

心脏间质细胞在心肌纤维化中的作用机制及研究进展

李丽, 吴立玲

(北京大学医学部生理学与病理生理学系, 北京市 100191)

[专家简介] 吴立玲, 北京大学基础医学院生理学与病理生理学系教授, 博士研究生导师, 北京市教学名师、北京市师德先进个人和北京市优秀教师获得者。主持的病理生理学课程被评为北京市级和国家级精品课程、国家精品资源共享课。主编和参编多部国家级规划教材《病理生理学》, 4次获北京市精品教材奖。现兼任《中国病理生理杂志》副主编, 以及《中华心血管病杂志》、《生理学报》和《中国动脉硬化杂志》编委等; 曾任中国病理生理学会第九届理事长。长期从事心血管疾病发病机制和唾液腺分泌机制的研究, 揭示多种脂肪因子在心血管重构中的作用, 发现多种调控下颌腺分泌的新途径。先后主持国家自然科学基金项目、教育部博士点基金项目和北京市自然科学基金项目10余项, 在 *ATVB*、*Cardiovasc Res*、*J Cell Sci*、*J Proteome Res* 等国内外杂志发表论文140余篇, 6次获省部级科技进步奖。



[关键词] 心肌纤维化; 间质细胞; 表型转化; 信号转导; 表观遗传修饰

[摘要] 心肌纤维化是多种损伤因素引起的心脏间质中细胞外基质过量沉积, 可导致心室顺应性下降、心肌舒张功能障碍及心律失常的发生, 与心功能不全的严重程度及不良预后密切相关。心脏间质中的成纤维细胞、内皮细胞、周细胞和免疫细胞等细胞类型因基因组学表达差异可区分为多种亚群, 并通过表型转化、精细调控细胞外基质组分及分泌促纤维化或抗纤维化因子等机制调控心肌纤维化。本文就心脏间质细胞在心肌纤维化中的作用进行综述, 并揭示相关的信号转导网络及表观遗传修饰机制, 为预防和延缓心肌纤维化进程提供新的治疗策略和靶点。

[中图分类号] R363; R5

[文献标识码] A

Mechanism and research progress of cardiac interstitial cells in myocardial fibrosis

LI Li, WU Liling

(Department of Physiology and Pathophysiology, Peking University Health Science Center, Beijing 100191, China)

[KEY WORDS] cardiac fibrosis; interstitial cells; phenotype transformation; signal transduction; epigenetic modification

[ABSTRACT] Myocardial fibrosis is the excessive deposition of extracellular matrix (ECM) in the cardiac interstitium caused by a variety of injury factors, which can lead to the decline of ventricular compliance, myocardial diastolic and systolic dysfunction and arrhythmia. It is closely related to the severity of cardiac insufficiency and poor prognosis. Fibroblasts, endothelial cells, pericytes and immune cells in cardiac interstitium can be divided into a variety of subgroups due to different genomic expression, and regulate myocardial fibrosis through phenotypic transformation, fine regulation of ECM components and secretion of pro-fibrosis or anti-fibrosis factors. This article reviews the role of cardiac interstitial cells in cardiac fibrosis and reveals the molecular mechanisms including signal transduction networks and epigenetic modifications, which will provide new therapeutic strategies and targets for preventing and alleviating cardiac fibrosis.

心肌纤维化是缺血缺氧、负荷过度、炎症、代谢紊乱等损伤性因素造成的心脏中细胞外基质 (extra-

cellular matrix, ECM) 过量沉积, 以心肌间质中胶原含量升高以及比例失调和排列紊乱为特征, 可导致

[收稿日期] 2021-04-01

[修回日期] 2021-04-23

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81770225)

[作者简介] 李丽, 博士, 副教授, 硕士研究生导师, 主要研究方向为心肌纤维化的分子机制, E-mail 为 lilyby@163.com。通信作者吴立玲, 硕士, 教授, 博士研究生导师, 主要研究方向为心血管疾病发病机制和唾液腺分泌机制, E-mail 为 pathophy@bjmu.edu.cn。

心肌僵硬增加以及不同程度的心脏舒缩功能障碍,同时构成致心律失常的结构基础,与病理性心室重构及慢性心功能不全的进行性发展密切相关。心肌纤维化是多因素参与的复杂调控过程,受神经-体液因素激活、细胞因子和炎症介质释放、ECM 组分改变等综合影响,也与心脏中多种细胞类型的活化密切相关。本文就心脏间质细胞在心肌纤维化中的作用进行综述。

1 正常心脏中的细胞类型

在正常成年哺乳动物心脏中,心肌细胞(cardiac myocytes, CM)体积约占心脏总体积的 3/4,数量占

心脏细胞总数的 30%;间质细胞体积仅占心脏总体积的 1/4,数量则占心脏细胞总数的 70%^[1]。其中内皮细胞(endothelial cells, EC)是数量最为丰富的间质细胞,占间质细胞总数的 64%;其次是心脏成纤维细胞(cardiac fibroblasts, CF),占比为 15%^[2]。心脏间质细胞中还包含血管平滑肌细胞(vascular smooth muscle cells, VSMC)、周细胞、心外膜间皮细胞以及少量的单核/巨噬细胞、肥大细胞、淋巴细胞和神经细胞。利用生物标记物表达差异的特性对特定类型的间质细胞进行分离或谱系追踪,对揭示心脏胚胎发育和疾病损伤的细胞及分子机制具有重要意义^[3-5](表 1)。

表 1. 心脏间质细胞的生物标记物

Table 1. Biomarkers for cardiac interstitial cells

细胞类型	细胞标记物	标记物定位	在其他细胞表达情况
成纤维细胞	PDGFR α	细胞表面	上皮细胞
	Collagen I α 1	细胞外基质	内皮细胞、肌成纤维细胞
	DDR2	细胞表面	内皮细胞、血管平滑肌细胞、肌成纤维细胞
	Vimentin	细胞质	血管平滑肌细胞、上皮细胞、内皮细胞、周细胞、肌成纤维细胞
	Thy1/CD90	细胞表面	内皮细胞、白细胞
	FSP-1	细胞质	内皮细胞、血管平滑肌细胞、白细胞
内皮细胞	VE-cadherin	细胞表面	
	CD31/PECAM1	细胞表面	免疫细胞
	Tie1	细胞表面	造血干细胞
周细胞	Tie2	细胞表面	免疫细胞
	NG2	细胞表面	神经/胶质细胞
	PDGFR β	细胞表面	血管平滑肌细胞、神经元、肌成纤维细胞
上皮细胞	CD146	细胞表面	内皮细胞
	E-cadherin	细胞表面	肌成纤维细胞
血管平滑肌细胞	Paxillin	细胞表面	肌成纤维细胞
	MYH11	细胞质	肌成纤维细胞
	α -SMA	细胞质	周细胞、肌成纤维细胞
单核/巨噬细胞	SM22 α	细胞质	周细胞、肌成纤维细胞
	CD45	细胞表面	
	CD68	细胞表面	成纤维细胞、上皮细胞
	EMR1	细胞表面	
	CXCR1	细胞表面	肥大细胞、树突细胞
	CSF1R	细胞表面	中性粒细胞、肥大细胞、树突细胞

2 心肌纤维化的常见病因及分类

根据致病因素不同及组织病理学差异,心肌纤维化可分为替代性纤维化和反应性纤维化。替代性纤维化常见于急性心肌梗死,因心肌细胞大量坏死且再生能力极低,故以胶原为主要成分的纤维瘢

痕形成并替代坏死的心肌细胞,在心肌梗死早期有利于维持心脏结构和功能的完整性。反应性纤维化则无大量心肌细胞坏死及瘢痕形成,常由心脏负荷过度、反复短暂缺血、心肌病、衰老、代谢紊乱、药物或毒素损伤等引发。反应性纤维化可分为间质纤维化和血管周围纤维化,前者表现为肌内膜、肌

束膜等肌间隙区域胶原增多,后者则表现为胶原在冠状动脉分支外膜区域的异常沉积。过度而持久的心肌纤维化可造成基质网络错构、冠状动脉血流异常、物质交换受阻、组织异质性增加、心电传导阻滞及心肌舒缩功能障碍,与心功能不全的进行性发展和不良预后密切相关^[6-7]。

3 心脏间质细胞在心肌纤维化中的作用及机制

心脏间质细胞自稳态对于构建精密有序的ECM网络、维持心脏几何结构和舒缩性能、保证电信号的精确传导以及整合和传递细胞外机械和化学刺激具有重要的生理意义。但在损伤因素的作用下,间质细胞可通过转分化为肌成纤维细胞表型、改变ECM组分的时空表达、分泌促纤维化或抗纤维化因子等机制调控心肌纤维化的发生和发展^[6]。

3.1 成纤维细胞

CF在心室壁中主要分布于肌间隙和冠状动脉分支外膜层,是胶原蛋白、弹性蛋白等ECM组分的主要细胞来源,可分泌多种基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMP)及其抑制剂,是调控ECM合成、分泌、组装及降解的关键细胞类型,其增殖和活化在多种损伤因素引起的心肌纤维化中发挥重要作用。根据胚胎起源及基因表达谱的异质性可区分出不同的CF亚群,且这些亚群在心肌纤维化中的作用也存在差异^[8-9]。

3.1.1 不同胚胎起源的CF在心肌纤维化中的作用

基因谱系示踪技术证实成年小鼠CF中约80%由胚胎期心外膜源细胞经上皮-间充质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)而来^[10]。胚胎期心外膜上皮细胞特异性敲除PDGFR α 和bHLH家族转录因子21(transcription factor 21, Tcf21)使Snail、Slug、Sox9等EMT诱导因子的表达显著降低,成年后心室壁成纤维细胞数量减少,提示二者在心外膜源细胞向CF分化中的重要作用^[11-12]。其余约20%CF来源于胚胎期内膜垫内皮细胞,这些内皮细胞经内皮-间充质转化(endothelial-mesenchymal transition, EndMT)成为间充质细胞,并迁移至室间隔区域发育为CF^[13-14]。在主动脉缩窄(transverse aortic constriction, TAC)小鼠模型,心外膜和心内膜来源的CF均出现向肌成纤维细胞的表型转化及增殖活跃,且在增殖程度、信号通路活化及基因表达等方面无显著差异,提示这两种来

源的CF在压力超负荷引起的心肌纤维化中具有相似的作用^[13-14]。在心肌梗死(myocardial infarction, MI)小鼠模型,梗死区肌成纤维细胞中约70%由心外膜起源的CF转化而来,仅极少量(<1%)为内皮细胞、平滑肌细胞及循环单核/巨噬细胞起源,而心内膜起源的CF是否活化为肌成纤维细胞尚不明确^[15]。但上述研究均证实心脏固有成纤维细胞是肌成纤维细胞的主要来源和促进心肌纤维化的关键因素。

3.1.2 CF不同亚群在心肌纤维化中的作用

近期有研究利用单细胞RNA测序(single-cell RNA sequencing, scRNA-seq)证实CF在基因表达及功能特性上存在差异,并据此区分出不同的亚群。Skelly等^[16]以Col1a1作为标志基因从心脏中筛选出成纤维细胞,并将其区分为两个亚群:一个亚群表达PDGFR α 和Tcf21,另一个亚群不表达PDGFR α 和Tcf21,但高表达Wnt信号通路关联基因DKK3、Wif1、Tbx20及Frzb,但该研究未探讨这两个CF亚群在心肌损伤后的数量及表型改变。Farbehi等以PDGFR α^+ 作为CF的筛选标准,将假手术和心肌梗死小鼠心室壁的成纤维细胞划分为不同亚群,并揭示了这些亚群在心肌梗死后的变化规律及功能特点。CF可分为Sca-1高表达(fibroblast: Sca-1-high, F-SH)、Sca-1低表达(fibroblast: Sca-1-low, F-SL)、Wnt信号通路高表达(fibroblast: Wnt expressing, F-WntX)、瞬时成纤维细胞(fibroblast: transitory, F-Trans)、活化成纤维细胞(fibroblast: activated, F-Act)和肌成纤维细胞6个亚群。其中F-SH和F-SL是基础状态下占比最高的2个亚群,肌成纤维细胞则仅出现在心肌梗死后的心室壁中。F-SH除高表达Sca1和Thy1等间充质干细胞(mesenchymal stem cell, MSC)标志分子并具有集落形成特性外,还富集表达与细胞黏附相关的表面受体基因如Acr3(Cxcr-7)、Axl和CD34;F-SL则呈分泌表型,富集表达分泌蛋白,且约半数的分泌蛋白具有配体功能如骨形态发生蛋白4(bone morphogenetic protein-4, BMP-4)和肾上腺髓质素。F-WntX高表达Wnt、结缔组织生长因子(connective tissue growth factor, CTGF)和转化生长因子 β (transforming growth factor- β , TGF- β)信号通路的抑制基因如Wif1、DKK3、SFRP2、FRZB、AXIN2及Fmod,且在分布上与EC毗邻,提示F-WntX可能通过旁分泌途径作用于邻近的CF和EC,发挥抑制纤维化和阻碍血管新生的作用。F-Act高表达ECM蛋白基因Postn、Fn1和Col8a1,并具有活跃的增殖特性,其中约30%的F-

Act 表达 α -SMA, 但表达量远低于肌成纤维细胞。F-Trans 高表达 Eln、Fbln1、Vit 和 Mfap4 等与 ECM 合成组装相关的基因, 细胞状态转换轨迹分析显示 F-Trans 是 F-SL 向 F-WntX 转换的中间过渡表型^[17]。肌成纤维细胞是一类高表达 α -SMA 的平滑肌样成纤维细胞, 其胞质内分布着成束的、具有收缩特性的微丝, 可活跃合成 I、III、IV、V 及 VI 型胶原、纤连蛋白额外结构域 A 以及骨膜蛋白、骨桥蛋白等基质细胞蛋白, 具有更强的增殖、迁移以及分泌功能, 是促进心肌纤维化的主要效应细胞^[5]。上述 6 种细胞亚群的数量在心肌梗死后发生动态变化并在心肌纤维化进程中发挥不同作用。在小鼠心肌梗死第 3 天, F-SH 和 F-SL 数量明显减少而 F-Act 和 F-WntX 增多。在基础状态下仅占间质细胞总数 7% 的 F-Act 此时占比高达 48%, 这与 F-SH 分化为 F-Act 有关, 标志着梗死区纤维化修复的开始; F-SL 向 F-WntX 分化则可能发挥抑纤维化效应以防止过度修复的发生。在小鼠心肌梗死第 7 天, F-Act 数量较第 3 天减少, 肌成纤维细胞明显增多且替代 F-Act 成为占比最高的亚群, 这一改变与 F-Act 转化为肌成纤维细胞有关, 标志着纤维化修复的活跃进行^[17]。

3.1.3 CF 活化的信号转导机制

多种损伤因素可引起神经-体液因子的释放和免疫细胞的激活, 使循环及/或心脏局部生长因子如 TGF- β 、PDGF、血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) 等、血管活性肽如血管紧张素 II (angiotensin II, Ang II)、内皮素 1 和心房钠利尿肽等, 以及促炎因子如肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白细胞介素 1 β (interleukin-1 β , IL-1 β) 和 IL-6 等增多, 分别通过相应的信号转导机制调控 CF 的增殖、迁移、分泌、表型转化以及 ECM 重塑, 其中 TGF- β 信号通路活化对心肌纤维化的调控尤为重要。TGF- β 的促纤维化效应由 TGF- β I 型受体 (TGF- β receptor type I, T β R I) 和 II 型受体 (T β R II) 介导。TGF- β 与 T β R II 结合后可募集 T β R I, 形成异源二聚体形式的膜受体复合物。T β R II 具有丝/苏氨酸蛋白激酶活性, 使 T β R I 胞内区 TTSGSGSG 模序发生丝/苏氨酸磷酸化并活化, 后者进一步激活转录因子 Smad2/3, 促进 α -SMA 及 I 型和 III 型胶原的表达。TGF- β 还可激活丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinase, MAPK) 家族、磷脂酰肌醇-3-激酶/蛋白激酶 B (phosphatidylinositol 3-kinase/Akt, PI3K/Akt)、RhoA/RhoA 相关激酶 (RhoA/Rho-associated kinase, RhoA/ROCK) 等非经典信号通路, 通过促进激活蛋白 1 (activator protein-1, AP-1)、激

活转录因子 2 (activating transcription factor-2, ATF-2)、核因子 κ B (nuclear factor- κ B, NF- κ B)、myocardin 相关转录因子 A (myocardin-related transcription factor-A, MRTF-A) 等转录因子的活化, 上调胶原、 α -SMA 以及 TGF- β 和 CTGF 等细胞因子的表达, 促进心肌纤维化的发生和发展^[18-20] (图 1)。

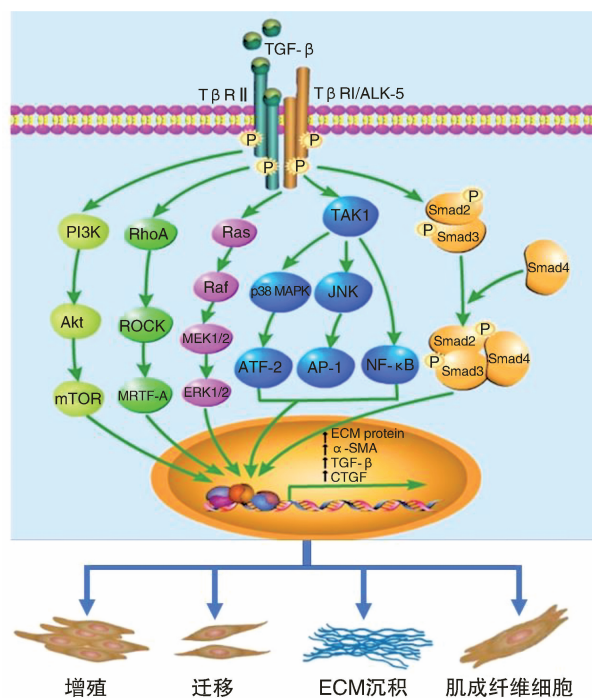


图 1. TGF- β 促进 CF 活化的信号转导机制

Figure 1. The signal transduction mechanisms involved in the activation of CF induced by TGF- β

3.1.4 DNA 甲基化和组蛋白修饰对 CF 活化和心肌纤维化的影响

近年来 DNA 甲基化和组蛋白修饰在 CF 活化和心肌纤维化中的作用日益受到关注^[21-22]。DNA 甲基转移酶 (DNA methyltransferase, DNMT) 以 S-腺苷甲硫氨酸为甲基供体, 催化甲基转移至胞嘧啶鸟嘌呤中的 5'-胞嘧啶, 从而引起基因转录受抑, 其中 DNMT1 主要参与 DNA 复制时新生链 DNA 甲基化状态的维持, DNMT3a/3b 则参与 DNA 从头甲基化^[23]。TGF- β 1 通过抑制 DNMT1 表达使 α -SMA 启动子甲基化水平降低及转录增强, 促进 CF 向肌成纤维细胞转化^[24]。DNMT 抑制剂 5-氮-2-脱氧胞苷通过减低长链非编码 RNA 生长停滞特异性转录因子 5 (growth arrest special 5, GAS5) 基因启动子区的甲基化而上调其表达, GAS5 继而通过抑制 NOD 样受体蛋白 3 (NOD-like receptor protein 3, NLRP3)/Caspase-1 信号转导减轻 CF 焦亡的发生^[25]。近来发现萝卜硫素可降低具有抑纤维化作

用的核因子 E2 相关因子 2 (nuclear factor erythroid 2-related factor, NRF-2) 启动子区的甲基化水平, 通过上调 NRF-2 的转录表达对 Ang II 诱导的心肌纤维化产生抑制作用^[26]。

组蛋白的乙酰化和甲基化修饰也与心肌纤维化密切相关。组蛋白去乙酰化酶 (histone deacetylase, HDAC) 通过移除 H3 和 H4 组蛋白 N 端赖氨酸上的乙酰基增强组蛋白与 DNA 间的相互作用, 形成更为紧密的染色质结构, 阻碍转录因子与基因启动子的结合而引起基因转录沉默, 其中 I、II 和 IV 类 HDAC 为 Zn²⁺ 依赖性酶, III 类 HDAC 的活性则依赖于 NAD⁺^[27]。I 类 HDAC 选择性抑制剂 MGCD0103 通过提高组蛋白乙酰化水平增加细胞周期蛋白依赖性激酶 (cyclin-dependent kinase, CDK) 抑制剂 p15 和 p57 的表达, 使 CDK 活性受抑及视网膜母细胞瘤 (retinoblastoma, Rb) 蛋白磷酸化水平降低, 后者通过阻遏 CF 从 G1 期进入 S 期而抑制细胞增殖^[27-28]。

I/II 类 HDAC 抑制剂 Rhein 通过增加 p53 赖氨酸残基乙酰化而抑制其泛素化及靶向蛋白酶降解, p53 稳定性增强又可促进 p21 表达, 后者通过阻滞细胞周期而抑制 CF 增殖; Rhein 还可通过乙酰化调控增加 Smad7 的表达, Smad7 招募 E3 连接酶 Smurf2 促进 TGF- β 受体的泛素化降解, 从而抑制 TGF- β 1 介导的肌成纤维细胞转化及胶原分泌^[29]。鞣花酸和抑肽酶 16 均可下调 HDAC 的表达, 抑制 CF 活化和胶原沉积, 从而改善心肌梗死和 Ang II 引起的心肌纤维化^[30-31]。组蛋白 H3 和 H4 的赖氨酸残基可在组蛋白甲基转移酶 (histone methyltransferase, HMT) 和组蛋白去甲基化酶 (histone demethylase, HDM) 的作用下分别发生甲基化和去甲基化, 其中 H3K4、H3K36 和 H3K79 甲基化与基因转录活化有关, 而 H3K9、H3K27 和 H4K20 甲基化则与转录抑制相关^[32]。Ang II 可上调 H3K27me3 去甲基化酶 JMJD3 的表达, JMJD3 使 β -连环蛋白 (β -catenin) 启动子区甲基化程度降低和转录激活, β -连环蛋白通过与 TGF- β 信号通路的协同作用促进 CF 活化; 在体抑制 JMJD3 可显著抑制心肌缺血引起的纤维化及心功能障碍^[33]。H3K9me2 去甲基化酶 Kdm3a 能降低心肌细胞组织型基质金属蛋白酶抑制剂 1 (tissue inhibitor of metalloproteinase-1, TIMP-1) 启动子区的甲基化水平, 使 TIMP-1 转录、合成和分泌增多, 通过抑制 MMP 活性而促进 ECM 沉积及纤维化发生^[34]。

3.2 内皮细胞

根据基因表达谱的差异, 心室壁 EC 可分为

EC1、EC2 和 EC3 三个亚群, 分别代表微血管、动脉及淋巴管 EC^[17]。目前关于 EC 在心肌纤维化中的作用仍存在较大争议。Zeisberg 等^[35]发现在 TAC 小鼠模型中 EC 可经 EndMT 转化为 FSP-1⁺ 成纤维细胞并促进心肌纤维化的发生发展。Moore-Morris 等^[8]则证实 TAC 小鼠心脏中 Collagen I α 1⁺ 成纤维细胞并非 EC 起源, 从而否定了 EndMT 在压力超负荷引起的心肌纤维化中的作用。但在心肌梗死小鼠模型中发现, EC 可获得 PDGFR β 阳性表达, 这些 CD31⁺PDGFR β ⁺ 细胞表型呈现内皮细胞标志物减少、MSC 和成纤维细胞标志物如 Cdh2、Tagln、Col1a1、Col1a2、Col3a1、MEFSK4 表达上调的特点, 证实 EndMT 参与心肌梗死后纤维化进程^[36]。造成上述研究获得不同结论的原因之一与 CF 标记物的选择有关, 如 FSP-1 仅存在于少量 CF 中, 在 EC、VSMC 和白细胞中也有表达, 故以 FSP-1⁺ 作为 CF 鉴定标准的特异性较差。基因谱系示踪技术中选择何种启动子驱动的 Cre 工具小鼠是另一重要影响因素。如利用 Tie1Cre R26RstoplacZ 小鼠对内皮源细胞进行标记时, 由于 Tie1 还表达于造血干细胞, 故使造血干细胞来源的细胞也被标记。此外, 造成心肌损伤的因素不同可能会使参与心肌纤维化的细胞类型发生改变^[6,10]。

体外细胞实验证实多种因素如 TGF- β 、Wnt、Notch、音猬因子、缺氧等均可诱导 EndMT 的发生^[37-39]。TGF- β 经经典途径激活 Smad2/3 及非经典途径激活 ERK1/2、p38MAPK、RhoA/ROCK、PI3K/Akt 等蛋白激酶; Wnt 通过与卷曲受体 (Frizzled) 结合激活 β -连环蛋白; Notch 配体与受体结合后经酶切水解释放 Notch 胞内结构域 (Notch intracellular domain, NICD); 缺氧可激活缺氧诱导因子 1 α (hypoxia inducible factor-1 α , HIF-1 α)。上述信号通路的活化促进 Snail、Slug、Twist、锌指结构 E-box-结合同源框 1 (zinc finger E-box-binding homeobox 1, ZEB1) 和 Smad 蛋白相互作用蛋白 1 (Smad interacting protein 1, SIP1) 等转录因子的活化和表达, 从而下调 EC 标志分子和上调 MSC 标志分子的表达^[5,40-41] (图 2)。近期的研究发现, 激活孤儿核受体 Nur77 和松弛素家族肽受体可抑制 TGF- β 诱导的 EndMT, 从而减轻 TAC、Ang II 和心肌梗死引起的心肌纤维化^[42-43]。

组蛋白的乙酰化和甲基化修饰也是调控 EndMT 的重要机制^[44]。TGF- β 2 通过减少 EC 中组蛋白甲基转移酶 Zeste 同源物增强子 2 的表达使 SM22 α 启动子 H3K9me3 水平降低, 从而促进

SM22 α 表达和诱导 EndMT 发生^[45]。TGF- β 1 通过增加 Ras 蛋白激活物类似物 1 (Ras protein activator like 1, RASAL1) 启动子区甲基化水平而降低人冠状动脉内皮细胞中 RASAL1 蛋白表达, RASAL1 对 Ras 的抑制作用减弱, 进而增加 Ras-GTP 活性和促进 EndMT 发生; 骨形态发生蛋白 7 (bone morphogenetic protein-7, BMP-7) 则通过 10-11 易位酶 3 使 RASAL1 启动子发生羟甲基化反应和甲基化水平降低, 改善压力超负荷小鼠的心肌纤维化^[46]。TGF- β 2 通过增加组蛋白去甲基化酶 JMJD2B 的表达使间充质标志物调宁蛋白 (calponin) 以及转录因子硫酸酯酶 1 (sulfatase 1, SULF1) 启动子 H3K9me3 水平降低, 调宁蛋白和 SULF1 表达上调, 后者的转录活性增强可促进 TGF- β 2 表达及 EndMT 进程。内皮细胞特异性 JMJD2B 敲除可抑制心肌梗死小鼠心室壁中 EndMT 的发生^[47]。

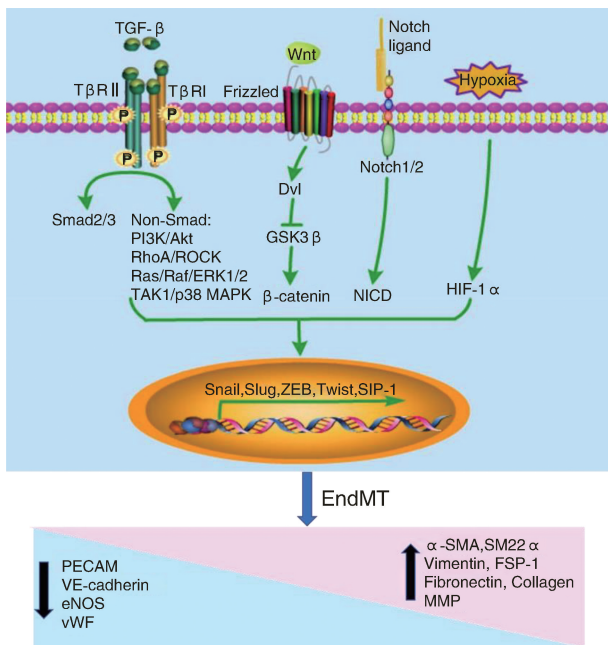


图 2. 内皮-间充质转化的信号转导机制
Figure 2. Signal transduction mechanisms involved in EndMT

3.3 周细胞

周细胞是分布于微血管壁中的一种细胞类型, 是微血管壁结构的重要组成部分。心脏周细胞具有调节微血管口径和血流量、维持内皮屏障完整性、调节血管壁通透性以及传递心肌代谢底物等多种功能。体外分离培养的心脏周细胞具有与间充质干细胞相似的细胞表型以及自我更新和多向分化潜能, 因此部分学者认为周细胞可能是体内的一

类间充质干细胞^[48-49]。多数研究以 PDGFR β 、NG2 或 CD146 作为心脏周细胞的标志分子, 在此基础上根据 CD73、巢蛋白 (nestin) 和胶质瘤相关原癌基因同源物 1 (glioma-associated oncogene homolog 1, Gli1) 等的表达差异区分出不同的亚群^[50]。在 TAC 和 Ang II 造成的小鼠心肌纤维化模型中, 心脏 PDGFR- β ⁺/Gli1⁺/NG2⁻周细胞及肌成纤维细胞的数量均显著增加, 且谱系示踪结果显示约 60% 的肌成纤维细胞由 PDGFR- β ⁺/Gli1⁺/NG2⁻周细胞分化而来; 特异性剔除这一周细胞亚群可显著减轻心肌纤维化并改善左心室舒缩功能, 提示心脏周细胞可通过转分化为肌成纤维细胞促进心肌纤维化的发生发展^[51]。Sirtuin 3 表达下调使 Ang II 持续输注小鼠心脏中 NG2⁺/PDGFR- β ⁺周细胞数量增加以及向肌成纤维细胞转化增多, 其机制与心脏中 TGF- β 含量升高以及 NADPH 氧化酶诱导的活性氧生成增多有关^[52]。缺氧和血清饥饿可增加体外培养的人冠状动脉周细胞合成和分泌富含半胱氨酸的酸性分泌蛋白, 后者通过自分泌作用促进周细胞合成 I 型胶原, 提示心脏周细胞亦可通过分泌细胞基质蛋白调控心肌纤维化^[53]。但也有研究对周细胞在心肌纤维化中的作用提出质疑。Guimarães-Camboa 等^[54]从心脏中分离出的 Tbx18⁺细胞包括了 PDGFR- β ⁺/CD146⁺周细胞及 α -SMA⁺血管平滑肌细胞, 且均在体外呈现出多向分化潜能; 但细胞谱系示踪结果显示 TAC 术后显著增加的 CF 并无周细胞来源。因此, 心脏周细胞在心肌纤维化中的作用尚有待于进一步研究和确认。

3.4 免疫细胞

3.4.1 单核/巨噬细胞 正常成年哺乳动物心脏中存在的少量固有巨噬细胞对心脏局部免疫调节、冠状动脉稳态、房室结电传导以及心肌修复再生具有重要意义, 但心肌损伤特别是心肌梗死后损伤区域巨噬细胞明显增多并非归因于固有巨噬细胞增殖, 而是循环中的单核细胞在单核细胞趋化蛋白 1 (monocyte chemoattractant protein-1, MCP-1)/细胞表面趋化因子受体 2 (CC chemokine receptor 2, CCR2) 的介导下募集而来^[55-56]。这些被募集的单核/巨噬细胞在表型特征和分泌特性上具有明显的差异, 在心肌梗死的早期炎症阶段和后期修复阶段发挥不同的功能。在早期炎症阶段, 心肌组织中增多的是 CCR2⁺LY6C2^{high} M1 巨噬细胞, 可吞噬、酶解及清除坏死心肌并可活跃分泌多种促炎介质 (IL-1 β 、TNF- α 和 IL-6 等) 以及促纤维化生长因子 (TGF- β 、PDGF 和成纤维细胞生长因子等)。在梗死修复阶

段,LY6C2-F4/80high M2 巨噬细胞被募集,可分泌 IL-10、VEGF、TGF- β 和 MMP,调控血管再生及间质重塑^[57]。

目前对于单核/巨噬细胞在心肌纤维化中的作用尚无定论,部分研究认为巨噬细胞对心肌纤维化的发展具有推动作用。Hulsmans 等发现高血压、衰老等损伤因素造成的左心室舒张功能障碍与心室壁中巨噬细胞的聚集有关。这些损伤因素使骨髓和脾脏中单核细胞产生及释放入血增多,循环中的单核细胞进入心脏间质区域,使巨噬细胞数量显著增多。巨噬细胞产生的 IL-10 通过自分泌作用抑制 MMP 产生和促进骨桥蛋白释放,前者使胶原的降解减少,后者则通过旁分泌作用促进 CF 向肌成纤维细胞转化,二者共同促进心肌纤维化的发生^[58]。Alonso-Herranz 等^[36]的研究结果显示,巨噬细胞特异性 MMP-14 基因敲除可阻碍 TGF- β 1 与其潜在型结合肽的分离,使间质中活化型 TGF- β 1 减少,因此通过旁分泌途径促进邻近内皮细胞发生 EndMT 的作用减弱,从而减轻心肌梗死后心肌纤维化。部分研究揭示巨噬细胞的抗心肌纤维化效应。Abe 等^[59]发现小鼠 TAC 术后 3 天心肌组织中出现 LY6C2high 巨噬细胞募集,且集中分布于缺氧区域;缺氧微环境使巨噬细胞内 HIF-1 α 活化并上调肿瘤抑制因子 M (oncostatin M, OSM) 的表达;OSM 通过作用于邻近的 CF 抑制 Smad2 激活及细胞活化。心包液中的固有 Gata6⁺巨噬细胞在心肌梗死后穿过心外膜并浸润至损伤区域,其表型随着所处微环境不同而发生变化,表现为 Gata6 和 CD102 表达减少,CD64 表达增加,并具有抑纤维化的作用,但其抑制纤维化的作用机制尚不明确^[60]。scRNA-seq 结果显示,心肌梗死小鼠心脏中除组织固有巨噬细胞 (tissue-resident macrophage, MAC-TR) 以及 M1、M2 巨噬细胞亚群外,还存在 MAC-IFN1C、MAC6、MAC7 和 MAC8 亚群。MAC-IFN1C 表现为干扰素诱导基因如 Ifit3、Ifit1 和 Cxcl10 表达上调;MAC6 高表达粒细胞标志物 S100a9 和 Csf3r;MAC7 数量在心肌梗死术后 3 天增加显著,而在术后 7 天下降至接近正常;MAC-IFN1C、MAC6 和 MAC8 则在心肌梗死术后 7 天增加最为显著。因此,巨噬细胞亚群表型及功能的多样性使其在心肌纤维化中的作用也具有复杂多样的特点^[17]。

3.4.2 肥大细胞 心肌纤维化时心脏中肥大细胞数量增加,这是由于骨髓来源的前体细胞经循环浸润至心脏间质并发育成熟所致^[61-62]。IgE、TNF- α 和 C5a 等可与肥大细胞表面相应的受体结合,使肥

大细胞脱颗粒,释放胰酶、TNF- α 、组胺、糜蛋白酶等介质。胰酶通过蛋白酶激活受体 2 激活 ERK1/2,促进 CF 增殖和活化;糜蛋白酶水解 Ang I 羧基末端的 Phe8-His9,使心脏局部 Ang II 生成增多;组胺通过其 2 型组胺受体激活钙调神经磷酸酶,促进 CF 增殖和活化;TNF- α 可通过激活 MAPK 及 NF- κ B 促进 CF 活化^[63]。

3.4.3 淋巴细胞 中性粒细胞缺失小鼠在心肌梗死后表现为心肌纤维化及心功能受损加重;增加心肌梗死小鼠体内 CD206⁺中性粒细胞可抑制 CF 向肌成纤维细胞转化及胶原合成,这是由于中性粒细胞缺失使 M2 巨噬细胞表达髓样上皮再生酪氨酸激酶这一吞噬受体减少,造成凋亡细胞清除障碍^[64-65]。有研究显示,中性粒细胞在小鼠心肌梗死第 1 天具有促炎活性并分泌 MMP-8 和 MMP-9,第 3 天凋亡信号增强且分泌可降解 ECM 的组织蛋白酶及具有 ECM 组装作用的纤连蛋白,第 5 天分泌与 ECM 降解和合成相关的 ECM 组分如 MMP-2、TIMP-2、玻连蛋白,第 7 天则分泌促进瘢痕形成及组织修复的 ECM 组分如纤连蛋白、半乳凝集素及纤维蛋白原,提示中性粒细胞随着心肌梗死进程可改变其分泌性能参与心肌纤维化调控^[66]。

辅助 T 细胞 (T helper cells, Th) 通过多种机制促进心肌纤维化。Th1 在其表面 α 4-整合素的介导下与 CF 黏附结合,促进 CF 产生 TGF- β 及向肌成纤维细胞转化;Th2 通过分泌促纤维化介质 IL-13 和 IL-4 刺激 CF 增殖及合成胶原;Th17 分泌的 IL-17 通过激活蛋白激酶 C β (protein kinase C β , PKC β)/ERK1/2/NF- κ B 信号通路促进 CF 合成胶原。给 TAC 和 Ang II 持续泵入小鼠补充调节性 T 细胞 (regulatory T cells, Tregs) 可通过减轻炎症细胞浸润和心肌细胞凋亡以及阻遏 TGF- β 信号通路来抑制 CF 活化和心肌纤维化^[6]。但也有研究发现,特异性剔除 Tregs 可减轻小鼠心肌梗死后心肌纤维化^[67],因此 Tregs 是否在不同损伤因素引发的心肌纤维化中具有不同作用尚需要进一步证实。

4 结 语

综上所述,在多种损伤因素的作用下,心脏间质细胞通过分泌促进或抑制纤维化的相关因子、影响 ECM 合成和分解、调控炎症介质的产生以及细胞表型转化等机制影响心肌纤维化,这一过程又受到信号通路网络、表观遗传修饰及动态微环境等的精细调控。未来的研究工作应整合空间转录组学和

单细胞转录组学数据,深入揭示心脏间质细胞不同亚群在纤维化进程中的分布特点及相互作用关系,以明确在不同损伤因素驱动下间质细胞的动态变化及意义。此外,利用高通量蛋白质组学和基因组学对间质细胞不同亚群的外泌体进行深度分析有助于揭示细胞间的精细调控,对于研发以特定间质细胞亚群为作用靶点的新型抗心肌纤维化药物具有重要意义。

[参考文献]

- [1] ZHOU P, PU W T. Recounting cardiac cellular composition[J]. *Circ Res*, 2016, 118(3): 368-370.
- [2] PINTO A R, ILINYKH A, IVEY M J, et al. Revisiting cardiac cellular composition[J]. *Circ Res*, 2016, 118(3): 400-409.
- [3] TARBIT E, SINGH I, PEART J N, et al. Biomarkers for the identification of cardiac fibroblast and myofibroblast cells[J]. *Heart Fail Rev*, 2019, 24(1): 1-15.
- [4] LITVIŇUKOVÁ M, TALAVERA-LÓPEZ C, MAATZ H, et al. Cells of the adult human heart[J]. *Nature*, 2020, 588(7838): 466-472.
- [5] AUJLA P K, KASSIRI Z. Diverse origins and activation of fibroblasts in cardiac fibrosis[J]. *Cell Signal*, 2021, 78: 109869.
- [6] FRANGOIANNIS N G. Cardiac fibrosis: cell biological mechanisms, molecular pathways and therapeutic opportunities[J]. *Mol Aspects Med*, 2019, 65: 70-99.
- [7] 韩冰清, 白春林. 肠道菌群代谢产物与心肌纤维化关系的研究进展[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2021, 29(1): 87-92.
- [8] MOORE-MORRIS T, GUIMARAES-CAMBOA N, YUTZEY K E, et al. Cardiac fibroblasts: from development to heart failure[J]. *J Mol Med*, 2015, 93(8): 823-830.
- [9] TALLQUIST M D. Cardiac fibroblast diversity[J]. *Annu Rev Physiol*, 2020, 82: 63-78.
- [10] IVEY M J, TALLQUIST M D. Defining the cardiac fibroblast[J]. *Circ J*, 2016, 80(11): 2269-2276.
- [11] ACHARYA A, BAEK S T, HUANG G, et al. The bHLH transcription factor Tcf21 is required for lineage-specific EMT of cardiac fibroblast progenitors[J]. *Development*, 2012, 139(12): 2139-2149.
- [12] SMITH C L, BAEK S T, SUNG C Y, et al. Epicardial-derived cell epithelial-to-mesenchymal transition and fate specification require PDGF receptor signaling[J]. *Circ Res*, 2011, 108(12): e15-e26.
- [13] MOORE-MORRIS T, GUIMARAES-CAMBOA N, BANERJEE I, et al. Resident fibroblast lineages mediate pressure overload-induced cardiac fibrosis[J]. *J Clin Invest*, 2014, 124(7): 2921-2934.
- [14] ALI S R, RANJBARVAZIRI S, TALKHABI M, et al. Developmental heterogeneity of cardiac fibroblasts does not predict pathological proliferation and activation[J]. *Circ Res*, 2014, 115(7): 625-635.
- [15] KANISICAK O, KHALIL H, IVEY M J, et al. Genetic lineage tracing defines myofibroblast origin and function in the injured heart[J]. *Nat Commun*, 2016, 7: 12260.
- [16] SKELLY D, SQUIERS G T, MCLELLAN M, et al. Single-cell transcriptional profiling reveals cellular diversity and intercommunication in the mouse heart[J]. *Cell Rep*, 2018, 22(3): 600-610.
- [17] FARBEHI N, PATRICK R, DORISON A, et al. Single-cell expression profiling reveals dynamic flux of cardiac stromal, vascular and immune cells in health and injury[J]. *Elife*, 2019, 8: e43882.
- [18] MA Z G, YUAN Y P, WU H M, et al. Cardiac fibrosis: new insights into the pathogenesis[J]. *Int J Biol Sci*, 2018, 14(12): 1645-1657.
- [19] HUMERES C, FRANGOIANNIS N G. Fibroblasts in the infarcted, remodeling, and failing heart[J]. *JACC Basic Transl Sci*, 2019, 4(3): 449-467.
- [20] Derynck R, Budi EH. Specificity, versatility, and control of TGF-beta family signaling[J]. *Sci Signal*, 2019, 12(570): eaav5183.
- [21] FELISBINO M B, MCKINSEY T. Epigenetics in cardiac fibrosis: emphasis on inflammation and fibroblast activation[J]. *JACC Basic Transl Sci*, 2018, 3(5): 704-715.
- [22] PAPAIT R, SERIO S, CONDORELLI G. Role of the epigenome in heart failure[J]. *Physiol Rev*, 2020, 100(4): 1753-1777.
- [23] ZHANG X, HU M, LYU X, et al. DNA methylation regulated gene expression in organ fibrosis[J]. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*, 2017, 1863(9): 2389-2397.
- [24] HE Y, LING S, SUN Y, et al. DNA methylation regulates α -smooth muscle actin expression during cardiac fibroblast differentiation[J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234(5): 7174-7185.
- [25] SHE Q, SHI P, XU S S, et al. DNMT1 methylation of lncRNA GAS5 leads to cardiac fibroblast pyroptosis via affecting NLRP3 axis[J]. *Inflammation*, 2020, 43(3): 1065-1076.
- [26] XIN Y, BAI Y, JIANG X, et al. Sulforaphane prevents angiotensin II-induced cardiomyopathy by activation of Nrf2 via stimulating the Akt/GSK-3 β /Fyn pathway[J]. *Redox Biol*, 2018, 15: 405-417.
- [27] LYU X, HU M, PENG J, et al. HDAC inhibitors as antifibrotic drugs in cardiac and pulmonary fibrosis[J]. *Ther Adv Chronic Dis*, 2019, 10: 2040622319862697.
- [28] SCHUETZE K B, STRATTON M S, BLAKESLEE W W, et al. Overlapping and divergent actions of structurally distinct histone deacetylase inhibitors in cardiac fibroblasts[J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2017, 361(1): 140-150.
- [29] BARBOSA D M, FAHLBUSCH P, HERZFELD D D, et al. Rhein, a novel histone deacetylase (HDAC) inhibitor with antifibrotic potency in human myocardial fibrosis[J]. *Sci Rep*, 2020, 10(1): 4888.
- [30] LIN C, WEI D, XIN D, et al. Ellagic acid inhibits proliferation and migration of cardiac fibroblasts by down-regulating expression of HDAC1[J]. *J Toxicol Sci*, 2019, 44(6): 425-433.
- [31] DENG M, YANG S, JI Y, et al. Overexpression of peptidase inhibitor 16 attenuates angiotensin II-induced cardiac fibrosis via regulating HDAC1 of cardiac fibroblasts[J]. *J Cell Mol Med*, 2020, 24(9): 5249-5259.
- [32] HYUN K, JEON J, PARK K, et al. Writing, erasing and reading histone lysine methylations[J]. *Exp Mol Med*, 2017, 49(4): e324.
- [33] LONG F, WANG Q, YANG D, et al. Targeting JMJD3 histone demethylase mediates cardiac fibrosis and cardiac function following myocardial infarction[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2020, 528(4): 671-677.
- [34] QJ Z, TRAN T, WANG M, et al. Histone lysine dimethyl-demethylase KDM3A controls pathological cardiac hypertrophy and fibrosis[J]. *Nat Commun*, 2018, 9(1): 5230.
- [35] ZEISBERG E M, TARNAVSKI O, ZEISBERG M, et al. Endothe-

- lial-to-mesenchymal transition contributes to cardiac fibrosis [J]. *Nat Med*, 2007, 13(8): 952-961.
- [36] ALONSO-HERRANZ L, SAHÙN-ESPAÑOL Á, PAREDES A, et al. Macrophages promote endothelial-to-mesenchymal transition via MT1-MMP/TGFβ1 after myocardial infarction [J]. *Elife*, 2020, 9: e57920.
- [37] HULSHOFF M S, XU X, KRENNING G, et al. Epigenetic regulation of endothelial-to-mesenchymal transition in chronic heart disease [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2018, 38(9): 1986-1996.
- [38] ANBARA T, SHARIFI M, ABOUTALEB N. Endothelial to mesenchymal transition in the cardiogenesis and cardiovascular diseases [J]. *Curr Cardiol Rev*, 2020, 16(4): 306-314.
- [39] CHENG W, LI X, LIU D, et al. Endothelial-to-mesenchymal transition: role in cardiac fibrosis [J]. *J Cardiovasc Pharmacol Ther*, 2021, 26(1): 3-11.
- [40] SHARMA V, DOGRA N, SAIKIA U N, et al. Transcriptional regulation of endothelial-to-mesenchymal transition in cardiac fibrosis: role of myocardin-related transcription factor A and activating transcription factor 3 [J]. *Can J Physiol Pharmacol*, 2017, 95(10): 1263-1270.
- [41] SONG S, ZHANG R, CAO W, et al. Foxm1 is a critical driver of TGF-β-induced EndMT in endothelial cells through Smad2/3 and binds to the Snail promoter [J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234(6): 9052-9064.
- [42] CHEN J, JIA J, MA L, et al. Nur77 deficiency exacerbates cardiac fibrosis after myocardial infarction by promoting endothelial-to-mesenchymal transition [J]. *J Cell Physiol*, 2021, 236(1): 495-506.
- [43] WILHELM T, XU X, TAN X, et al. Serelaxin alleviates cardiac fibrosis through inhibiting endothelial-to-mesenchymal transition via RXFP1 [J]. *Theranostics*, 2020, 10(9): 3905-3924.
- [44] KOVACIC J C, DIMMELER S, HARVEY R P, et al. Endothelial to mesenchymal transition in cardiovascular disease: JACC state-of-the-art review [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2019, 73(2): 190-209.
- [45] MALESZEWSKA M, GJALTEMA R A, KRENNING G, et al. Enhancer of zeste homolog-2 (EZH2) methyltransferase regulates transgelin/smooth muscle-22α expression in endothelial cells in response to interleukin-1β and transforming growth factor-β2 [J]. *Cell Signal*, 2015, 27(8): 1589-1596.
- [46] XU X, TAN X, TAMPE B, et al. Epigenetic balance of aberrant Rasal1 promoter methylation and hydroxymethylation regulates cardiac fibrosis [J]. *Cardiovasc Res*, 2015, 105(3): 279-291.
- [47] GLASER S F, HEUMÜLLER A W, TOMBOR L, et al. The histone demethylase JMJD2B regulates endothelial-to-mesenchymal transition [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2020, 117(8): 4180-4187.
- [48] AVOLIO E, MADEDDU P. Discovering cardiac pericyte biology: From physiopathological mechanisms to potential therapeutic applications in ischemic heart disease [J]. *Vascul Pharmacol*, 2016, 86: 53-63.
- [49] WONG S P, ROWLEY J E, REDPATH A N, et al. Pericytes, mesenchymal stem cells and their contributions to tissue repair [J]. *Pharmacol Ther*, 2015, 151: 107-120.
- [50] ALEX L, FRANGOIANNIS N G. Pericytes in the infarcted heart [J]. *Vasc Biol*, 2019, 1(1): H23-H31.
- [51] KRAMANN R, SCHNEIDER R K, DIROCCO D P, et al. Perivascular Gli1⁺ progenitors are key contributors to injury-induced organ fibrosis [J]. *Cell Stem Cell*, 2015, 16(1): 51-66.
- [52] SU H, ZENG H, LIU B, et al. Sirtuin 3 is essential for hypertension-induced cardiac fibrosis via mediating pericyte transition [J]. *J Cell Mol Med*, 2020, 24(14): 8057-8068.
- [53] AVOLIO E, MANGIALARDI G, SLATER S C, et al. Secreted protein acidic and cysteine rich matricellular protein is enriched in the bioactive fraction of the human vascular pericyte secretome [J]. *Antioxid Redox Signal*, 2021, 34(15): 1151-1164.
- [54] GUIMARAES-CAMBOA N, CATTANEO P, SUN Y, et al. Pericytes of multiple organs do not behave as mesenchymal stem cells in vivo [J]. *Cell Stem Cell*, 2017, 20(3): 345-359.
- [55] HULSMANS M, CLAUSS S, XIAO L, et al. Macrophages facilitate electrical conduction in the heart [J]. *Cell*, 2017, 169(3): 510-522.
- [56] MA Y, MOUTON A J, LINDSEY M L. Cardiac macrophage biology in the steady-state heart, the aging heart, and following myocardial infarction [J]. *Transl Res*, 2018, 191: 15-28.
- [57] SWIRSKI F K, NAHRENDORF M. Cardioimmunology: the immune system in cardiac homeostasis and disease [J]. *Nat Rev Immunol*, 2018, 18(12): 733-744.
- [58] HULSMANS M, SAGER H B, ROH J D, et al. Cardiac macrophages promote diastolic dysfunction [J]. *J Exp Med*, 2018, 215(2): 423-440.
- [59] ABE H, TAKEDA N, ISAGAWA T, et al. Macrophage hypoxia signaling regulates cardiac fibrosis via Oncostatin M [J]. *Nat Commun*, 2019, 10(1): 2824.
- [60] DENISET J F, BELKE D, LEE W Y, et al. Gata6⁺ pericardial cavity macrophages relocate to the injured heart and prevent cardiac fibrosis [J]. *Immunity*, 2019, 51(1): 131-140.
- [61] NGKELO A, RICHART A, KIRK J A, et al. Mast cells regulate myofilament calcium sensitization and heart function after myocardial infarction [J]. *J Exp Med*, 2016, 213(7): 1353-1374.
- [62] LEVICK S P, WIDIAPRADJA A. Mast cells: key contributors to cardiac fibrosis [J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(1): 231.
- [63] LEGERE S A, HAIDL I D, LÉGARÉ J F, et al. Mast cells in cardiac fibrosis: new insights suggest opportunities for intervention [J]. *Front Immunol*, 2019, 10: 580.
- [64] HORCKMANS M, RING L, DUCHENE J, et al. Neutrophils orchestrate post-myocardial infarction healing by polarizing macrophages towards a reparative phenotype [J]. *Eur Heart J*, 2017, 38(3): 187-197.
- [65] KAIN V, INGLE K A, KABAROWSKI J, et al. Genetic deletion of 12/15 lipoxygenase promotes effective resolution of inflammation following myocardial infarction [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2018, 118: 70-80.
- [66] DASEKE M J, VALERIO F M, KALUSCHE W J, et al. Neutrophil proteome shifts over the myocardial infarction time continuum [J]. *Basic Res Cardiol*, 2019, 114(5): 37.
- [67] BANSAL S S, ISMAHIL M A, GOEL M, et al. Dysfunctional and proinflammatory regulatory T-lymphocytes are essential for adverse cardiac remodeling in ischemic cardiomyopathy [J]. *Circulation*, 2019, 139(2): 206-221.