细胞和成体心肌干细胞移植技术也展示了其治疗缓慢性心律失常的巨大潜能。因此, 利用细胞工程和基因技术修复已经损害的房室传导通路或建立一个人工的房室旁路, 允许正常的窦性电活动传导至心室是一个更好的选择, 但仍很多关键的问题有待解决, 比如最佳化的房室延迟、自动应答的程序设计、人工通路的位置如何固定等。

关键词: 缓慢性心律失常; 细胞工程; 基因工程; 生物起搏

doi:10.3969/j.issn.1673-8225.2012.01.036

董皓, 李萍, 李璇. 细胞工程和基因技术修复已损害的房室传导或建立人工房室通路[J]. 中国组织工程研究, 2012, 16(1):167-170. [http://www.crter.org http://cn.zglckf.com]

¹Department of Cardiovascular Medicine, the Second Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang 330066, Jiangxi Province, China; ²Medical College of Nanchang University, Nanchang 330066, Jiangxi Province, China

Dong Hao*, Studying for master's degree, Department of Cardiovascular Medicine, the Second Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang 330066, Jiangxi Province, China tinydice@163.com

Correspondence to: Li Ping, Doctor, Professor, Chief physician, Master's supervisor, Department of Cardiovascular Medicine, the Second Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang 330066, Jiangxi Province, China lipingsydney@163.com

Supported by: the National Natural Science Foundation of China, No. 30960125*

Received: 2011-06-12
Accepted: 2011-07-10

0 引言

缓慢性心律失常是因心脏起搏功能障碍或传导功能减退而引起的以心率减慢为特征的一组疾病, 临床以窦性心动过缓、病态窦房结综合征、房室传导阻滞多见。目前对症状性缓慢性心律失常最有效的治疗方法仍为电子心脏起搏器的植入, 但电子起搏器存在电池寿命有限, 对机体神经激素调节缺乏反应等固有缺陷。为了解决电子起搏器的这些问题, 早在 20 世纪 80 年代就有研究尝试在动物实验中通过窦房结组织移植来治疗病窦综合征和房室

传导阻滞, 虽然这些研究都归于失败, 但人们总在努力构建出更加符合生理功能“生物起搏器”。

近年来随着基因和细胞工程技术的发展, 已有众多体内和体外实验成功地利用基因过表达、基因抑制、干细胞基因修饰、细胞融合、成体心肌干细胞等相关技术对机体受损的自律性节律点或传导系统进行修复或替代, 为临床上治疗缓慢性心律失常带来了新的希望。但是也应看到, 目前这些技术仍不成熟, 要想从实验室应用于临床, 还有很多问题需要解决。文章对近年来利用基因和细胞工程技术治疗缓慢性心律失常所取得的成果及存在的问题进行综述。

¹ 南昌大学第二附属医院心血管内科, 江西省南昌市 330006; ² 南昌大学医学院, 江西省南昌市 330006

董皓★, 男, 1987年生, 江西省湖口县人, 汉族, 南昌大学研究生院医学部在读硕士, 主要从事基因细胞工程和生物起搏方面的研究。
tinymice@163.com

通讯作者: 李萍, 博士, 教授, 主任医师, 硕士生导师, 南昌大学第二附属医院心血管内科, 江西省南昌市 330006
lipingsydney@163.com

中图分类号: R318
文献标识码: B
文章编号: 1673-8225 (2012)01-00167-04

收稿日期: 2011-06-12
修回日期: 2011-07-10
(20110607012/GW-W)

1 资料和方法

1.1 检索策略 由第一作者检索 2000-01/2011-06 PubMed 数据库和万方数据库。中文检索词为“缓慢性心律失常, 基因工程, 细胞工程”, 英文检索词为“bradyarrhythmias, genetic engineering, cell engineering”。另以直接检索法手工检索了 2009-01/2011-06《中国组织工程研究与临床康复》、《中国心脏起搏与心电生理杂志》、《郑州大学学报: 医学版》有关细胞工程和基因治疗缓慢性心律失常的文献。

1.2 纳入与排除标准

入选标准: ①文章主题与利用基因和细胞工程技术治疗缓慢性心律失常的研究相关。②文章内容论据可靠, 观点明确。

排除标准: 内容重复或陈旧的文献。

1.3 文献评价 初检得到 230 篇文献, 最后对符合标准的 47 篇文献进行归纳分析。文献[1-24]探讨了基因工程技术治疗缓慢性心律失常的研究进展及存在的问题, 文献[25-41]探讨了细胞工程技术治疗的研究进展及存在的问题, 文献[42-47]探讨了基因和细胞工程技术治疗未来的发展方向。

2 结果

2.1 细胞工程技术治疗缓慢性心律失常 细胞工程技术治疗缓慢性心律失常的原理是通过移植外源性起搏细胞并与宿主细胞偶联或融合来构建生物心脏起搏。目前主要有干细胞移植、诱导多能干细胞、成体心肌干细胞等方案。

干细胞移植: 干细胞是一类原始的未分化的细胞, 它具有多向分化的潜能。根据干细胞这种特性, 可将其分化成具有起搏功能的细胞, 对受损的节律细胞进行修复或替代。

单纯的干细胞移植目前应用较多的是胚胎干细胞和人骨髓间充质干细胞。已有研究通过将胚胎干细胞在体外诱导分化成的心肌细胞移植至房室传导阻滞动物模型的心室, 检测到了来源于移植部位的室性心律, 且移植细胞和周围心肌细胞形成了缝隙连接^[1]。Wiese 等^[2]利用苏拉名作为诱导剂把胚胎干细胞诱导出了具有 If 电流的类窦房结细胞。人骨髓间充质干细胞可以自体提供, 已被证明不存在免疫排斥, 其生物安全性较为肯定, 故其在构建心脏起搏方

面具有独特的优势^[3]。人骨髓间充质干细胞除了能分化为普通心肌细胞, 国内的一些学者采用窦房结细胞接触和窦房结细胞裂解液诱导人骨髓间充质干细胞已获得了具有窦房结表型的细胞^[4-6]。

干细胞移植治疗缓慢性心律失常存在诸多问题: 胚胎干细胞存在较难控制其分化方向、免疫原性、肿瘤形成、可能的致心律失常作用以及伦理方面等问题从而限制了其在临床的应用; 人骨髓间充质干细胞没有特异的起搏离子通道, If 电流很弱, 维持起搏的长效性有待进一步观察。

诱导多能干细胞: 诱导多能干细胞的原理是通过向皮肤成纤维细胞加入干细胞相关基因, 诱导成纤维细胞转化成类多能胚胎干细胞。进一步的研究表明, 诱导多能干细胞能分化为心房肌、心室肌和房室结样细胞^[7-8]。但目前未见有诱导多能干细胞诱导后的细胞能产生 If 电流的相关报道, 而且由于其潜在的致癌性, 诱导多能干细胞移植疗效和安全性还有待观察。

成体心肌干细胞: 成体心肌组织中存在着具有心肌分化潜能的成体心肌干细胞, 最近的研究表明, 无论在正常还是病理状态下, 成体心肌干细胞都具分化潜能, 这为利用细胞工程技术治疗缓慢性心律失常提供了一个新的途径^[9]。Zhang 等^[10]通过分离犬成体心肌干细胞, 成功的将这些具有无限增殖特性的成体心肌干细胞诱导成能够产生 If 电流的类窦房结细胞。此后 Zhang 等^[11]进一步发现, 干细胞表面标记 c-kit 阳性的成体心肌干细胞通过 5-氮胞苷诱导能获得更多的类窦房结细胞。但是, 成体心肌干细胞来源尚存在一些质疑, 有报道发现成体心肌干细胞表达肥大细胞标志, 从而认为成体心肌干细胞实为免疫系统来源^[12]。

窦房结细胞移植: Ruhparwar 等^[13]将幼犬的心房肌细胞(含窦房结细胞)移植至完全性房室传导阻滞模型犬的左室壁, 结果显示移植细胞存活, 移植细胞和宿主细胞之间有缝隙连接蛋白 43 的表达, 并观察到了起源于异体心肌细胞移植部位的室性逸搏心律。但与窦房结组织移植一样, 异体细胞移植存在着免疫排斥, 移植后的细胞活力较差。自体窦房结细胞移植也有相关报道^[14], 但细胞来源困难, 移植细胞的寿命及对移植部位的微环境的长期适应性也有待于进一步观察。

细胞融合: 细胞移植存在的另一个问题是细胞的趋化作用导致移植细胞产生的异位起搏点

位置不固定。出于这个原因,人们一直在寻找一种生物封包技术,既能使移植细胞的位置得以固定,又不影响移植细胞与宿主细胞间缝隙连接的建立。细胞融合技术有望解决这一难题。Cho 等^[15]将设计表达 HCN1 基因的成纤维细胞与心肌细胞进行融合,在生成的融合细胞中观察到了自发的除极电位,且对儿茶酚胺具有良好的反应,随后将融合细胞移植到豚鼠的左室壁也观察到了来自心室的异位心律。

2.2 基因工程技术治疗缓慢性心律失常 基因工程技术治疗缓慢性心律失常的原理是过表达或抑制心肌细胞的某些特定基因,诱导心脏中的非起搏细胞产生起搏特性,使之成为新的起搏点。目前主要通过以下方式产生起搏活动^[16-17]。

过表达 HCN 基因及其变异基因: If 电流由超极化激活的环核苷酸门控的离子通道基因(hyperpolarization activated cyclic nucleotide-gated channel, HCN)编码,故 HCN 又称起搏基因。与其起搏功能的强度相对应,已证明心肌中窦房结组织的 If 电流强度和 HCN 基因表达是最高的^[18-20]。于是人们试图通过过表达 HCN 基因,从而使普通心肌细胞产生 If 电流。

早期有关生物起搏器的研究大都围绕 HCN2 展开。最先通过过表达 HCN2 基因构建异位起搏点是由 Qu 等^[21]进行的,他们将载有 HCN2 的腺病毒注射到病窦犬模型的左心房,观察到来源于左心房的自发性节律。此后类似的研究在房室传导阻滞和室内传导阻滞动物模型中也得到了证实^[22-24]。此外,HCN2 与 β_2 受体基因、HCN1 与 HCN2 联合过表达的研究显示双基因联合的效果好于单个基因^[25-26]。

近来研究证实 HCN4 是窦房结 HCN 基因的主要亚型,在形成窦房结细胞的 If 通道中有着核心的、特异性作用^[18-19, 27-30]。Boink 等^[31]研究显示,通过病毒转染 HCN4 基因的心肌细胞产生了舒张期自动去极化,能提高心肌细胞自主节律,并对神经刺激能自动调节。HCN1 基因的类似实验也已证明其起搏作用^[32]。然而另有研究表明在成年小鼠中 HCN4 基因的作用主要是预防应激过程中出现的心脏停搏,而对 HCN4 的起搏作用产生质疑^[33]。Harzheim 等^[34]研究也显示,HCN4 仅在小鼠胚胎时期发挥起搏作用。

此外,有研究通过 HCN 基因修饰人骨髓间充质干细胞来弥补其自身的不足,将携带 HCN2 基因的人骨髓间充质干细胞移植到房室传导阻滞模型犬的左室壁,得到了来源于异体心肌细胞移植部位的室性心律,移植的人骨髓间充质干细胞同周围的心肌细胞能形成缝隙连接,且有效起搏电流持续时间长达 6 周^[23, 35]。Yang 等^[36]通过慢病毒将 HCN4 基因转染至人骨髓间充质干细胞也得到了类似的起搏效果。

过表达腺苷酸环化酶 VI(Adenylate-Cyclase VI, AC-VI)

基因: AC-VI 是膜整合蛋白 AC 的一个亚型,它通过增加细胞内 cAMP 的浓度,从而引起细胞的自律性。Ruhparwar 等^[37]将编码 AC-VI 基因通过慢病毒注射到房室传导阻滞模型猪的左心室,观察到了来自注射部位的异位心律,并对交感和副交感刺激具有反应性。但比较符合生理功能的起搏点要求基础心律维持在 60~70 次/min,并且交感刺激后应达到 120 次/min 左右,而上述动物模型产生的异位心律在没有交感刺激时就达到了 90~110 次/min。

过表达 Tbx3 基因: Tbx3(T-box3)基因是 T-box(Tbx) 基因家族的成员之一,该家族属发育调控相关转录因子基因家族,表达产物作为真核生物的转录调控因子。Tbx3 参与胚胎心脏的发育,近年来的研究表明, Tbx3 缺陷除了出现心脏形态学的发育异常外,也影响房室传导系统的发育成熟^[38-39]。Hoogaars 等^[40]将 Tbx3 基因注射到犬右心房,发现移植部位的心房标记基因表达大量下降,相反窦房结标记基因却异位大量出现在心房肌细胞内。但是目前有关 Tbx3 过表达能否直接产生 If 电流未见有相关文献报道,而且 Tbx3 与肿瘤的发生及细胞的返祖效应有关^[41], Tbx3 的生物安全性还有待于进一步研究。

3 讨论

利用细胞工程和技术治疗缓慢性心律失常作为一项新生技术,不需要外来能源,不受机体神经激素的基因调控,是更为接近人体的起搏方式,具有药物和电子起搏治疗所无法比拟的优势。但目前仍面临许多问题:①单纯基因修饰和细胞移植技术治疗缓慢性心律失常虽然能够增加类似 If 的内向起搏电流,但对由于窦房结功能减低导致的缓慢性心律失常,因缺乏窦房结细胞的特殊标记基因,功能上与窦房结细胞仍有差距,因而在起搏功能上还达不到稳定、长久、高效的效果,且最近的研究指出细胞移植后产生的生物学效应似乎更多的来源于移植细胞对宿主内源性干细胞的旁分泌作用,而非移植细胞自身的作用^[42-44]。②基因修饰技术目前常用的载体是腺病毒和慢病毒,而目前病毒包装和纯化技术的限制,很难得到用于体内试验研究所需的病毒滴度。③尽管将异位起搏点放置在心室的位置可以用于治疗房室传导阻滞,但是这并不符合生理性传导特点。因此,利用基因和细胞工程技术修复已经损害的房室传导通路或建立一个人工的房室旁路,允许正常的窦性电活动传导至心室是一个更好的选择。已有一些文献报道了在这一方面的尝试^[45-47],但仍很多关键的问题有待解决,比如最佳化的房室延迟、自动应答的程序设计、人工通路的位置如何固定等。不过这些问题似乎可以随着对窦房结细胞和传导通路电生理特性研究的深入,通过

寻找新的基因和细胞、多基因修饰以及基因修饰联合细胞移植技术来得到圆满解决。相信随着研究的不断深入, 利用基因和细胞工程技术治疗缓慢性心律失常的新方法不久便会应用于临床, 逐步代替药物和电子起搏器。

4 参考文献

- [1] Kehat I, Khimovich L, Caspi O, et al. Electromechanical integration of cardiomyocytes derived from human embryonic stem cells. *Nat Biotechnol.* 2004; 22(10):1282-1289.
- [2] Wiese C, Nikolova T, Zahanich I, et al. Differentiation induction of mouse embryonic stem cells into sinus node-like cells by suramin. *Int J Cardiol.* 2011; 147(1):95-111.
- [3] Hare JM, Traverse JH, Henry TD, et al. A randomized, double-blind, placebo-controlled, dose-escalation study of intravenous adult human mesenchymal stem cells (prochymal) after acute myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol.* 2009; 54(24):2277-2286.
- [4] 李琴, 赵文婧, 寇亚丽, 等. 心肌组织裂解液诱导骨髓间充质干细胞向心肌样细胞的分化[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2011, 15(10): 1726-1730.
- [5] 管思彬, 马爱群, 蒋文慧. 细胞接触诱导骨髓间充质干细胞获得窦房结细胞表型的初步研究[J]. 中华心血管病杂志, 2009, 37(1):73-76.
- [6] 蒋伟, 法宪恩, 李晓召. 窦房结细胞裂解液对大鼠骨髓间充质干细胞的诱导分化作用[J]. 郑州大学学报:医学版, 2011, 46(1):79-82.
- [7] Zhang J, Wilson GF, Soerens AG, et al. Functional cardiomyocytes derived from human induced pluripotent stem cells. *Circ Res.* 2009; 104(4):e30-41.
- [8] Novak A, Shtrichman R, Germanguz I, et al. Enhanced reprogramming and cardiac differentiation of human keratinocytes derived from plucked hair follicles, using a single excisable lentivirus. *Cell Reprogram.* 2010; 12(6):665-678.
- [9] Dergilev KV, Rubina KA, Tsokolaeva ZI, et al. Left ventricular heart aneurysm—a new source of resident cardiac stem cells. *Tsitologiya.* 2010; 52(11):921-930.
- [10] Zhang J, Huang C, Wu P, et al. Cardiac stem cells differentiate into sinus node-like cells. *Tohoku J Exp Med.* 2010; 222(2):113-120.
- [11] Zhang J, Huang C, Wu P, et al. Differentiation induction of cardiac c-kit positive cells from rat heart into sinus node-like cells by 5-azacytidine. *Tissue Cell.* 2011; 43(2):67-74.
- [12] Pouly J, Bruneval P, Mandet C, et al. Cardiac stem cells in the real world. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2008; 135(3):673-678.
- [13] Ruhparwar A, Tebbenjohanns J, Niehaus M, et al. Transplanted fetal cardiomyocytes as cardiac pacemaker. *Eur J Cardiothorac Surg.* 2002; 21(5):853-857.
- [14] Zhang H, Lau DH, Shlapakova IN, et al. Implantation of sinoatrial node cells into canine right ventricle: Biological pacing appears limited by the substrate. *Cell Transplant.* 2011. doi: 10.3727/096368911X565038. [Epub ahead of print]
- [15] Cho HC, Kashiwakura Y, Marban E. Creation of a biological pacemaker by cell fusion. *Circ Res.* 2007; 100(8):1112-1115.
- [16] Edelberg JM, Huang DT, Josephson ME, et al. Molecular enhancement of porcine cardiac chronotropy. *Heart.* 2001; 86(5):559-562.
- [17] Miake J, Marban E, Nuss HB. Functional role of inward rectifier current in heart probed by Kir2.1 overexpression and dominant-negative suppression. *J Clin Invest.* 2003; 111(10): 1529-1536.
- [18] Liu J, Dobrzynski H, Gianni J, et al. Organisation of the mouse sinoatrial node: structure and expression of HCN channels. *Cardiovasc Res.* 2007; 73(4):729-738.
- [19] Brioschi C, Micheloni S, Tellez JO, et al. Distribution of the pacemaker HCN4 channel mRNA and protein in the rabbit sinoatrial node. *J Mol Cell Cardiol.* 2009; 47(2):221-227.
- [20] Chandler NJ, Greener ID, Tellez JO, et al. Molecular architecture of the human sinus node: insights into the function of the cardiac pacemaker. *Circulation.* 2009; 119(12):1562-1575.
- [21] Qu J, Plotnikov AN, Danilo P Jr, et al. Expression and function of a biological pacemaker in canine heart. *Circulation.* 2003; 107(8): 1106-1109.
- [22] Bucchi A, Plotnikov AN, Shlapakova I, et al. Wild-type and mutant HCN channels in a tandem biological-electronic cardiac pacemaker. *Circulation.* 2006; 114(10):992-999.
- [23] Plotnikov AN, Shlapakova I, Szabolcs MJ, et al. Xenografted adult human mesenchymal stem cells provide a platform for sustained biological pacemaker function in canine heart. *Circulation.* 2007; 116(7):706-713.
- [24] Kashiwakura Y, Cho HC, Barth AS, et al. Gene transfer of a synthetic pacemaker channel into the heart: a novel strategy for biological pacing. *Circulation.* 2006; 114(16):1682-1686.
- [25] Piron J, Quang KL, Briec F, et al. Biological pacemaker engineered by nonviral gene transfer in a mouse model of complete atrioventricular block. *Mol Ther.* 2008; 16(12):1937-1943.
- [26] Plotnikov AN, Bucchi A, Shlapakova I, et al. HCN212-channel biological pacemakers manifesting ventricular tachyarrhythmias are responsive to treatment with I(f) blockade. *Heart Rhythm.* 2008; 5(2):282-288.
- [27] Thollon C, Bedut S, Villeneuve N, et al. Use-dependent inhibition of hHCN4 by ivabradine and relationship with reduction in pacemaker activity. *Br J Pharmacol.* 2007; 150(1):37-46.
- [28] Liu J, Noble PJ, Xiao G, et al. Role of pacemaking current in cardiac nodes: insights from a comparative study of sinoatrial node and atrioventricular node. *Prog Biophys Mol Biol.* 2008; 96(1-3): 294-304.
- [29] Milanese R, Baruscotti M, Gnecci-Ruscone T, et al. Familial sinus bradycardia associated with a mutation in the cardiac pacemaker channel. *N Engl J Med.* 2006; 354(2):151-157.
- [30] Hoels E, Stieber J, Herrmann S, et al. Tamoxifen-inducible gene deletion in the cardiac conduction system. *J Mol Cell Cardiol.* 2008; 45(1):62-69.
- [31] Boink GJ, Verkerk AO, van Amersfoort SC, et al. Engineering physiologically controlled pacemaker cells with lentiviral HCN4 gene transfer. *J Gene Med.* 2008; 10(5):487-497.
- [32] Tse HF, Xue T, Lau CP, et al. Bioartificial sinus node constructed via in vivo gene transfer of an engineered pacemaker HCN Channel reduces the dependence on electronic pacemaker in a sick-sinus syndrome model. *Circulation.* 2006; 114(10):1000-1011.
- [33] Herrmann S, Stieber J, Stockl G, et al. HCN4 provides a 'depolarization reserve' and is not required for heart rate acceleration in mice. *EMBO J.* 2007; 26(21):4423-4432.
- [34] Harzheim D, Pfeiffer KH, Fabritz L, et al. Cardiac pacemaker function of HCN4 channels in mice is confined to embryonic development and requires cyclic AMP. *EMBO J.* 2008; 27(4): 692-703.
- [35] Valiunas V, Kanaporis G, Valiuniene L, et al. Coupling an HCN2-expressing cell to a myocyte creates a two-cell pacing unit. *J Physiol.* 2009; 587(Pt 21):5211-5226.
- [36] Yang XJ, Zhou YF, Li HX, et al. Mesenchymal stem cells as a gene delivery system to create biological pacemaker cells in vitro. *J Int Med Res.* 2008; 36(5):1049-1055.
- [37] Ruhparwar A, Kallenbach K, Klein G, et al. Adenylate-Cyclase VI transforms ventricular cardiomyocytes into biological pacemaker cells. *Tissue Eng Part A.* 2010; 16(6):1867-1877.
- [38] Bakker ML, Boukens BJ, Mommersteeg MT, et al. Transcription factor Tbx3 is required for the specification of the atrioventricular conduction system. *Circ Res.* 2008; 102(11):1340-1349.
- [39] Wiese C, Grieskamp T, Airik R, et al. Formation of the sinus node head and differentiation of sinus node myocardium are independently regulated by Tbx18 and Tbx3. *Circ Res.* 2009; 104(3): 388-397.
- [40] Hoogaars WM, Engel A, Brons JF, et al. Tbx3 controls the sinoatrial node gene program and imposes pacemaker function on the atria. *Genes Dev.* 2007; 21(9):1098-1112.
- [41] Han J, Yuan P, Yang H, et al. Tbx3 improves the germ-line competency of induced pluripotent stem cells. *Nature.* 2010; 463(7284):1096-1100.
- [42] Hatzistergos KE, Quevedo H, Oskoue BN, et al. Bone marrow mesenchymal stem cells stimulate cardiac stem cell proliferation and differentiation. *Circ Res.* 2010; 107(7):913-922.
- [43] Mirotsou M, Jayawardena TM, Schmeckpeper J, et al. Paracrine mechanisms of stem cell reparative and regenerative actions in the heart. *J Mol Cell Cardiol.* 2011; 50(2):280-289.
- [44] Hinkel R, El-Aouni C, Olson T, et al. Thymosin beta4 is an essential paracrine factor of embryonic endothelial progenitor cell-mediated cardioprotection. *Circulation.* 2008; 117(17):2232-2240.
- [45] Yokokawa M, Ohnishi S, Ishibashi-Ueda H, et al. Transplantation of mesenchymal stem cells improves atrioventricular conduction in a rat model of complete atrioventricular block. *Cell Transplant.* 2008; 17(10-11):1145-1155.
- [46] McSpadden LC, Kirkton RD, Bursac N. Cell Therapies for Arrhythmias: Genetically Engineered Coupling Determines the Effect on Anisotropic Cardiac Conduction. *Circulation.* 2009; 120(20):S765-S766.
- [47] Hofshi A, Itzhaki I, Gepstein A, et al. A combined gene and cell therapy approach for restoration of conduction. *Heart Rhythm.* 2011; 8(1):121-130.

基金资助: 国家自然科学基金资助课题项目 (30960125)。

关于作者: 通讯作者构思并设计本综述, 第一作者分析并解析相关数据, 所有作者同时起草资料, 经通讯作者修改, 通讯作者对本文负责并审核。

利益冲突: 课题未涉及任何厂家及相关雇主或其他经济组织直接或间接的经济或利益的赞助。

伦理批准: 无与相关伦理道德冲突的内容。