

人诱导多能干细胞与类器官: 用于优化中药的 致心律失常风险预测

孙昊堃¹, 高原^{1, 2*}, 朱明军², 唐进法², 吴莹³, 李彬², 于瑞², 王艳¹, 周璐烨¹

(1. 河南中医药大学 第一临床医学院, 河南 郑州 450000;

2. 河南中医药大学 第一附属医院 河南省中药安全评价与风险防控工程研究中心, 河南 郑州 450000;

3. 阜外华中心血管病医院, 河南 郑州 450000)

[摘要] 中药可能引发心律失常等严重心血管不良反应, 准确评估风险十分重要。该文介绍了心脏安全药理学评价策略和心脏类器官研究进展, 重点探讨了人诱导多能干细胞(hiPSCs) 和类器官在中药致心律失常风险评估中的应用前景。相较于传统动物模型, hiPSCs 和类器官模型具有更好的参考性和预测性能, 能更准确地模拟人体心脏反应。研究者已成功生成多种心脏组织模型, 模拟心脏的结构和功能, 评估中药对心脏的影响。hiPSCs 模型通过将成人细胞重新编程为多能干细胞, 再分化为心脏细胞, 可以获得个体化的心脏组织, 更准确反映个体差异和药物反应。这为中药心脏毒性风险评估提供了指导。综合心脏类器官模型和心脏安全药理学策略, 如心电活动监测和离子通道功能评估, 可全面评估中药对心脏的影响。此外, 结合 CiPA 方法, 即全面体外心律失常评估策略, 可提高评估准确性。将 CiPA 方法应用于中药研究, 揭示潜在风险, 为中医药临床应用和产业发展提供科学依据。综上, 心脏类器官模型和心脏安全药理学评价策略为中药心脏毒性风险评估提供了重要工具。结合 hiPSCs 模型、综合评估方法和 CiPA 策略, 可准确评估中药对心律失常的风险, 为中医药临床安全用药和产业发展提供科学依据。这有助于确保中医药的安全性和有效性, 推动其临床应用和国际认可。

[关键词] 人诱导多能干细胞; 类器官; 中药; 心律失常

hiPSCs and organoids: prediction of arrhythmogenic risks for optimized traditional Chinese medicine

SUN Hao-kun¹, GAO Yuan^{1, 2*}, ZHU Ming-jun², TANG Jin-fa², WU Ying³, LI Bin², YU Rui², WANG Yan¹, ZHOU Lu-ye¹

(1. First Clinical Medical College, Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450000, China;

2. Henan Engineering Research Center of Chinese Medicine Safety Evaluation and Risk Prevention and Control, the First Affiliated Hospital of Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450000, China;

3. Fuwai Central China Cardiovascular Hospital, Zhengzhou 450000, China)

[Abstract] Accurate assessment of the risks associated with traditional Chinese medicine (TCM), such as the potential to induce serious cardiovascular adverse reactions including cardiac arrhythmias, is crucial. This article introduced the pharmacological evaluation strategies for cardiac safety and the progress in cardiac organ research, with a focus on discussing the application prospects of human induced pluripotent stem cells (hiPSCs) and organoids in assessing the risks of TCM-induced cardiac arrhythmias. Compared with

[收稿日期] 2023-06-09

[基金项目] 国家自然科学基金重点项目(82030120); 国家自然科学基金青年基金项目(81503435); 国家自然科学基金项目(82074226); 河南省中管局国家中医临床研究基地科研专项(2018JDZX058); 河南省高等学校重点科研项目计划(21A360011); 河南省中医药科学研究专项课题(2022ZY2009); 河南省医学科技攻关计划联合共建项目(LHGJ20200090); 河南省重点研发与推广专项(科技攻关) 项目(212102310759, 212102311079); 横向课题(XZ2022013)

[通信作者] * 高原, 硕士生导师, E-mail: cleanstory@163.com

[作者简介] 孙昊堃, 硕士研究生, E-mail: 3392342849@qq.com

traditional animal models, hiPSCs and organoid models provide better reference and predictive capabilities, allowing for more accurate simulation of human cardiac responses. Researchers have successfully generated various cardiac tissue models that mimic the structure and function of the heart to evaluate the effects of TCM on the heart. The hiPSCs model, by reprogramming adult cells into pluripotent stem cells and differentiating them into cardiac cells, enables the generation of personalized cardiac tissue, which better reflects individual differences and drug responses. This provides guidance for the assessment of TCM cardiac toxicity risks. By combining organoid model with cardiac safety pharmacology strategies such as electrocardiogram monitoring and ion channel function assessment, the impact of TCM on the heart can be comprehensively evaluated. In addition, the application of the Comprehensive in Vitro Proarrhythmia Assay (CiPA) approach improves the accuracy of evaluation. Applying the CiPA approach to TCM research reveals potential risks and provides a scientific basis for the clinical application and industrial development of TCM. In conclusion, organoid model and cardiac safety pharmacology evaluation strategies provide important tools for assessing the cardiac toxicity risks of TCM. The combination of hiPSCs model, comprehensive assessment methods, and the CiPA strategy enables an accurate assessment of the risks of TCM-induced cardiac arrhythmias, thus providing a scientific basis for the safe use and international recognition of TCM in clinical practice. This contributes to ensuring the safety and efficacy of TCM and promoting its clinical application and global acceptance.

[Key words] hiPSCs; organoid; traditional Chinese medicine; arrhythmia

DOI: 10.19540/j.cnki.cjcm.20230706.601

中医药经历了数千年的发展,被广泛用于疾病的预防和治疗。中医药不仅可直接用作治疗剂,还可用于新药研发^[1]。随着中药及其制剂在国内外广泛应用,对中药药物不良反应的报告日益增多,这对中医药临床安全用药和中药产业的发展带来了不利影响。为确保中药的安全性,对中药毒性问题进行分析变得尤为重要。然而,我国的中药安全评价和风险评估体系尚不成熟,目前的监管监督措施无法满足对中医药安全性的预期要求。因此,需要充分借鉴国际评估标准,建立科学、规范、可行的评估标准,以减少新药物不良反应的发生。欧美等国家为了评估药物致心律失常的风险制定了一系列指南,并于2013年提出了综合体外致心律失常试验(comprehensive *in vitro* proarrhythmia assay, CiPA)。该方法通过利用人诱导多能干细胞分化出的心肌细胞(hiPSCs-CMs)消除种族差异,更好地完善药源性心脏毒性的评估体系。然而,在我国研究心律失常的发生机制和防治方法主要依靠动物模型或体外实验(如H9c2、AC16细胞等)。因此,借鉴CiPA方法,利用人诱导多功能干细胞(human induced pluripotent stem cells, hiPSCs)和类器官模型可提高中药致心律失常风险评价的科学性和准确性。

本文综述了心脏安全药理学评价策略和心脏类器官的研究进展,并探讨了hiPSCs和类器官在中药致心律失常风险评估方面的应用前景。旨在为中药的心脏安全药理学评价提供参考。

1 国际药物安全性评估策略的演变与实践探索

1.1 TdP事件引发了对药物安全性评估的深入探讨

20世纪20年代,抗心律失常药物奎尼丁因其治疗过程中偶尔出现晕厥和独特的多态性室性心动过速的问题引起了人们的广泛关注^[2]。法国心脏病专家在1966年将其命名为尖端扭转型室速(torsade de pointes, TdP)^[3]。在20世纪

90年代,特非那定和阿司咪唑这2种最初的非镇静性抗组胺药物,由于引起心脏复极延迟并增加了室性快速性心律失常(包括TdP)的风险,因而被撤出市场^[4-5]。随后人们对这种罕见的心律失常持续进行研究。TdP是一种特征性的多形性室性心律失常,与心室复极延迟密切相关,临床上常表现为头晕和晕厥,严重时可能导致心室颤动和心源性猝死^[6]。TdP在心电图(electrocardiograph, ECG)上通常表现为QT间期的延长,主要与hERG/IKr电流的阻滞有关^[7]。该问题被确定为严重的公共卫生问题,并引起药品监管机构的关注。随后,监管机构专注于评估非临床和临床开发过程中TdP的风险。因此,在20世纪90年代至21世纪初期有多种非心脏药物因引发TdP而被撤出市场。

1.2 药物心脏安全性评估的进展:从S7B和E14到CiPA

为解决药物心血管安全性风险,国际人用药品注册技术协调会(International Conference on Harmonization of Requirements for Registration Pharmaceuticals for Human Use, ICH)于2005年发布了《人类药物延迟心室复极(QT间期延长)潜力的S7B非临床评估指南》和《非抗心律失常药物QT/QTc间期延长和致心律失常潜力的E14临床评估指南》。这些指南将hERG电流和QT间期作为心律失常检测的指标,用于在药物的非临床评估中评估其对心室复极和致心律失常风险的影响,并成为药物开发的标准部分^[8-9]。ICH S7B和E14策略的核心是评估待测药物对hERG/IKr(IKr/hERG)钾离子通道的影响以及药物对健康志愿者QT/QTc间期的影响^[10]。然而,这些策略主要关注于心室复极延迟,而不是致命性心律失常(TdP)。此外,这些策略存在一些未解决的问题,包括低特异性指标、成本和评价结果等方面,因而在实际应用中存在相当大的局限性^[11]。为了应对上述问题,以心脏安全研究联盟(Cardiac Safety Research Consortium, CS-

RC)、健康与环境科学研究所(Health and Environmental Sciences Institute, HESI)和美国食品药品监督管理局(Food and Drug Administration, FDA)为主的多个监管机构于 2013 年共同推动了一个全球项目——CiPA^[12]。该项目的目标是安全药理学从传统的药效学方法转变为计算机模型和体外药物毒性评估,以直接评价药物对 TdP 的风险大小,从而更精确地辨别药物的心脏毒性风险^[12]。

1.3 CiPA: 整合计算机模型与体外验证的创新药物安全评估策略

CiPA 倡议作为最新的研究成果逐步获得国际上各界的接受和认可,旨在将安全药理学从主要的传统药理学方法转移到计算机模型和体外药物毒性评估实验中。其工作流程包括:首先,对待测药物进行多种心肌细胞膜离子通道功能影响的检测和记录;其次,将这些测试结果的数据整合到计算机模型中,以确定药物对心脏动作电位的影响,并将药物分为低、中、高 TdP 风险类别^[13];最后,利用 hiPSCs 分化出的 hiPSCs-CMs 进行体外实验验证,以验证实验结果与计算机模型的相关性^[12]。

因此,相比于 ICH S7/E14 策略,CiPA 具有更明确的标志物、实验方法和评价标准,能够更精确地评估药物对 TdP 的风险,为药物的心脏毒性风险辨识提供更可靠的依据。

2 hiPSCs 和类器官模型的发展和应用

2.1 hiPSCs-CMs 和类器官在药物研发和心脏安全性评估中的重要性与挑战

在药物研发过程中,需要对候选药物进行生物活性、毒性、代谢、药理功效等方面的筛选,以识别和优化潜在风险药物,并验证其有效性和安全性,为进一步的临床试验做准备。然而,动物模型的使用存在严重的伦理问题,并且由于遗传差异,虽然在病理生理学背景下与人类有一定的相似性,但在准确表达人体组织方面存在不可避免的局限性。相比之下,hiPSCs 和类器官模型具有更大的优势。多项研究表明,hiPSCs-CMs 能够可靠地评估药物对 hERG/IKr 离子通道、心室复极延迟和 ECG 的影响^[14-16]。然而,标准化和分析校准的缺乏,以及不同培养时间、技术平台和细胞来源的差异,限制了研究结果的可重复性。此外,不同来源和成熟水平的 hiPSCs-CMs 展现出不同的电生理表型,这种差异可能影响药理学反应和后续的心脏安全性风险评估^[17]。因此,需要制定统一的操作流程和数据分析方法,提高标准化水平,减少变异性,以确保研究结果的准确性和可重复性。类器官模型的引入提升了 hiPSCs-CMs 在药物研发和心脏安全性评估中的可靠性和有效性。相较于传统的二维细胞培养,类器官模型在药物研发中展现出独特的优势。它能够更全面地再现心脏的一般组织结构和发育轨迹,为模拟心脏的发育和功能提供了重要的研究机会。引入类器官模型能够显著提高对候选药物电生理作用的敏感度,这是以往技术无法直接实现的关键方面。通过这一进展,能够更准确地评估药物的心脏

安全性,推动药物研发的进程。

2.2 hiPSCs 衍生的类器官: 揭示疾病和药物反应的新视角

类器官是由多能干细胞(pluripotent stem cells, PSCs)自组装形成的三维几何体,它作为一种新兴的实验模型,在基础生物学和人类疾病研究方面提供了新的见解,并推动了新疗法的创新。类器官模型的制备可以根据其细胞来源分为组织来源、胚胎干细胞来源(human embryonic stem cells, hESCs)和 hiPSCs。hiPSCs 可以分化为身体的所有细胞类型^[18]。

研究表明,胚胎干细胞来源的心肌细胞(hESCs-CMs)和 hiPSCs-CMs 在概括心脏病表型特征、预测心脏毒性药物化合物和疾病关键途径方面具有重要应用价值^[19-22]。然而,通过干细胞分化得到的心肌细胞(CMs)与成年人的 CMs 在结构、功能和基因表达谱方面存在差异,但与婴儿的 CMs 相似^[23-24]。目前,多数实验利用 hiPSCs-CMs 的自我组织特性来构建心脏类器官(cardiac organoids, hCOs)^[25-27]。近年来,借助细胞水凝胶基质、基于生物材料的微模具以及 3D 打印生物材料等技术的发展和运用,通过不断尝试已初步成功地构建了 3D 心脏类器官,为离体组织或器官的研究提供了创新的平台^[28-33]。研究表明在 2D 培养条件下与在 3D 微环境中培养的细胞相比,细胞不仅在固有表型方面存在差异,而且在迁移、增殖和分化等方面也表现出明显的差异^[34-38]。此外,关于心脏球体、细胞层片技术、脱细胞外基质的细胞播种、3D 细胞打印和类器官芯片等用于构建类器官的技术原理也大不相同,在同种类器官模型中不同的构建方法之间也存在差异。因此,了解类器官不同的构建方法对利用心脏类器官模型代替传统 2D 层面来筛选候选药物的潜在风险具有重要意义,见表 1。

3 hiPSCs 和类器官在中药心脏毒性检测中的应用

3.1 利用 hiPSCs 和类器官进行中药心脏毒性评估的实验研究及临床应用前景

利用 hiPSCs 和类器官进行中药样品或其活性成分的共培养,结合自动化设备和高通量分析技术,可以综合评估中药对心肌细胞的影响,包括心肌细胞电生理特性、细胞存活率、细胞凋亡和离子通道功能等指标。这种方法具有高效、精确的特点,可快速评估中药样品对心脏的毒性效应,并有助于筛选出具有潜在心脏毒性的中药成分。通过使用 hiPSCs-CMs, YE J 等^[39]发现羟基红花黄 A(HSYA)在缺氧-再氧化损伤条件下对心脏具有保护作用。HSYA 降低了心肌酶水平,保护了细胞免受损伤。同时,HSYA 通过降低线粒体膜电位、抑制凋亡和阻断钙超载,恢复了细胞的收缩功能和电位异常发挥了抗心律失常以及心脏保护作用。此外,研究还发现,HSYA 通过抑制 L 型钙离子通道(LTCC)缓解了 hiPSCs-CMs 的缺氧复氧(HR)损伤,从而减少了钙超载。这些发现不仅证实了 HSYA 作为心脏保护剂的潜力,同时也为利用 hiPSCs-CMs 在临床前研究中作为抗心肌缺血/再灌注损伤的评价方法提供了可靠的依据^[39]。BABURIN I 等^[40]

表 1 不同方法构建类器官的原理和缺点

Table 1 Principles and shortcomings of different methods to construct organoids

分类	原理	不足
心脏球体	利用内皮细胞、心脏成纤维细胞等复制心脏微环境	球体形状难以准确控制, 心肌组织无各向异性结构
细胞层片技术	带有细胞间连接和细胞外基质的片层状细胞聚合	没有支架的组织通常很脆弱, 难以在这些结构上施加机械载荷
脱细胞外基质的细胞播种	脱细胞外基质(dECM) 可提供坚实的组织支架是组织工程中理想的生物材料	脱细胞质量实验过程耗时且结果无法精确控制, 细胞外基质(ECM) 复杂的网格结构阻碍了脱细胞和细胞接种
3D 细胞打印	通过打印出生物相容性支架后种植细胞或直接将细胞和生物支架混合打印	喷涂过程中的剪切力和液滴冲击会对打印的细胞液活性产生影响, “生物墨水”的配制必须满足流体力学的要求, “生物墨水”保质期短, 长期保存极其困难
类器官芯片	微流控芯片与类器官这 2 项技术结合	微型化器官芯片需要高灵敏度的检测仪器, 聚二甲基硅氧烷(PDMS) 会使获取的实验数据不准确

研究从中药吴茱萸中提取了脱氧吴茱萸碱和园丁胺, 并对提取物在 hiPSCs-CMs 中的动作电位时程(action potential duration, APD) 进行了评估。其研究结果显示, 脱氧吴茱萸碱和园丁胺可以延长 hiPSCs-CMs 的复极过程, 这表明它们可能存在一定的致心律失常的风险。这一研究发现为利用 hiPSCs-CMs 进一步评估这些化合物在心脏安全性和功能影响方面提供了实验依据。WANG R 等^[41]使用了心脏非标记细胞功能分析和培养系统(Cardio-NLCS) 来记录 hiPSCs-CMs 的阻抗和细胞外场电位(EFP)。其研究发现, 苦参碱和槐果碱对阻抗和 EFP 的影响呈现出剂量依赖性。此外, 苦参碱、氧化苦参碱、胞嘧啶和槐果香碱这 4 种生物碱对心脏毒性均表现出明显的剂量依赖性, 而且这些心脏的结构重构和电重构与钙稳态和氧化应激的破坏密切相关。以上研究说明通过利用 hiPSCs 和类器官等技术检测心脏电生理特性从而开展中药药理学机制的研究逐步成熟。然而, 目前对于心脏类器官模型在中药研究中的应用相关研究较为有限, 尚存在知识缺口。尽管如此, 这一领域仍具有广阔的发展前景。以上为我国对于中药致心律失常风险评价提供了可靠的安全检测策略, 降低临床用药风险, 提高临床安全合理用药水平。

3.2 体外中药心脏毒性评估的相关应用及其实践意义

3.2.1 微电极阵列(MEA) 技术在药物筛选中的应用 MEA 是一种包含多个微电极的装置, 通过这些微电极可以测量细胞外电压变化。用于体外研究的 MEA 通常由一个带有数十到数百个电极组成, 以实现多位点电生理记录。该装置可应用于活组织切片或解离的细胞培养物, 旨在研究细胞的电生理特性。作为一种精密高灵敏度的工具, MEA 通过测量电势变化提供详尽的数据, 涵盖心肌细胞的兴奋传导、动作电位和细胞间相互作用等关键方面, 在体外心肌细胞电活动研究中具有重要作用。SONG T 等^[42]研究利用 MEA 技术在 hiPSCs-CMs 中检测到槐啉(sophoridine, SR) 的促心律失常风险。研究结果表明, SR 在电生理性质上表现为多离子通道阻滞剂。此外, 通过 hERG 抑制试验和诱发提早触发电后电

位(EAD) 的评估, 发现 SR 的促心律失常风险相对较低。基于这些发现, SR 被视为潜在的室性快速性心律失常治疗药物的候选物。ZHANG Z 等^[43]采用 MEA 系统记录 hiPSCs-CMs 中的场电位(FPs), 发现参麦注射液可以调节电生理学 and 钙信号传导, 并调节 hiPSCs-CMs 中的氧化磷酸化、心肌收缩和细胞周期途径。上述结果同时凸显了 hiPSCs-CMs 作为药物安全性和心脏功能评估模型的潜力, 进一步证实了 hiPSCs-CMs 在心脏研究和药物开发中的重要性, 为未来临床前研究和治疗方法提供了强有力的支持。

3.2.2 膜片钳技术助力中药药物开发 膜片钳技术是细胞电生理学领域的主要技术, 被广泛认可为离子通道研究的黄金标准。该技术的应用能够可靠地证明离子通道的存在, 并提供有关离子通道的关键信息, 涵盖其电生理特性、分子结构和药物作用机制等方面的知识。近年来, 膜片钳技术取得了许多关键改进, 这些改进使其在药物高通量筛选中的应用更加可行。这些新技术的进展有望突破针对离子通道药物开发中的瓶颈。通过利用膜片钳技术, 能够更加精确地研究离子通道的功能和调控机制, 从而为药物研发提供更可靠的数据支持。YANG L 等^[44]利用膜片钳技术观察不同浓度的乌头碱在 hiPSCs-CMs 对长 QT 综合征(long QT syndrome, LQTS) 的影响, 结果表明, 高剂量的乌头碱($2.0 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$) 可显著增加 LQTS 使心肌细胞钙瞬变的频率。WEI Y 等^[45]采用全细胞膜片钳技术研究芪苈强心胶囊对各离子通道的影响, 证明了其对心室肌细胞 Na^+ 电流、 K^+ 电流的影响在临床抗心律失常治疗中更有利。上述突显了膜片钳技术在中药药物研发中被广泛应用已经成熟。通过利用膜片钳技术, 能够更精确地研究中药在离子通道的功能和调控机制, 为中药研发提供更可靠的数据支持, 进一步推动针对离子通道的中药药物开发取得突破。

4 总结与展望

CiPA 倡议目前已被国际社会广泛接受和认可, 该倡议建议使用 hiPSCs-CM 作为评估药物心脏毒性的模型。

hiPSCs-CMs能够在体外表征复杂的人类心肌细胞生理功能,因其遗传背景与个体基因组一致,提供了更真实的模拟^[46-47]。hiPSCs构建的类器官模型具有高度灵敏性和特异性,能够更准确地模拟人体器官的结构和功能。这种方法有助于评估中药对心脏的毒性,消除人与动物之间的物种差异,并减少物种转化所带来的问题和时间成本^[48]。通过将hiPSCs和类器官模型与CiPA方法结合,能够更全面地评估中药对心脏的毒性风险,并加快对心脏毒性机制的理解。这种综合应用为中医药临床安全用药和产业发展提供了科学依据,为制定更安全、有效的中药治疗方案奠定了基础。通过进一步研究中药的药理机制,并结合hiPSCs和类器官模型的优势,能够推动中医药的发展,提高药物评价的准确性和效率,以更好地满足患者的健康需求。

[参考文献]

- [1] ZHANG L, SONG J, KONG L, et al. The strategies and techniques of drug discovery from natural products [J]. Pharmacol Ther, 2020, 216: 107686.
- [2] LEVY R. Clinical studies of quinidine. IV. The clinical toxicology of quinidine [J]. J Am Med Assoc, 1922, 79: 1108.
- [3] DESSERTENNE F. Ventricular tachycardia with 2 variable opposing foci [J]. Arch Mal Coeur Vaiss, 1966, 59(2): 263.
- [4] ASHWORTH L. Is my antihistamine safe? [J]. Home Care Provid, 1997, 2(3): 117.
- [5] GONZÁLEZ M A, ESTES K S. Pharmacokinetic overview of oral second-generation H1 antihistamines [J]. Int J Clin Pharmacol Ther, 1998, 36(5): 292.
- [6] NAPOLITANO C, PRIORI S G, SCHWARTZ P J. Torsade de pointes. Mechanisms and management [J]. Drugs, 1994, 47(1): 51.
- [7] THOMAS D, KARLE C A, KIEHN J. The cardiac hERG/IKr potassium channel as pharmacological target: structure, function, regulation, and clinical applications [J]. Curr Pharm Des, 2006, 12(18): 2271.
- [8] International conference on harmonisation; guidance on S7B nonclinical evaluation of the potential for delayed ventricular repolarization (QT Interval Prolongation) by human pharmaceuticals; availability. Notice [J]. Fed Regist, 2005, 70(202): 61133.
- [9] Food and Drug Administration, HHS. International conference on harmonisation; guidance on E14 Clinical Evaluation of QT/QTc interval prolongation and proarrhythmic potential for non-antiarrhythmic drugs; availability. Notice [J]. Fed Regist, 2005, 70(202): 61134.
- [10] STRAUSS D G, WU W W, LI Z, et al. Translational models and tools to reduce clinical trials and improve regulatory decision making for QTc and proarrhythmia risk (ICH E14/S7B Updates) [J]. Clin Pharmacol Ther, 2021, 109(2): 319.
- [11] YIM D S. Five years of the CiPA project (2013—2018): what did we learn? [J]. Transl Clin Pharmacol, 2018, 26(4): 145.
- [12] SAGER P T, GINTANT G, TURNER J R, et al. Rechanneling the cardiac proarrhythmia safety paradigm: a meeting report from the Cardiac Safety Research Consortium [J]. Am Heart J, 2014, 167(3): 292.
- [13] FERMINI B, HANCOX J C, ABI-GERGES N, et al. A new perspective in the field of cardiac safety testing through the comprehensive *in vitro* proarrhythmia assay paradigm [J]. J Biomol Screen, 2016, 21(1): 1.
- [14] CLEMENTS M, THOMAS N. High-throughput multi-parameter profiling of electrophysiological drug effects in human embryonic stem cell derived cardiomyocytes using multi-electrode arrays [J]. Toxicol Sci, 2014, 140(2): 445.
- [15] NOZAKI Y, HONDA Y, WATANABE H, et al. CSAHi study-2: validation of multi-electrode array systems (MEA60/2100) for prediction of drug-induced proarrhythmia using human iPS cell-derived cardiomyocytes: Assessment of reference compounds and comparison with non-clinical studies and clinical information [J]. Regul Toxicol Pharmacol, 2017, 88: 238.
- [16] TAKASUNA K, KAZUSA K, HAYAKAWA T. Comprehensive cardiac safety assessment using hiPS-cardiomyocytes (consortium for safety assessment using human iPS cells: CSAHi) [J]. Curr Pharm Biotechnol, 2020, 21(9): 829.
- [17] JIANG Y, PARK P, HONG S M, et al. Maturation of cardiomyocytes derived from human pluripotent stem cells: current strategies and limitations [J]. Mol Cells, 2018, 41(7): 613.
- [18] TAKAHASHI K, TANABE K, OHNUKI M, et al. Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors [J]. Cell, 2007, 131(5): 861.
- [19] TE RIELE A S, AGULLO-PASCUAL E, JAMES C A, et al. Multilevel analyses of SCN5A mutations in arrhythmogenic right ventricular dysplasia/cardiomyopathy suggest non-canonical mechanisms for disease pathogenesis [J]. Cardiovasc Res, 2017, 113(1): 102.
- [20] GIACOMELLI E, MUMMERY C L, BELLIN M. Human heart disease: lessons from human pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes [J]. Cell Mol Life Sci, 2017, 74(20): 3711.
- [21] SALA L, BELLIN M, MUMMERY C L. Integrating cardiomyocytes from human pluripotent stem cells in safety pharmacology: has the time come? [J]. Br J Pharmacol, 2017, 174(21): 3749.
- [22] VAN MEER B J, KROTENBERG A, SALA L, et al. Simultaneous measurement of excitation-contraction coupling parameters identifies mechanisms underlying contractile responses of hiPSC-derived cardiomyocytes [J]. Nat Commun, 2019, 10(1): 4325.

- [23] VAN DEN BERG C W , OKAWA S , CHUVA DE SOUSA LOPES S M , et al. Transcriptome of human foetal heart compared with cardiomyocytes from pluripotent stem cells [J]. *Development* , 2015 , 142(18) : 3231.
- [24] YANG X , PABON L , MURRY C E. Engineering adolescence: maturation of human pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes [J]. *Circ Res* , 2014 , 114(3) : 511.
- [25] KEUNG W , CHAN P K W , BACKERIS P C , et al. Human cardiac ventricular-like organoid chambers and tissue strips from pluripotent stem cells as a two-tiered assay for inotropic responses [J]. *Clin Pharmacol Ther* , 2019 , 106(2) : 402.
- [26] VOGES H K , MILLS R J , ELLIOTT D A , et al. Development of a human cardiac organoid injury model reveals innate regenerative potential [J]. *Development* , 2017 , 144(6) : 1118.
- [27] TIBURCY M , HUDSON J E , BALFANZ P , et al. Defined engineered human myocardium with advanced maturation for applications in heart failure modeling and repair [J]. *Circulation* , 2017 , 135(19) : 1832.
- [28] HOANG P , WANG J , CONKLIN B R , et al. Generation of spatial-patterned early-developing cardiac organoids using human pluripotent stem cells [J]. *Nat Protoc* , 2018 , 13(4) : 723.
- [29] MA Z , WANG J , LOSKILL P , et al. Self-organizing human cardiac microchambers mediated by geometric confinement [J]. *Nat Commun* , 2015 , 6: 7413.
- [30] NOOR N , SHAPIRA A , EDRI R , et al. 3D printing of personalized thick and perfusable cardiac patches and hearts [J]. *Adv Sci* , 2019 , 6(11) : 1900344.
- [31] LEE A , HUDSON A R , SHIWARSKI D J , et al. 3D bioprinting of collagen to rebuild components of the human heart [J]. *Science* , 2019 , 365(6452) : 482.
- [32] SHKUMATOV A , BAEK K , KONG H. Matrix rigidity-modulated cardiovascular organoid formation from embryoid bodies [J]. *PLoS ONE* , 2014 , 9(4) : e94764.
- [33] MILLS R J , TITMARSH D M , KOENIG X , et al. Functional screening in human cardiac organoids reveals a metabolic mechanism for cardiomyocyte cell cycle arrest [J]. *Proc Natl Acad Sci USA* , 2017 , 114(40) : e8372.
- [34] SARKAR S , PENG C C , TUNG Y C. Comparison of VEGF- α secretion from tumor cells under cellular stresses in conventional monolayer culture and microfluidic three-dimensional spheroid models [J]. *PLoS ONE* , 2020 , 15(11) : e0240833.
- [35] PICKL M , RIES C H. Comparison of 3D and 2D tumor models reveals enhanced HER2 activation in 3D associated with an increased response to trastuzumab [J]. *Oncogene* , 2009 , 28 (3) : 461.
- [36] WEST J L , HUBBELL J A. Polymeric biomaterials with degradation sites for proteases involved in cell migration [J]. *J Biomed Mater Res A* , 1999 , 32(1) : 241.
- [37] LI D W , HE F L , HE J , et al. From 2D to 3D: The morphology , proliferation and differentiation of MC3T3-E1 on silk fibroin/ chitosan matrices [J]. *Carbohydr Polym* , 2017 , 178: 69.
- [38] BAHARVAND H , HASHEMI S M , KAZEMI ASHTIANI S , et al. Differentiation of human embryonic stem cells into hepatocytes in 2D and 3D culture systems *in vitro* [J]. *Int J Dev Biol* , 2006 , 50(7) : 645.
- [39] YE J , WANG R , WANG M , et al. Hydroxysafflor yellow A ameliorates myocardial ischemia/ reperfusion injury by suppressing calcium overload and apoptosis [J]. *Oxid Med Cell Longev* , 2021 , 2021: 6643615.
- [40] BABURIN I , VARKEVISSER R , SCHRAMM A , et al. Dehydroevodiamine and hortiamine , alkaloids from the traditional Chinese herbal drug *Evodia rutaecarpa* , are IKr blockers with proarrhythmic effects *in vitro* and *in vivo* [J]. *Pharmacol Res* , 2018 , 131: 150.
- [41] WANG R , WANG M , WANG S , et al. An integrated characterization of contractile , electrophysiological , and structural cardiotoxicity of *Sophora tonkinensis* Gapnep. in human pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes [J]. *Stem Cell Res Ther* , 2019 , 10(1) : 20.
- [42] SONG T , HAO Y , WANG M , et al. Sophoridine manifests as a leading compound for anti-arrhythmia with multiple ion-channel blocking effects [J]. *Phytomedicine* , 2023 , 112: 154688.
- [43] ZHANG Z , LI Y , YAN M , et al. Investigating the effect of Shenmai Injection on cardiac electrophysiology and calcium signaling using human-induced pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes [J]. *Biochem Biophys Rep* , 2023 , 33: 101407.
- [44] YANG L , XIE G , WANG Y , et al. Metabolic behaviors of aconitum alkaloids in different concentrations of Aconiti Lateralis Radix Praeparata and effects of aconitine in healthy human and long QT syndrome cardiomyocytes [J]. *Molecules* , 2022 , 27 (13) : 4055.
- [45] WEI Y , LIU X , WEI H , et al. The electrophysiological effects of qiliqiangxin on cardiac ventricular myocytes of rats [J]. *Evid Based Complement Alternat Med* , 2013 , 2013: 213976.
- [46] ELSON J , MASON J W. General concepts and mechanisms of ventricular tachycardia [J]. *Cardiol Clin* , 1986 , 4(3) : 459.
- [47] PELLMAN J , ZHANG J , SHEIKH F. Myocyte-fibroblast communication in cardiac fibrosis and arrhythmias: mechanisms and model systems [J]. *J Mol Cell Cardiol* , 2016 , 94: 22.
- [48] ARCHER C R , SARGEANT R , BASAK J , et al. Characterization and validation of a human 3D cardiac microtissue for the assessment of changes in cardiac pathology [J]. *Sci Rep* , 2018 , 8(1) : 10160.

[责任编辑 丁广治]