

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2025.09.008  
文章编号: 1005-8982 (2025) 09-0046-08

实验研究·论著

## S1P对成肌细胞移植治疗心肌梗死后 心律失常的影响及其机制探讨\*

于欢, 许晓欣, 张伊

[厦门医学院(机能与临床转化福建省高校重点实验室), 福建 厦门 361023]

**摘要:** **目的** 探讨1-磷酸鞘氨醇(S1P)减少自体成肌细胞移植后心律失常发生的作用和机制。**方法** 大鼠随机分对照组、成肌细胞移植组、S1P脂质体和成肌细胞移植组及脂质体移植组, 每组10只。在体通过程序性刺激的方法诱发心律失常, 采用体表心电图检测成肌细胞移植治疗心肌梗死模型大鼠4周后的心律失常发生率; 心肌组织  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase 活性检测  $\text{Ca}^{2+}$  浓度。体外分离和培养大鼠心肌细胞, 并与骨骼肌成肌细胞共同培养, 构建缺氧/复氧损伤模型。复氧期开始S1P干预, 采用Western blotting和免疫组织化学染色检测连接蛋白43(Cx43)表达水平。**结果** 导入S1P的细胞移植组发生心律失常的时间显著延后, 诱发概率降低, 心律失常持续时间短于对照组( $P < 0.05$ )。导入S1P的细胞移植组  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase 的活性高于单纯细胞移植组( $P < 0.05$ )。离体成肌细胞和心肌细胞共培养的缺氧/复氧损伤模型中, 随S1P浓度增加, Cx43蛋白相对表达量上升( $P < 0.05$ )。**结论** S1P通过提升心肌缺血再灌注大鼠心肌组织中  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase 活性和心肌缝隙连接Cx43表达, 从而减少成肌细胞移植后室性心律失常的发生。

**关键词:** 心肌梗死; 心律失常; 细胞移植; 1-磷酸鞘氨醇; 连接蛋白43  
**中图分类号:** R542.2; R541.7 **文献标识码:** A

## The effect and mechanism of S1P reduces arrhythmia after myoblast transplantation for myocardial infarction\*

Yu Huan, Xu Xiao-xin, Zhang Yi

[Xiamen Medical College(Fujian Provincial Key Laboratory of Functional and Clinical Translational  
Medicine), Xiamen, Fujian 361023, China]

**Abstract: Objective** To explore the effect and mechanism of sphingosine-1-phosphate (S1P) on the development of arrhythmia after autologous myoblasts transplantation. **Methods** Arrhythmia was induced by procedural stimulation, and  $\text{Ca}^{2+}$  concentration was measured by  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase activity in myocardial tissue. Rat cardiomyocytes were isolated and cultured in vitro, and co-cultured with skeletal muscle myoblasts to construct a hypoxia/reoxygenation injury model. S1P intervention was started with the reoxygenation phase, and the protein expression of Connexin43 (Cx43) was detected by Western blotting and immunohistochemistry. Thus, to clarify the effect of S1P on arrhythmia after myoblast transplantation for myocardial infarction, and initially explore the mechanism of S1P in reducing arrhythmia after cell transplantation. **Results** The onset of arrhythmia in the S1P cell transplant group was not only delayed, but the induction rate was decreased, and the duration was shorter than that in the control group ( $P < 0.05$ ).  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase activity was higher in cells transplanted into S1P than in cells transplanted alone ( $P < 0.05$ ). In the hypoxia/reoxygenation injury model of isolated myoblasts and cardiomyocytes, Cx43

收稿日期: 2024-12-13

\* 基金项目: 国家自然科学基金(No.: 81760263); 福建省自然科学基金(No.: 2022J011411); 福建省教育厅中青年教师教育科研项目(No.: JAT200734); 2021年厦门市留学人员科研项目(No.: LX202101)

protein expression increased significantly with increasing S1P ( $P < 0.05$ ). **Conclusions** S1P promotes the development of  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase activity and gap link Cx43 protein through myocardial ischemia and reperfusion, thus reducing the occurrence of ventricular arrhythmia after cell transplantation.

**Keywords:** myocardial infarction; arrhythmia; cell transplantation; sphingosine-1-phosphate; connexin43

《中国心血管健康与疾病报告2023》指出,中国心血管疾病现患病人数3.3亿,总死亡人群中40%死于心血管疾病,心血管疾病危险因素流行趋势明显,导致心血管疾病的发病人数增加<sup>[1]</sup>。心肌梗死是冠心病的一种严重类型,是导致心衰和死亡的主要原因之一,居心血管疾病之首。在心肌梗死的发生、发展中,心肌细胞死亡起关键作用<sup>[2]</sup>。细胞移植治疗能够取代坏死的心肌细胞,增加有收缩功能的细胞数,改善心功能,被认为是一种治疗手段<sup>[3]</sup>。首例应用自体成肌细胞移植治疗心肌梗死的临床病例为肌源性细胞移植的临床应用开辟了新途径<sup>[4]</sup>。临床应用到目前为止经历了23年,成肌细胞作为一个可能治疗心脏疾病的再生来源仍然是实验和临床应用的研究重点<sup>[5]</sup>。但进一步研究显示,自体成肌细胞移植有导致心律失常的潜在风险<sup>[6-7]</sup>。2004年开始的自体成肌细胞移植治疗心衰的Ⅱ期临床应用,为防止移植后心律失常,在移植前对患者植入除颤器和用胺碘酮进行放电处理,术后长期随访证明了成肌细胞的安全性和有效性<sup>[8]</sup>。因此,有效减少自体成肌细胞移植后心律失常发生是临床应用亟待解决的问题之一。

诱发心律失常的因素很多,且相互之间关系复杂,由于1-磷酸鞘氨醇(sphingosine 1-phosphate, S1P)可降低心肌缺血和缺血再灌注大鼠心律失常的发生率<sup>[9-10]</sup>,所以探讨其对自体成肌细胞移植后心律失常发生的作用是值得回答的问题之一。S1P是一种有生物活性的脂质代谢产物,在体内主要由血细胞(血小板)分泌,具有调节细胞增殖、再生、迁移,以及细胞内 $\text{Ca}^{2+}$ 移动等生物功效。

细胞移植后心肌电不均一性可能是导致心律失常发生的原因之一,因此,探讨连接蛋白43(Connexin43, Cx43)与心肌电不均一性的关系是一个恰当的选择<sup>[11]</sup>。在哺乳动物, Cx43是心肌缝隙连接的标志性蛋白,负责心肌细胞间的电偶联,允许正常的电传导,在心脏收缩功能中起重要作用。缝隙连接蛋白对于移植的成肌细胞与周围宿主心肌细胞形成功能合胞体,并实现同步收缩是非常

必要的<sup>[12]</sup>。成肌细胞本身表达Cx43,成肌细胞与心肌细胞体外共培养的实验结果显示,成肌细胞Cx43表达升高,在两种细胞相接处的细胞膜上,有缝隙连接形成,高表达的Cx43能促进缝隙连接的形成,但进一步研究发现,成肌细胞移植后,细胞间少有缝隙连接蛋白Cx43的表达,细胞间缺乏功能性的电偶联<sup>[13]</sup>。心律失常与Cx43存在关联,因此心律失常与 $\text{Ca}^{2+}$ 的关系值得关注。在细胞内 $\text{Ca}^{2+}$ 浓度增加的同时,会出现钙振荡现象,而钙振荡又与心律失常的发生密切相关<sup>[14]</sup>。本实验复制在体心肌梗死动物模型,明确S1P对成肌细胞移植治疗大鼠心肌梗死后心律失常的影响,初步探讨S1P减少细胞移植后心律失常的作用机制。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

健康SD大鼠80只,雌雄不分,体重( $250 \pm 50$ )g,购自苏州工业园区爱尔麦特科技有限公司。实验动物生产许可证号:SCXK(苏)2019-0007。实验动物使用许可号:SYXK(赣)2017-0001。主要试剂:S1P(美国Sigma公司, Cat.H1803),磷脂酰胆碱(美国Sigma公司, P3556),抗连接蛋白Cx43/GJA1抗体(英国Abcam公司, ab79010),小鼠抗 $\beta$ -actin抗体(英国Abcam公司, ab8226),山羊抗小鼠HRP(英国Abcam公司, ab6789),大鼠 $\text{Ca}^{2+}$ -ATP酶ELISA试剂盒(上海轩泽康生物有限公司, XZK-5424)。DMEM培养基、胎牛血清、TRIzol试剂盒、RIPA蛋白裂解液、BCA蛋白定量试剂盒、ECL超敏发光液均购自深圳子科生物科技有限公司。

### 1.2 仪器与设备

电恒温干燥箱(DHG-9203A,上海恒科技有限公司),自动高压消毒锅(HVE-50,日本平山制造公司),二氧化碳 $\text{CO}_2$ 恒温细胞培养盒(BB150-2TCS,美国赛默飞世尔科技有限公司),倒置显微镜(IV73,日本奥林巴斯),台式高速离心机(TGL-16G,联合仪器,常州金坛精达仪器制造有限公司),小动物呼吸机(HX-100E,成都技术标记有限

公司),生理记录仪(BL-420S,成都技术标记有限公司)。

### 1.3 实验方法

**1.3.1 实验分组** 大鼠随机分为4组。对照组(将细胞培养液注入梗死区)、成肌细胞移植组、S1P脂质体和成肌细胞移植组、脂质体移植组,每组10只。

**1.3.2 心肌梗死大鼠模型的复制** 大鼠称重后用1%戊巴比妥钠腹腔注射麻醉(5 mL/kg),仰卧位固定于小动物实验台上,将1个电极插入四肢皮下组织,并记录其心电图。采用灌胃针、气管插管和小动物呼吸机辅助大鼠呼吸(呼气/吸气=1:2,呼吸频率70次/min,潮气量15 mL)。左胸皮肤用聚维酮碘消毒,在胸骨左缘(3~4肋间)做1个水平皮肤切口,钝性分离肌层,从3~4肋间隙进入胸部,打开心包,充分暴露心脏,结扎冠状动脉和肺动脉锥之间的冠状动脉前降支。心电图显示S-T段抬高,提示模型复制成功。

**1.3.3 骨骼肌细胞的分离与培养** 从大鼠大腿肌肉中取出骨骼肌样本,切成1~2 mm片段,与酶解液(2.4 u/mL分散酶、1%胶原酶II、2.5 mmol CaCl<sub>2</sub>)混合,37℃孵育45 min。生长培养基(Dulbecco's改良细胞培养基、50%汉姆氏F-10培养基、20%胎牛血清、2.5 ng/mL碱性成纤维细胞生长因子、20 mmol左旋谷酰胺、1%青霉素和链霉素)。细胞以5×10<sup>5</sup>个/mL的浓度接种于涂有poly L-lysine的培养皿中,在37℃、5% CO<sub>2</sub>培养箱中培养。采用有限稀释法和免疫细胞化学法扩增染色阳性和单细胞克隆并培养。

**1.3.4 心肌细胞的分离与培养** 参照文献<sup>[15]</sup>方法。取1~3 d乳鼠20只浸泡在75%乙醇中1~2 min,用眼科剪在平乳鼠前肢处剪开组织,另一只手顶乳鼠脊柱使心脏暴露,用弯头镊子取出心脏放入载有PBS的培养皿中洗涤,再移至另一培养皿中洗涤,用眼科剪去掉心房和大血管后,又移至另一培养皿洗涤,用吸管将心脏移至青霉素安瓿瓶中,用眼科剪在瓶中将心脏剪成1 mm×1 mm×1 mm大小的组织块,加入0.125%胰酶4 mL消化8 min,吸弃上清液,再加0.125%胰酶4 mL吹打消化10 min,提取上清液,经滤膜过滤至装有含4%胎牛血清培养液(4 mL)的离心管中终止消化,将离心管中液体以1 000 r/min离心10 min,弃上清液,将细

胞沉淀后移至装有含20%胎牛血清培养液的烧杯中,轻轻吹打使沉淀散开,最后种植于培养板中。

**1.3.5 制备离体的骨骼肌成肌细胞与心肌细胞体外共培养缺氧/复氧损伤模型** 将大鼠心肌细胞与成肌细胞以4:1制成混悬液后,置于含20%胎牛血清的DMEM液中培养。缺氧/复氧时间为2和4 h。模型制备方法:将细胞培养板放入缺氧/复氧模型盒中,盒盖上有2小孔,一孔接通缺氧气体(95% CO<sub>2</sub>及5%氧气O<sub>2</sub>)或复氧气体(5% CO<sub>2</sub>及95% O<sub>2</sub>),另一孔与空气接通,使缺氧或复氧气体充满模型盒并排出空气,排清空气后密闭2孔;将模型盒置入37℃、5% CO<sub>2</sub>培养箱中培养2和4 h行缺氧和复氧。缺氧溶液(磷酸二氢钠 NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.9 mmol/L、NaHCO<sub>3</sub> 6.0 mmol/L、氯化钙 CaCl<sub>2</sub> 1.8 mmol/L、硫酸镁 MgSO<sub>4</sub> 1.2 mmol/L、4-羟乙基哌嗪乙磺酸 C<sub>8</sub>H<sub>18</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>S (HEPES) 20.0 mmol/L、氯化钠 NaCl 98.5 mmol/L、氯化钾 KCl 10.0 mmol/L、pH = 6.8, 37℃),复氧溶液(NaCl 129.5 mmol/L、KCl 5.0 mmol/L、NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.9 mmol/L、NaHCO<sub>3</sub> 20.0 mmol/L、CaCl<sub>2</sub> 1.8 mmol/L、MgSO<sub>4</sub> 1.2 mmol/L、葡萄糖 55.0 mmol/L、HEPES 20.0 mmol/L, pH = 7.4, 37℃)。

**1.3.6 S1P脂质体的构建** 将73 mL 1 mmol S1P溶解在140 mmol KCl中,pH 6.9,制备S1P溶液。将50 mg磷脂酰胆碱溶解于2.5 mL乙醚溶液中。混合S1P/KCl溶液与磷脂酰胆碱/乙醚溶液,涡旋5 min后将该乳液置于20℃旋转蒸发器中,去除有机溶剂。将得到的溶液用林格溶液(110 mmol NaCl、2.5 mmol KCl、1.8 mmol CaCl<sub>2</sub>、2 mmol Tris-HCl, pH = 7.2, 5.6 mmol C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>O<sub>6</sub>)透析,以去除未结合的S1P。不含S1P的对照脂质体的制备方法与S1P脂质体的制备方法相同。利用茚三酮偶联反应的薄层色谱板测定S1P脂质体中S1P的浓度。

**1.3.7 移植方法** 大鼠缺血30 min后去除结扎,充分暴露心脏,将预先准备好的转入S1P的成肌细胞悬液(60 μL PBS,含5×10<sup>5</sup>个细胞)分2个点用微量注射器注射到左室游离壁靠近心尖部,注射后局部压迫30 s,确定无活动性出血后,迅速将心脏复位、排气,逐层缝合切口关闭胸腔。待大鼠清醒后拔管撤机。每只大鼠常规注射10万单位青霉素。

**1.3.8 程序刺激诱发心律失常** 移植4周后,采

用10%水合氯醛腹腔麻醉固定后气管插管,潮气量为3 mL/100 g,呼吸频率为80次/min。随后,打开胸腔,暴露心脏,以双极针形电极刺入左室心尖部位进行程序电刺激诱发室性心律失常,并同步记录心电图(采用BL-420S生物信号采集与处理系统记录电生理参数)。程序刺激S1、S2的周期间隔为100 ms,S1强度为5 V,脉冲数8个;S2强度为5 V,脉冲数1个。S1、S2的间期以每2 ms间隔逐次缩短进行期前刺激,直至S2后不再出现不应期或诱发出室性心律失常。此处室性心律失常特指连续出现 $\geq 6$ 个宽QRS波的室性心动过速或者心室颤动。采用5 V的Burst电刺激(50 Hz,100个脉冲,持续2 s)刺激大鼠心脏,每次进行20次重复Burst刺激,诱发室性心律失常。计算心律失常诱发率(心律失常诱发率=室性心律失常次数/心律失常总次数)。

**1.3.9 Western blotting和免疫标记检测离体成肌细胞和心肌细胞共培养缺氧/复氧损伤模型Cx43蛋白的表达** Western blotting:离体成肌细胞和心肌细胞共培养缺氧/复氧损伤模型于缺氧2 h结束时开始加入0.0、0.5、1.0和10.0  $\mu\text{mol/L}$  S1P处理24 h,在冰上用RIPA缓冲液[50 mmol/L Tris、1% Triton X-100、150 mmol/L 氯化钠、0.1% 十二烷基硫酸钠(sodium dodecyl sulfate, SDS)、1% 脱氧胆酸钠、正钒酸钠、氟化钠、乙二胺四乙酸、白素]裂解细胞。蛋白煮沸5 min,然后用SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳分离,将其转移到聚偏二氟乙烯(PVDF)膜上。5%脱脂牛奶封闭2 h,洗膜3次,然后用一抗进行检测。抗连接蛋白Cx43/GJA1抗体(1:1 000),小鼠抗 $\beta$ -actin抗体(1:2 000),山羊抗小鼠HRP(1:5 000)。免疫细胞化学染色:离体成肌细胞和心肌细胞共培养缺氧/复氧损伤模型模型,于复氧期开始加入0.0、0.5、1.0和10.0  $\mu\text{mol/L}$  S1P处理24 h,4%多聚甲醛(10 min)固

定细胞,0.1% PBS-Tween 渗透20 min。然后将细胞置于1倍PBS/10%正常山羊血清/0.3 mol/L甘氨酸中孵育,以阻断非特异性蛋白-蛋白相互作用,然后将抗体(ab79010,1  $\mu\text{g}/1 \times 10^6$ 个细胞)在22  $^{\circ}\text{C}$ 下孵育30 min。使用的二抗为DyLight<sup>®</sup>488山羊抗小鼠IgG(H+L)(ab96879),稀释500倍,22  $^{\circ}\text{C}$ 、30 min。用ab79010稀释500倍进行免疫组织化学染色观察。

## 1.4 统计学方法

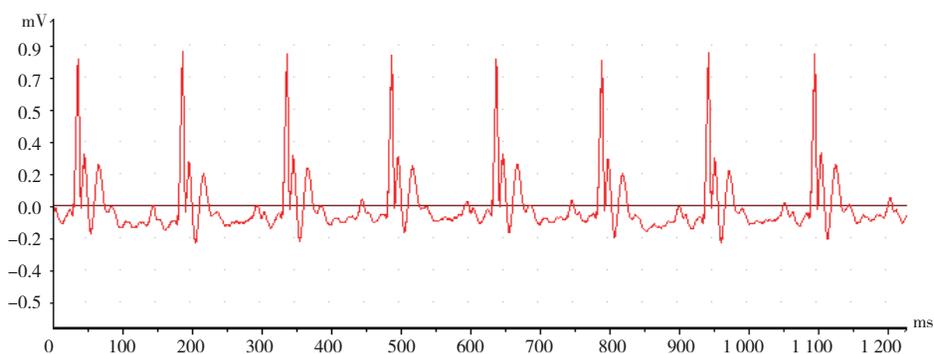
数据分析采用SPSS 16.0统计软件。计量资料以均数 $\pm$ 标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,比较用方差分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

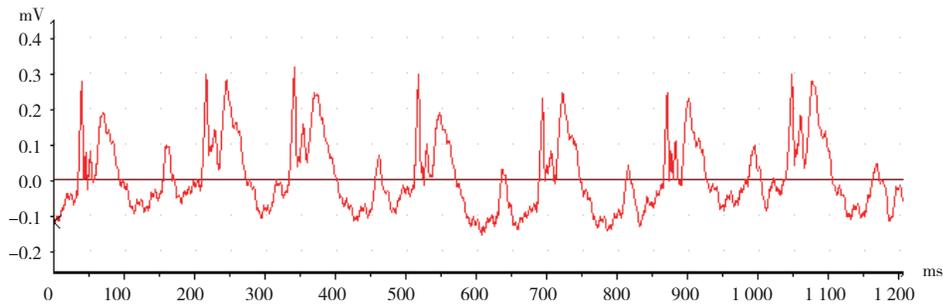
### 2.1 各组大鼠移植4周后室性心律失常比较

连接BL-420S生物信号采集与处理系统,心电图II导联,正常心电图见图1A。结扎左冠状动脉前降支,S-T段明显抬高,说明心肌缺血,心肌缺血心电图见图1B。细胞移植后4周,麻醉固定后气管插管,潮气量3 mL/100 g,呼吸频率80次/min。随后,打开胸腔,暴露心脏,以双极针形电极刺入左室心尖部位进行程序电刺激诱发室性心律失常,室性心律失常心电图见图1C。

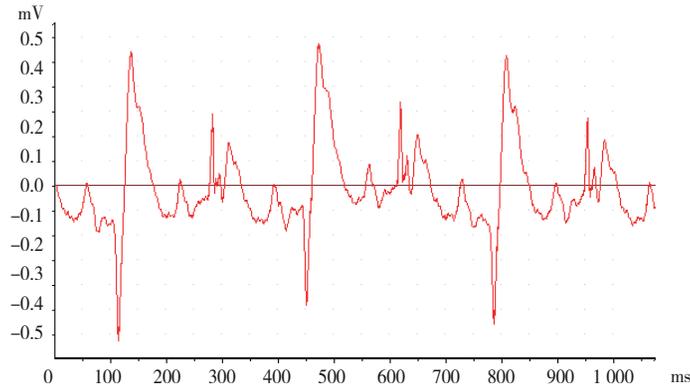
各组心律失常诱发率、首次出现心律失常时间、首次心律失常持续时间比较,经方差分析,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。成肌细胞移植组的心律失常诱发率最高,首次出现心律失常时间最早且持续时间最长;而S1P脂质体和成肌细胞移植组的诱发率最低,首次出现心律失常时间最晚且持续时间最短。对照组与脂质体组在心律失常诱发率、首次出现心律失常时间及首次心律失常持续时间比



A: 正常心电图



B: 心肌缺血心电图



C: 室性心律失常心电图

图 1 大鼠心电图

较, 经  $t$  检验, 差异均无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。见表 1。

表 1 各组心律失常诱发率、首次出现心律失常时间、首次心律失常持续时间比较 ( $n=10, \bar{x} \pm s$ )

组别	心律失常诱发率/%	首次出现心律失常时间/s	首次心律失常持续时间/min
对照组	62.0 ± 6.2	48.4 ± 2.3	10.0 ± 2.35
成肌细胞移植组	91.0 ± 8.9 <sup>①</sup>	24.1 ± 5.8 <sup>①</sup>	14.01 ± 1.56 <sup>①</sup>
S1P 脂质体和成肌细胞移植组	45.0 ± 6.2 <sup>①②</sup>	60.6 ± 6.8 <sup>①②</sup>	3.69 ± 1.5 <sup>①②</sup>
脂质体组	60.0 ± 3.8 <sup>②③</sup>	46.8 ± 3.4 <sup>②③</sup>	9.81 ± 1.58 <sup>②③</sup>
$F$ 值	86.820	95.060	59.900
$P$ 值	0.000	0.000	0.000

注: ①与对照组比较,  $P < 0.05$ ; ②与成肌细胞移植组比较,  $P < 0.05$ ; ③与 S1P 脂质体和成肌细胞移植组比较,  $P < 0.05$ 。

## 2.2 各组大鼠心肌组织 $Ca^{2+}$ -ATPase 水平比较

各组心肌组织  $Ca^{2+}$ -ATPase 水平比较, 经方差分析, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。成肌细胞移植组、S1P 脂质体和成肌细胞移植组、脂质体组的心肌组织  $Ca^{2+}$ -ATPase 水平均高于对照组, 其中 S1P 脂质体和成肌细胞移植组高出水平更明显 ( $P < 0.05$ ) (见表 2)。说明 S1P 提升心肌缺血再灌注大鼠心肌组织  $Ca^{2+}$ -ATPase 活性, 心功能指标明显改善, 减少细胞移植后室性心律失常的发生。

表 2 各组心肌组织  $Ca^{2+}$ -ATPase 水平比较

( $n=10, u/\text{mg}, \bar{x} \pm s$ )

组别	$Ca^{2+}$ -ATPase
对照组	0.350 ± 0.012
成肌细胞移植组	0.367 ± 0.018 <sup>①</sup>
S1P 脂质体和成肌细胞移植组	0.572 ± 0.013 <sup>①②</sup>
脂质体组	0.367 ± 0.018 <sup>①③</sup>
$F$ 值	447.367
$P$ 值	0.000

注: ①与对照组比较,  $P < 0.05$ ; ②与成肌细胞移植组比较,  $P < 0.05$ ; ③与 S1P 脂质体和成肌细胞移植组比较,  $P < 0.05$ 。

### 2.3 Western blotting 和免疫组织化学染色检测共同培养模型 Cx43 表达

S1P 不同浓度组 Cx43 蛋白相对表达量比较,经方差分析,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ ); Cx43 蛋白相对表达量随 S1P 浓度增加而上升( $P < 0.05$ )。见表 3 和图 2、3。

表 3 S1P 不同浓度组 Cx43 蛋白相对表达量的比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	Cx43 蛋白
0.0 $\mu\text{mol/L}$ S1P	1.008 $\pm$ 0.033
0.5 $\mu\text{mol/L}$ S1P	2.218 $\pm$ 0.055 <sup>①</sup>
1.0 $\mu\text{mol/L}$ S1P	3.304 $\pm$ 0.053 <sup>①②</sup>
10.0 $\mu\text{mol/L}$ S1P	3.854 $\pm$ 0.117 <sup>①③</sup>
F 值	1 736.717
P 值	0.001

注: ①与 0.0  $\mu\text{mol/L}$  S1P 比较,  $P < 0.05$ ; ②与 0.5  $\mu\text{mol/L}$  S1P 比较,  $P < 0.05$ ; ③与 1.0  $\mu\text{mol/L}$  S1P 比较,  $P < 0.05$ 。

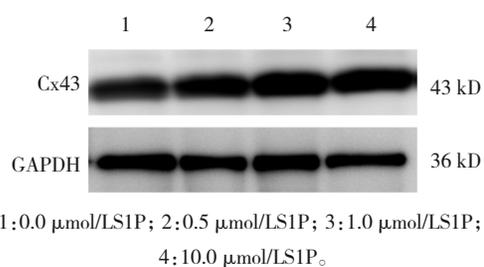


图 2 Cx43 蛋白表达

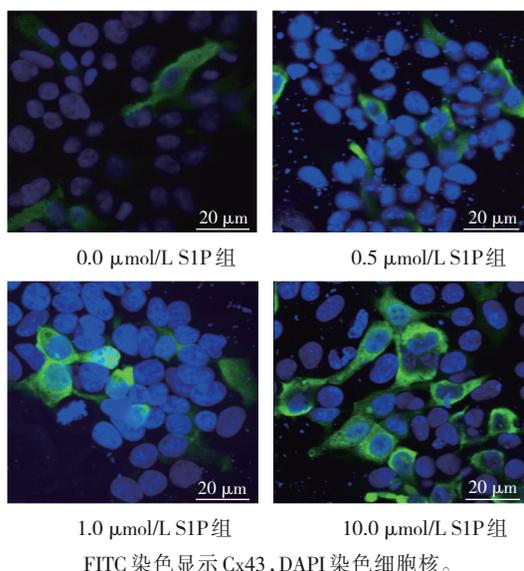


图 3 不同浓度 S1P 对缺氧/复氧共培养细胞 Cx43 表达的影响 (免疫组织化学染色)

## 3 讨论

心肌梗死是一种非常普遍的心脏急症,心肌细胞移植在心肌梗死后心肌修复中效果显著,能有效改善心脏功能,移植并发症尚未完全阐明,但细胞移植后出现了室性心律失常的安全问题<sup>[6-8, 16-17]</sup>。

S1P 可降低心肌缺血和缺血再灌注大鼠的心律失常发生率<sup>[9-10]</sup>,有报道称,S1P 通过受体抑制肾素释放减少梗死面积,缓解心律失常<sup>[16]</sup>。本实验通过程序性刺激的方法诱发心律失常,结果发现,导入 S1P 脂质体和成肌细胞移植组首次发生心律失常的时间不但延后,而且诱发率降低,持续时间缩短。

心律失常与  $\text{Ca}^{2+}$  关系密切。研究发现,外源性 S1P 的作用可以通过 Gi 蛋白减少 L 型  $\text{Ca}^{2+}$  电流,削弱钙诱导的钙释放<sup>[18-19]</sup>。结果 S1P 转入的细胞移植组  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase 活性高于单纯细胞移植,且高于脂质体组和对照组,说明 S1P 提高心肌缺血再灌注大鼠心肌组织  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase 活性,明显改善心功能指标,减少细胞移植后室性心律失常的发生。 $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase 活性下降导致钙超载, Cx43 是一个钙相关的功能蛋白,研究表明,心肌缺血时细胞内发生的钙超载可导致 Cx43 的结构和功能发生改变,而 Cx43 的异常变化又可直接引起心肌组织的阻抗增加、电导性下降,出现细胞间的电脱耦联现象,导致折返性电活动的发生,最终引起严重的心律失常<sup>[20]</sup>。

越来越多的研究试图调节缝隙连接改善心肌梗死诱导的心律失常。在体研究显示,成肌细胞中导入 Cx43 基因可以增强成肌细胞与心肌细胞间的电传导,增加 2 种细胞间传导稳定性,从而减少心律失常的发生;利用 Cx43 基因修饰成肌细胞,发现细胞能够高表达 Cx43 蛋白,同时还发现 Cx43 基因表达能够促进成肌细胞的分化,并有利于成肌细胞心肌内移植后的驻留和存活<sup>[21-25]</sup>。以上研究结果表明,成肌细胞移植后心律失常的发生与 Cx43 存在关联。本研究采用 Western blotting 和免疫组织化学染色检测 Cx43 蛋白,结果发现 Cx43 蛋白相对表达量随 S1P 浓度增加而上升。S1P 通过 P38MAPK 提高骨骼肌成肌细胞缝隙连接蛋白 Cx43 表达<sup>[26]</sup>。综上所述,S1P 不仅可以调节细胞内  $\text{Ca}^{2+}$ ,

而且可以调控 Cx43 蛋白表达水平,从而减少成肌细胞移植治疗大鼠心肌梗死后的心律失常。

以心肌电均一性为视角,沿着 S1P 借助  $\text{Ca}^{2+}$  调控 Cx43 作用于移植区细胞,从而减少成肌移植治疗心肌梗死后心律失常发生的思路,通过 S1P 增加移植细胞与宿主心肌细胞之间的功能耦合从而减少移植后的心律失常。如果本实验成功解决成肌细胞移植治疗中存在的心律失常问题,将为成肌细胞加入外源性 S1P 共同移植治疗缺血性疾病提供理论和实验基础。而且将进一步拓宽成肌细胞在细胞移植治疗缺血性疾病中的前景,充分发挥成肌细胞移植治疗取材方便、创伤小、费用低等一系列优点。随着分子医学的发展,细胞移植将会发展成为一种治疗工具来修复受损的心脏,为广大心肌梗死及心力衰竭患者的治疗带来新的希望。

#### 参 考 文 献 :

- [1] 刘明波,何新叶,杨晓红,等.《中国心血管健康与疾病报告 2023》要点解读[J].中国心血管杂志,2024,29(4):305-324.
- [2] MENDOZA A, PATEL P, ROBICHAUX D, et al. Inhibition of the mPTP and lipid peroxidation is additively protective against I/R injury[J]. Circ Res, 2024, 134(10): 1292-1305.
- [3] SUGIURA T, SHAHANNAZ D C, FERRELL B E. Current status of cardiac regenerative therapy using induced pluripotent stem cells[J]. Int J Mol Sci, 2024, 25(11): 5772.
- [4] MENASCHÉ P, HAGÈGE A A, SCORSIN M, et al. Myoblast transplantation for heart failure[J]. Lancet, 2001, 357(9252): 279-280.
- [5] POVSIC T J, O'CONNOR C M, HENRY T, et al. A double-blind, randomized, controlled, multicenter study to assess the safety and cardiovascular effects of skeletal myoblast implantation by catheter delivery in patients with chronic heart failure after myocardial infarction[J]. Am Heart J, 2011, 162(4): 654-662.e1.
- [6] LIU Y, TSE H F. The proarrhythmic risk of cell therapy for cardiovascular diseases[J]. Expert Rev Cardiovasc Ther, 2011, 9(12): 1593-1601.
- [7] FERNANDES S, AMIRAULT J C, LANDE G, et al. Autologous myoblast transplantation after myocardial infarction increases the inducibility of ventricular arrhythmias[J]. Cardiovasc Res, 2006, 69(2): 348-358.
- [8] BRICKWEDEL J, GULBINS H, REICHENSPURNER H. Long-term follow-up after autologous skeletal myoblast transplantation in ischaemic heart disease[J]. Interact Cardiovasc Thorac Surg, 2014, 18(1): 61-66.
- [9] EGOM E E, MAMAS M A, CHACKO S, et al. Serum sphingolipids level as a novel potential marker for early detection of human myocardial ischaemic injury[J]. Front Physiol, 2013, 4: 130.
- [10] EGOM E E A, KE Y B, MUSA H, et al. FTY720 prevents ischemia/reperfusion injury-associated arrhythmias in an *ex vivo* rat heart model via activation of Pak1/Akt signaling[J]. J Mol Cell Cardiol, 2010, 48(2): 406-414.
- [11] TIKHOMIROV R, OAKLEY R H, ANDERSON C, et al. Cardiac GR mediates the diurnal rhythm in ventricular arrhythmia susceptibility[J]. Circ Res, 2024, 134(10): 1306-1326.
- [12] MARTINS-MARQUES T, COSTA M C, CATARINO S, et al. Cx43-mediated sorting of miRNAs into extracellular vesicles[J]. EMBO Rep, 2022, 23(7): e54312.
- [13] DIB N, DINSMORE J, LABABIDI Z, et al. One-year follow-up of feasibility and safety of the first U.S., randomized, controlled study using 3-dimensional guided catheter-based delivery of autologous skeletal myoblasts for ischemic cardiomyopathy (CAuSMIC study)[J]. JACC Cardiovasc Interv, 2009, 2(1): 9-16.
- [14] FUJIWARA K, TANAKA H, MANI H, et al. Burst emergence of intracellular  $\text{Ca}^{2+}$  waves evokes arrhythmogenic oscillatory depolarization via the  $\text{Na}^{+}$ - $\text{Ca}^{2+}$  exchanger: simultaneous confocal recording of membrane potential and intracellular  $\text{Ca}^{2+}$  in the heart[J]. Circ Res, 2008, 103(5): 509-518.
- [15] RAKHIT R D, MOJET M H, MARBER M S, et al. Mitochondria as targets for nitric oxide-induced protection during simulated ischemia and reoxygenation in isolated neonatal cardiomyocytes[J]. Circulation, 2001, 103(21): 2617-2623.
- [16] TERAJIMA Y, SHIMIZU T, TSURUYAMA S, et al. Autologous skeletal myoblast sheet therapy for porcine myocardial infarction without increasing risk of arrhythmia[J]. Cell Med, 2014, 6(3): 99-109.
- [17] LU Z B, ABE J I, TAUNTON J, et al. Reactive oxygen species-induced activation of p90 ribosomal S6 kinase prolongs cardiac repolarization through inhibiting outward  $\text{K}^{+}$  channel activity[J]. Circ Res, 2008, 103(3): 269-278.
- [18] IHLEFELD K, CLAAS R F, KOCH A, et al. Evidence for a link between histone deacetylation and  $\text{Ca}^{2+}$  homeostasis in sphingosine-1-phosphate lyase-deficient fibroblasts[J]. Biochem J, 2012, 447(3): 457-464.
- [19] JARMAN K E, MORETTI P A B, ZEBOL J R, et al. Translocation of sphingosine kinase 1 to the plasma membrane is mediated by calcium- and integrin-binding protein 1[J]. J Biol Chem, 2010, 285(1): 483-492.
- [20] KUMARSWAMY R, LYON A R, VOLKMANN I, et al. SERCA2a gene therapy restores microRNA-1 expression in heart failure via an Akt/FoxO3A-dependent pathway[J]. Eur Heart J, 2012, 33(9): 1067-1075.
- [21] GWIZDALA A, ROZWADOWSKA N, KOLANOWSKI T J, et al. Safety, feasibility and effectiveness of first in-human administration of muscle-derived stem/progenitor cells modified with connexin-43 gene for treatment of advanced chronic heart

- failure[J]. *Eur J Heart Fail*, 2017, 19(1): 148-157.
- [22] MITRA S S, XU J, NICHOLSON B J. Coregulation of multiple signaling mechanisms in pp60v-Src-Induced closure of Cx43 gap junction channels[J]. *J Membr Biol*, 2012, 245(8): 495-506.
- [23] GREENER I D, SASANO T, WAN X P, et al. Connexin43 gene transfer reduces ventricular tachycardia susceptibility after myocardial infarction[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2012, 60(12): 1103-1110.
- [24] ABRAHAM M R, HENRIKSON C A, TUNG L, et al. Antiarrhythmic engineering of skeletal myoblasts for cardiac transplantation[J]. *Circ Res*, 2005, 97(2): 159-167.
- [25] SUZUKI K, BRAND N J, ALLEN S, et al. Overexpression of connexin 43 in skeletal myoblasts: relevance to cell transplantation to the heart[J]. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 2001, 122(4): 759-766.
- [26] MEACCI E, BINI F, SASSOLI C, et al. Functional interaction between TRPC1 channel and connexin-43 protein: a novel pathway underlying S1P action on skeletal myogenesis[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2010, 67(24): 4269-4285.

(张西倩 编辑)

**本文引用格式:** 于欢,许晓欣,张伊. S1P对成肌细胞移植治疗心肌梗死后心律失常的影响及其机制探讨[J]. *中国现代医学杂志*, 2025, 35(9): 46-53.

**Cite this article as:** YU H, XU X X, ZHANG Y. The effect and mechanism of S1P reduces arrhythmia after myoblast transplantation for myocardial infarction[J]. *China Journal of Modern Medicine*, 35(9): 46-53.