



用于药物评价的体外心脏组织模型研究进展*

苗小敏¹⁾ 王雅琦¹⁾ 陈家盈¹⁾ 蓝兴梓¹⁾ 曾晓涵¹⁾ 汤亚东^{1)**} 张 焜^{1,2)**}⁽¹⁾ 广东工业大学生物医药学院, 广州 510006; ⁽²⁾ 五邑大学生物科技与大健康学院, 江门 529020

摘要 候选药物对心脏的毒副作用是其在开发过程中被淘汰的重要原因之一。传统药物评价所采用的动物模型存在种属差异、成本高、效率低等缺陷。因此, 近年来随着干细胞和生物打印等技术的快速发展, 体外心脏组织模型的构建受到了越来越多地关注。本文追踪体外心脏模型构建的起源与发展, 综述模型所利用的心肌细胞来源以及二维、三维模型构建的相关技术与方法, 着重阐述心肌组织模型血管化的重要性及研究进展, 并对该领域未来的发展方向进行展望, 以期为体外心肌组织模型在药物评价方面的研究和应用提供新思路。

关键词 体外模型, 心脏组织, 药物评价, 心脏毒性, 生物打印, 微流控

中图分类号 R331, Q31

DOI: 10.16476/j.pibb.2020.0228

新药开发是一个周期漫长、成本高昂且失败率极高的过程, 其中候选药物对心脏的毒副作用是药物在开发过程中被淘汰的重要原因之一^[1]。出于安全性考虑, 每年约有30%的候选药物会在临床研究阶段被撤销, 这其中大部分是由于对心脏产生的不良反应^[2]。根据全球安全药理学会针对体外心律失常评估 (comprehensive *in vitro* proarrhythmia assay, CiPA) 的调查报告^[3], 在临床研究阶段药物所引起的常见心血管毒性主要有心率变化、QTc间期延长和血压改变等。

药物安全评价的不准确性^[4]主要与目前常规所采用的动物模型有关。动物模型不仅成本高、周期长、效率低, 还与人体存在固有的基因和生理等方面的种属差异。例如, 正常人体心脏搏动频率为60~100次/min, 而小鼠的静息心率是人类的10倍, 因此其在预测和评价药物的心脏毒性反应方面必然与人体存在较大偏差^[5]。进行药物评价最为准确的方法无疑是采用人体心脏作为实验对象, 其可以最真实地反映心脏对于候选药物的响应情况, 然而这在药物临床前研究阶段是不现实也是有违伦理道德的。

为克服以上方式的缺陷, 近年来越来越多的科学家开始将目光转向构建更为经济高效的体外心脏组织模型, 以替代动物试验模型, 提高药物安全性

评价的效率和准确性。目前, 研究人员已获得基于人源干细胞衍生的心肌细胞^[6]作为体外心肌模型理想的细胞来源, 采用各类组织工程支架^[7]为心肌模型提供高度可控的微环境, 实现对细胞、组织形貌及功能的精准调控。此外, 体内心脏微环境的正常运行, 需要借助于血管网络以维持细胞正常的物质交换或信息传递, 因此血管在体外心肌组织模型构建中具有重要意义。通过生物打印技术^[8]能够实现各类血管模型的构建, 以模仿人体血管系统的结构和功能性。另一方面, 血液流动和剪切应力在心脏组织微环境中也起着重要作用。新兴的微流控技术具有集成小型化与自动化、高通量分析、样本量需求少、检测试剂消耗少等优势。基于微流控技术的“心脏-血管芯片”^[9]在体外心脏模型的构建以及对相应药物心脏毒性的评价研究中也展现出良好的应用前景。本文将从模型构建所需的心肌细胞来源、二维和三维心肌组织构建技术、血管在心肌组织模型中的重要性及其构建方法等方面系统地介

* 国家自然科学基金(81801830), 广东省基础与应用基础研究基金(2019A1515011363)和江门市创新团队项目(2017TD02)资助。

** 通讯联系人。

汤亚东. Tel: 020-85827854, E-mail: tangyadong@gdut.edu.cn

张焜. Tel: 0750-3296601, E-mail: kzhang@gdut.edu.cn

收稿日期: 2020-07-08, 接受日期: 2020-08-26

绍和评价不同技术在体外心脏组织模型构建中的应用与研究进展.

1 体外心肌组织模型

心脏作为人体生理系统中至关重要的器官之一,主要是由心肌细胞(cardiomyocytes, CMs)、内皮细胞及周细胞等组成,并具有复杂的三维组织结构(图1).因此,要在体外构建心脏组织模型需要解决两大问题,一是细胞来源问题,二是组织结构仿生问题.

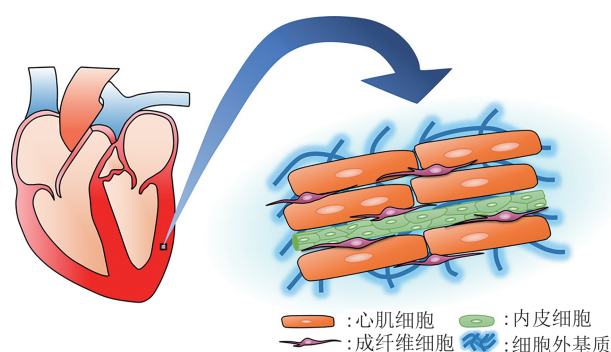


Fig. 1 The myocardial tissue structural unit^[10]

图1 心肌组织结构单元^[10]

1.1 心肌细胞来源

构建体外心脏药物评价模型,最理想的无疑是采用人源心肌细胞.然而直接从病患体内提取心肌组织或细胞用于药物测试不具备可行性,且人体内的心肌细胞几乎没有再生增殖能力^[11].因此研究人员多采用动物原代心肌细胞或干细胞诱导分化的心肌细胞来构建体外心肌模型(表1),以进行诸如药物功效或安全性评价等研究.

最早的体外心脏模型多采用诸如胚胎鸡^[12]、新生大鼠^[13]等动物体内提取的心肌细胞或组织进行构建.然而研究证实,这些从动物体内分离的原代心肌细胞,虽与体内动物评价模型相似,但其与人体存在着固有的遗传和生理差异^[14].Yang等^[15]研究证明动物来源的心肌细胞在电生理实验中的表现与人体不同,并且其对于药物毒性测试的响应也与人体存在差异.

近年来快速发展的干细胞技术为新药研发及药物安全性研究带来了新的机遇.人类多能干细胞(human pluripotent stem cells, hPSCs)包括人胚胎干细胞(human embryonic stem cells, hESCs)和人诱导多能干细胞(human induced pluripotent

stem cells, hiPSCs).两者均可无限增殖且具有多分化潜能,能够在特定条件下分化为心肌细胞,对于心肌组织工程的研究具有重要意义^[16].Thomson等^[17]和Shamblott等^[18]最早分别从人的囊胚和原生胚层细胞团中分离出hESCs,并建立了在体外可稳定传代培养的细胞系.2010年,Zhou等^[19]通过将hESCs与小鼠内脏-内胚层样细胞(END-2)共培养以诱导分化hESCs为心肌细胞,但END-2细胞来源于鼠,这种方法也会导致异源性成分的引入.尽管hESCs具有心肌分化潜能,但目前其应用始终存在较大的伦理争议.2006年和2007年,有研究报道先后利用重编程技术将小鼠皮肤纤维母细胞和人皮肤细胞转变为与ESCs具有相似形态和多能性的iPSCs^[20-21].相较hESCs,hiPSCs不仅不存在伦理问题,而且基于hiPSCs的药物评价模型也将有望实现患者个性化和更有针对性的药物研发及药物治疗.目前采用hiPSCs诱导分化心肌细胞的技术已相对成熟,例如Lian等^[6]所提出的小分子CHIR99021和IWP2/4抑制GSK3和Wnt/ β -catenin信号通路法,通过该方法分化所获得的心肌细胞(hiPSC-CM)比例约为85%.hiPSC-CM也被证实具有与人体内心肌细胞基本相同的基因、蛋白质表达及电生理特性,对心脏活性药物的响应也与临床结果相当^[22].

此外,人间充质干细胞(human mesenchymal stem cells, hMSCs)也被证实具有分化为心肌细胞的潜能.2016年,Deng等^[23]采用视黄酸、5-aza和二甲基亚砜(DMSO)诱导MSCs分化为心肌细胞,但是随着诱导时间的延长,5-aza对细胞的遗传毒性逐渐增大,难以应用于临床研究.此外,Mohanty等^[24]采用单一因子TGF β 1诱导MSCs分化为心肌样细胞,但其分化为心肌细胞的比例依旧较低.2016年,Cao等^[25]首次通过小分子化合物直接将皮肤细胞诱导分化为心肌细胞,而无需经过

Table 1 Cardiomyocyte sources for *in vitro* cardiac modelling

表1 用于体外心脏组织构建的心肌细胞来源

来源	方法	文献来源
胚胎鸡	原代分离	[12]
新生大鼠	原代分离	[13]
hESCs	END-2共培养分化	[19, 26]
hiPSCs	小分子诱导分化	[6, 27-28]
hMSCs	DMSO诱导分化	[23]
皮肤细胞	诱导分化	[25]

iPSC 阶段, 这一发现也为体外心脏模型的细胞来源提供了新的解决方案。

1.2 二维心肌模型的构建

传统体外药物评价模型多为依赖培养皿、培养瓶或培养板等所构建的二维细胞模型。在体外心肌模型方面, 研究者们也多选用以上的平面二维培养模式构建二维心肌模型用于药物评价研究。然而采用传统二维培养方式的细胞在贴壁后是任意伸展生长的, 这与体内的心肌细胞生理结构特点不同^[29]。体内心肌细胞的形态结构与骨骼肌大致相似, 细胞彼此平行排列形成肌纤维, 这种有规则的细胞排列方式也直接决定了细胞间的信号传导。由于难以模拟心肌细胞在体内的生理结构特征, 这类传统二维模型在心肌功能性和药物响应等方面也被证实存在与体内的巨大差异^[30]。因此, 科学家开始尝试利用各种工程技术实现对心肌细胞排列和取向的控制。

1.2.1 微图案加工技术

新兴发展起来的微图案加工技术, 可以通过对基底表面形貌的精确控制, 从而实现对细胞排列方式和形态的调控, 因此也被称为细胞微图案化技术^[31]。细胞图案化大多是以表面自组装和软刻蚀技术为基础的微接触印刷、微流图案化和模板图案化等^[32]。聚二甲基硅氧烷 (PDMS) 作为一种弹性强、热稳定性高、毒性小和透光性好的高分子聚合物, 在该技术中被广泛应用^[33]。2017 年, Kim 等^[34]通过反向微接触印刷法, 将心肌细胞培养于间距为 20 μm 、宽度为 5 μm 、高度为 5 μm 的 PDMS 微沟槽基底表面上, 可使心肌细胞实现定向排列, 并形成伸长形态 (图 2a)。Fu 等^[35]采用微流图案化法, 使 PDMS 微通道内的心肌细胞沿图案方向定向生长, 多通道的引入也为高通量药物筛选平台的搭建提供了技术参考。Ma 等^[36]采用模板图案化, 将 hiPSCs 培养于 PDMS 透孔膜的孔洞内, 并对图案化的 hiPSCs 进行心肌分化, 并研究了不同几何图案和尺寸等对心肌分化和行为的影响。基于微图案加工的细胞图案化技术简单易行, 可以按照模型要求实现对细胞形态的调控, 因此在构建体外二维心肌模型方面展现出突出的优势^[37]。接下来, 如何进一步精确调控细胞的生长与迁移, 继而在三维尺度模拟心脏组织微环境, 正成为研究人员关注和突破的热点。

1.2.2 静电纺丝技术

静电纺丝技术是一种新兴的纳米纤维成型技

术^[38]。纺丝过程中聚合物溶液或熔体在强电场中静电雾化, 细流被喷射固化拉伸成纤维。收集得到的电纺丝, 直径从几十纳米到几微米不等, 具有与天然细胞外基质 (extracellular matrix, ECM) 相仿的结构, 因而在组织工程领域受到了广泛关注。纳米纤维材料不仅有利于实现细胞的附着, 还可以通过对纤维的形貌和结构的调控灵活地实现心肌组织的取向排列。此外, 纤维疏松多孔的结构, 也有利于细胞的渗透生长和营养物质以及代谢物的更替。

在心肌细胞培养和二维心肌模型构建方面, Kai 等^[39]通过静电纺丝技术制备了随机排列以及定向排列的两类纳米纤维。借助扫描电子显微镜 (SEM) 观察到心肌细胞在纤维的支撑下有力而均匀地跳动, 并发现相较于随机排列的纳米纤维, 各向异性的纤维更好地促进了细胞的附着和取向, 从而能够更好地模拟体内心肌组织结构。Badrossamay 等^[40]采用旋转喷射法制备了具有高韧度和定向排列特性的聚 ϵ -己内酯混合物 (RJS) 纳米纤维, 纤维直径、黏度以及蛋白质含量的增加, 均使得心肌组织表现出高度各向异性和自发跳动性, 与体内心肌组织各向异性结构相吻合 (图 2b)。2015 年, Khan 等^[41]将 hiPSC-CM 培养在定向排列的聚乳酸-羟基乙酸共聚物 (PLGA) 纳米纤维上, 发现与传统培养板相比, 在定向纳米纤维上培养的 hiPSC-CM 在心肌肌节形成、钙循环和电信号传导等方面都更接近体内心肌细胞。这说明, 由各向异性的纳米纤维所构建的心肌模型, 不仅能够实现对体内心肌组织结构的仿生, 同时也具有了更好的生理功能。此外, 基于电纺纤维的心脏“贴片”, 还可以用于受损心肌组织的修复和心肌再生等方面^[42]。

1.3 三维心肌组织模型的构建

研究表明, 细胞在三维环境中的形态、功能、基因表达等均与二维环境中存在显著差异^[43], 三维模型不仅能够更好地模拟细胞的体内微环境, 而且其细胞生物学特性相较二维模型也更接近于活体组织 (图 3)。近年来, 组织工程与再生医学的快速发展为体外心肌组织模型在三维层面的构建提供了新的思路和途径。借助组织工程支架材料 (诸如水凝胶、纳米纤维、3D 打印支架等) 重建一个功能和结构更加完备的工程化三维心脏模型用以评价药物的心脏毒性, 逐渐成为了体外药物心脏毒性评价领域的研究热点。

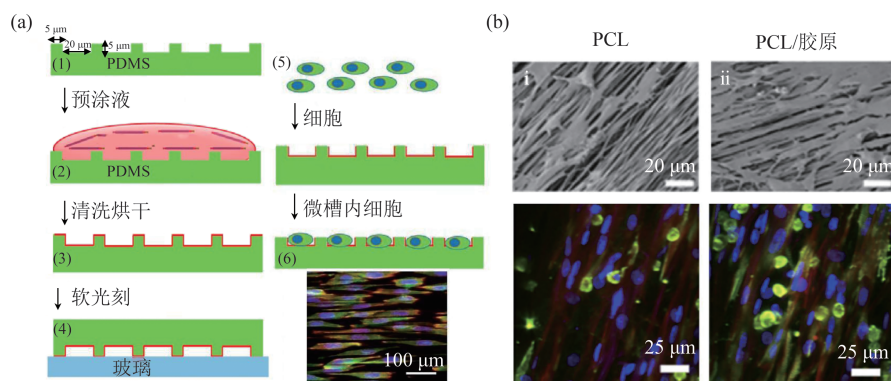
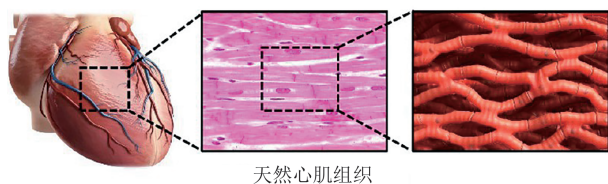


Fig. 2 2D myocardial tissue model construction

图2 二维心肌组织模型构建

(a) 微图案加工技术^[34]; (b) 静电纺丝技术^[40]. PCL: 聚己内酯.Fig. 3 Schematic diagram of natural myocardial tissue structure^[44]图3 天然心肌组织结构示意图^[44]

1.3.1 水凝胶

水凝胶 (hydrogels)^[45] 是一种以水为分散介质的聚合三维网络结构, 这种结构不仅有利于细胞的附着和增殖, 还可以为细胞的增殖分化等提供类似于ECM的三维生长环境和结构特性; 同时, 其本身具有一定的韧性, 能够对细胞或组织起到支撑作用, 在组织工程中发挥着重要作用. 在体外心肌模型应用中, Navaei等^[46] 制备了一种可注射性复合水凝胶, 用于心脏细胞递送和组织工程应用. 明胶和丙烯酰胺的加入提高了水凝胶的生物活性和水分含量, 包封于水凝胶体系的心肌细胞表现出较好的细胞存活率及收缩同步性. 2019年, Goldfracht等^[47] 利用壳聚糖水凝胶建立了一种ECM衍生的工程心脏组织 (ECM-EHTs) 模型 (图4a). 与二维培养的hiPSC-CM相比, ECM-EHTs模型呈现出心肌细胞各向异性的超微条纹肌节特征和更加成熟的功能性; 在检测由药物引起的心律失常及组织传导特性变化等方面, 也体现出该水凝胶三维心脏模型的特殊潜力.

随着生物材料的快速发展, 具有各种不同结构和功能的水凝胶也被陆续研发出来, 如: Roshanbinfar等^[48] 采用含有碳纳米管的导电生物水凝胶培养hiPSC-CM构建体外心脏组织, 相比于Matrigel培养的细胞, 导电水凝胶增强了hiPSC-CM相关特异性蛋白质的表达, 改善了心肌细胞肌节长度, 并对外部电刺激和药物测试有更为准确地响应. Peña等^[49] 将含有金纳米颗粒的功能性水凝胶用于心肌组织工程. 金纳米颗粒能够增强水凝胶的导电性, 相对于传统培养方式, 心肌特异性蛋白质的表达明显增加.

1.3.2 三维纳米纤维

与聚合物多孔基质相比, 纳米纤维的结构更接近于天然ECM. 通过对传统静电纺丝技术或电纺纳米纤维进行改良, 也可以实现三维纳米纤维材料的制备, 进而可以在三维方向上实现对细胞生长的调控. 2017年, 京都大学Li等^[50] 采用静电纺丝制备PLGA纳米纤维并接种hiPSC-CM, 之后将两层纳米纤维心肌贴片相互叠加融合, 多层心肌细胞沿着定向的纳米纤维形成高密度组织, 使得心肌相应标志物 (α -actinin、TnT2) 上调, 心肌搏动功能增强, 最终实现了厚度超过200 μm 的三维仿生心肌组织 (图4b).

2018年, Majidi等^[51] 通过一种湿法静电纺丝技术制备三维藻酸盐/明胶水凝胶纳米纤维, 并用于培养hiPSC-CM, 细胞在第6天开始可自发跳动. 相对于直接将细胞包裹于水凝胶中, 三维水凝胶纳米纤维支架更加有利于细胞的黏附与增殖, 同时也促进了iPSC-CM的成熟. Ghosh等^[52] 利用盐渍法

与高速旋转电纺法制备3D聚己内酯(PCL)纤维支架用于hMSC诱导分化.与2D PCL膜相比,3D PCL大孔支架能够更好地模拟体内心脏组织微环境并促进心肌分化,使得心肌标记物(Cx43、 β -MHC)表达明显提高,并且定向排列的3D纤维与随机排列的纤维相比,能够进一步增强心肌特异性蛋白质的表达.不论是通过将多层传统二维纳米纤维进行堆叠,还是通过改进传统静电纺丝技术,三维纳米纤维支架在心脏组织模型构建中均展现出优于传统二维电纺纤维的优势.随着新型电纺制造技术的不断涌现,三维纳米纤维支架有望在组织工程中被更广泛地应用.

1.3.3 三维(3D)打印支架

3D打印支架^[53],是借助计算机辅助设计通过3D打印技术制备的一种支架,其完全通孔、高度规则的结构使其在组织工程中具有显著的优势.2017年,Gao等^[54]使用多光子激发打印技术制备3D ECM支架用于构建人心肌细胞片(hCMP).该方法的打印精度可达亚微米尺度,细胞在24 h后正常表达心脏特定蛋白质并同步自然跳动.在心肌梗塞疾病体内模型中,基于3D打印的hCMP与无支架对照组相比展现出了更好的心脏电生理功能和细胞活力.2020年,Tsukamoto等^[55]通过3D打印将热响应性聚合物羟丁基壳聚糖(HBC)制成凝胶支架并用于hiPSC-CM培养,得到定向3D仿生心脏组织,在再生医学和体外药物评价方面展现出了潜在优势.

传统的3D打印支架可以快速完成立体结构的成型,但是制备过程中打印速度、压力和温度等会对支架质量造成影响,如压力大、速度快会使材料和活性成分受损^[56],反之,则会使生产周期延长.近年来,3D生物打印技术迅速发展,它是传统3D打印的延伸,通过装配含有细胞的“生物墨水”可直接打印出具有较高分辨率和个性化的活体组织和器官,因此也成为个性化和精准化医疗的有力武器^[57].在心脏组织模型方面,2019年,Chikae等^[58]采用含有hiPSCs和人心肌纤维细胞的生物墨水,通过3D打印画针法与层-层叠加法(LbL)相结合的方法,构建出仿生3D心肌组织.采用该方法打印的细胞可保持与打印前一致的活力,所构建的心肌组织实现了50~60次/min的同步跳动.

1.3.4 复合支架

组织工程支架的关键作用是引导细胞的黏附、扩散并促进组织形成.单一类型的支架分别存在各

自的优缺点,而三维复合支架能够结合不同支架的优势,弥补相应缺陷,为进一步优化体外心脏组织构建提供新的解决方案,因而越来越受到研究人员的青睐.

在工程化三维心肌组织构建方面,2016年本课题组^[59]将静电纺丝技术与微加工技术相结合制备了一种具有蜂窝状框架结构的单层纳米纤维基片用于诱导分化hiPSC-CM并制备心肌贴片(图4c).相较传统二维平面培养,纳米纤维较高的孔隙率和“离地”培养模式能够促进心肌细胞的分化与成熟,蜂窝状框架能够满足心肌跳动所需的机械稳定性并赋予基片良好的灵活可操作性,使其能够很方便地与MEA结合监控药物对心肌组织模型的影响.2017年Wu等^[44]将纳米纤维与水凝胶相结合制备出一种复合型三维仿生支架(图4d).作者采用干湿法静电纺丝技术制备出定向导电纳米纤维束,并将其编织成类似天然心肌组织的交错排列网状结构,再将其用GelMA水凝胶进行包覆.SEM及免疫染色结果表明该复合支架可有效地促进心肌细胞的三维取向生长及成熟.2018年,魏鑫伟等^[60]利用3D打印和静电纺丝技术相结合制造复合组织工程支架用于心肌组织构建,并将心肌组织模型与MEA芯片相耦合构建生物传感器.SEM显示心肌细胞在支架内的贴附和生长情况良好,部分细胞成团聚集,心肌组织在24 h开始产生自主收缩活动,并带动所附着的PCL丝形成联合搏动,在48 h后搏动趋于稳定,72 h后能够达到 (34.25 ± 3.3) 次/min的搏动速率.该三维心肌模型有望后续在药物心脏毒性评价等方面展开应用.

在三维心肌组织模型构建中,组织工程支架为细胞提供更加仿生的三维环境,同时也展现出了良好的机械性与生物相容性.接下来,如何提高三维支架与药物评价系统的耦合程度,如何借助细胞阻抗和电位传感器实时监测和记录三维心肌组织生理特点,并进一步实现药物的高通量筛选仍是科研人员需要继续深入研究与探索的方向之一.2019年,Alassaf等^[61]在MEA芯片平台上涂覆70 μm 厚的3D微结构水凝胶并铺种心肌细胞构建仿生单层心脏组织非侵入式传感器,发现3D水凝胶并未影响电信号采集也未发生信号延迟,同时实现了体外定向心脏微组织的构建和同步记录心肌组织电信号的设计,这一发现为未来三维心脏药筛平台的开发带来了曙光.

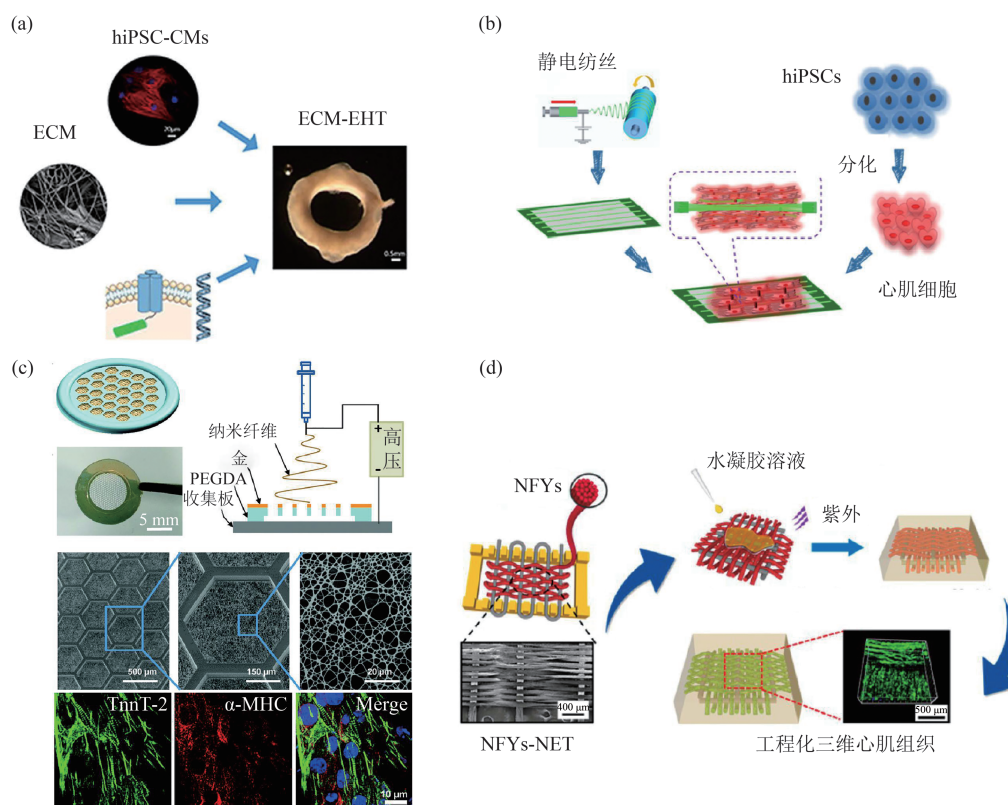
Fig. 4 *In vitro* 3D myocardial tissue modelling

图4 三维心肌组织模型构建

(a) 壳聚糖水凝胶构建的ECM-EHTs模型^[47]; (b) 三维纳米纤维构建的心肌贴片^[50]; (c) 蜂窝状纳米纤维基片构建的心肌贴片^[59]; (d) 复合3D支架构建的心肌组织结构^[44]. PEGDA: 聚乙二醇二丙烯酸酯; NFYs: 纳米纤维纱线; NFYs-NET: 纳米纤维纱网.

2 血管化心肌组织模型

血管是人体内几乎所有器官和组织与血液之间进行气体和营养物质交换的重要场所. 心脏组织也不例外, 它是由诸多微血管环绕心肌细胞所构成的一个微环境系统^[62]. 在构建体外心脏模型用于药物评价时, 若不引入仿生血管组织进行给药, 则与体内的实际药物作用环境与方式相差甚远^[63]. 在体外心脏模型中引入血管, 能够使模型拥有更多的生理相关性, 使其在新药开发中更真实反映体内心脏器官对药物的响应, 因此对药物评价具有重要意义. 目前, 在体外心脏组织模型中引入血管结构最常用的技术主要有细胞片技术、生物打印技术和微流控技术.

2.1 细胞片技术

为实现体外连续且致密的血管网络结构, 细胞片技术是目前最为简单的技术之一^[64]. 细胞与温度响应性聚合物(*N*-异丙基丙烯酰胺(PIPAAm))

共价键合, 通过简单地降低培养温度, 改变PIPAAm的表面性质, 使细胞脱离形成细胞片. Sekine等^[65]基于细胞片技术, 将心肌细胞与内皮细胞简单地共培养于温度响应性细胞培养皿, 共培养的内皮细胞可以在心肌细胞片内形成细胞网络, 且通过多个细胞片的堆叠可形成三维心肌组织.

2013年, Sekine等^[66]将基于细胞片技术构建的三层内皮-心肌细胞片置于血管床上进行共培养, 获得了具有可用于培养基灌注的血管网络结构心肌组织. 2019年, Inui等^[67]首次采用hiPSCs所诱导分化的心肌细胞与内皮细胞和成纤维细胞共培养, 并将利用细胞片技术形成的三层共培养细胞片在血管床上构建出可搏动的三维血管化心脏组织模型. 培养6 d后, 细胞片与血管床形成部分血管连接, 同时模型也可实现利用生物反应器的灌注培养(图5a). 通过细胞片技术与血管床技术的结合, 有望在体外实现大规模血管网络结构的构建. 然而该方法中血管床平台仍然是从动物体中获得的, 其与人

体血管网络结构和功能的差异是否会对最终模型的药物响应造成偏差还有待进一步研究。

2.2 生物打印技术

生物打印技术在血管化心肌组织模型构建方面也有着显著的应用优势。通过将生物打印技术和干细胞技术相结合,可以直接便捷地打印出模拟体内心脏组织微环境的三维活体模型,在相关药物筛选和病理研究等方面都展现出良好的应用潜力。2016年,Zhang等^[68]基于生物打印技术将含有人脐静脉内皮细胞(HUVEC)、藻酸盐、明胶的生物墨水挤压制为3D血管内皮模型,之后将心肌细胞与内皮层相互融合得到血管化心脏芯片平台,心肌组织表现出自发收缩性,并在心血管毒性评估方面表现出可行性。2017年,Ong等^[69]将心肌细胞、内皮细胞和成纤维细胞共培养组成的多细胞球体,利用3D生物打印技术将多细胞球打印于针状阵列上获得血管化心肌组织。该方法无需加入其他生物材料,得到的心肌组织表现出良好的自发搏动性。2018年,Maiullari^[70]等采用包含藻酸盐和PEG-纤维蛋白原(PF)的生物墨水对HUVEC和iPSC-CM进行包裹打印,并通过Ca²⁺和UV两步法对支架进行交联。该方法实现了HUVEC细胞在支架中的均匀分布,然而在该研究中,心肌细胞未显现出跳动迹象(图5b)。

目前,生物3D打印仍需首先克服细胞存活率低和组织再构建难等问题。随着材料科学、打印技术以及组织工程的发展,3D生物打印技术也将进一步优化和改进,并逐步实现整个器官模型的构建。当然,完成一个完整器官的打印将面临耗时更长和所需细胞量更大等问题,那么如何在长时间的打印过程中既能保证打印精度又能维持细胞活力,也成为了未来器官打印有待解决的重要问题。Yang等^[71]指出作为新一代打印技术的4D生物打印,将时间作为第四维度来制造具有实时形变功能的复杂结构,它有望解决这一问题,并推动生物打印技术在生物医学领域的进步。

2.3 微流控技术

细胞的生长需通过各种复杂的外环境与内环境的协同作用共同完成,因此在建立体外生理学模型时需要考虑外界环境参数的真实性。若体外心脏组织模型局限在静态的营养物质和药物传递^[72],则无法模拟外周血管所提供的动态微循环环境,不能实现持续的营养供给和药物作用,从而导致药物测试结果与临床结果产生偏差。Burridge等^[73]的研究

也指出动态培养更接近于人体生理环境,更有利于增加心脏特异性标志物的表达。

被誉为“影响人类未来15件最重要发明之一”的微流控技术^[74]是模拟体内动态微环境的有力工具之一,目前在细胞的动态培养和药物筛选等方面已被广泛应用,并展现出诸多优势。其中,“器官芯片”技术是基于微流控技术发展起来的一门新兴交叉领域学科,2016年被达沃斯论坛列为“十大新兴技术”之一^[75]。该技术通过产生流体剪切力、机械应力、生化浓度梯度等理化刺激,细胞响应这些刺激而发生自组装,展现更加真实的生理学功能,因而在体外生理学模型建立中具有独特的优势,在新药研发、干细胞研究、毒理学预测等领域均有着重要应用前景。国内外科学家们目前已陆续研制出“肾芯片”^[76]、“肝芯片”^[77]和“心脏芯片”^[78]等类器官芯片。

基于微流控技术的“血管-心脏芯片”^[9]在体外心脏模型构建以及对药物心脏毒性评价等研究中展现出广阔的应用前景。2017年,哈佛大学Wyss研究所^[79]首次采用内皮细胞和hiPSC-CM构建了一种共培养“心脏芯片”用于药物反应研究,TEER和MEA的嵌入可同时实现对芯片中血管内皮通透性和心肌电生理活性动态变化的实时监测。2020年,Weng等^[80]开发了一种“心脏-血管-肿瘤”芯片平台(图5c),该平台可实时监测心肌细胞的代谢活性、电生理特性等,多腔室芯片结构能够同时评估药物的抗肿瘤活性及可能引起的心脏毒性,提高个性化药物测试的安全性与高效性,并实现从“单器官”药效评价到系统性的“器官-器官”相互作用的研究转变。此外,Schneider等^[81]通过有限元和实验分析,研究心脏芯片内动态微环境条件对心肌细胞增殖、形态和取向等方面的影响,这对于芯片的设计与优化具有一定的指导意义。

相比其他技术,虽然“心脏芯片”能够更加便捷地实现对体内动态微环境的模拟和调控,但芯片内大多仍为二维细胞模型,较难实现三维层面上的心肌和血管组织结构仿生,这也对科研人员们提出了新的挑战。针对这一难点,本课题组目前正在尝试将上述三维心肌组织和血管化心肌组织两方面技术相融合,基于干细胞技术与器官芯片技术,在微流控芯片内构建出高纯度的三维多层心脏组织和管状血管组织,探索血管化三维心肌组织模型在体外药物评价方面的应用。

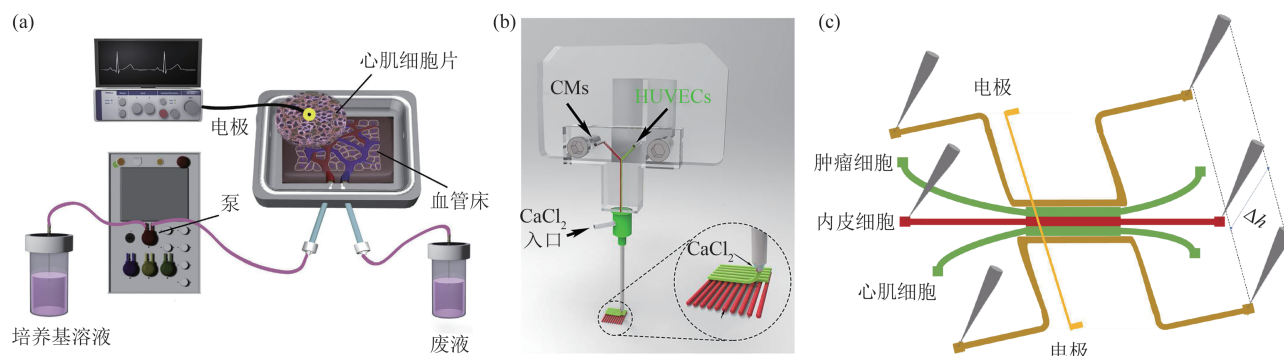
Fig. 5 *In vitro* 3D vascular-myocardial tissue model construction

图5 体外3D血管化心肌组织模型构建

(a) 细胞片技术^[67]; (b) 3D生物打印技术^[70]; (c) 微流控技术^[80].

3 结论与展望

随着对体内心脏组织生理结构研究的深入,体外血管-心肌模型的构建越来越准确合理,从二维心肌模型,到三维心肌组织模型,再到血管-心肌组织模型.生物打印技术、微流控技术等新兴技术及方法的发展也进一步推动了模型构建的多元化.

总体来说,我们认为一个理想的体外药物评价心脏模型应具备以下几点: a. 细胞方面.应选用人源心肌细胞,如采用患者的 hiPSC-CM 可有望实现个性化的药物评价,并构建符合心脏组织特征的多细胞共培养模型,除血管内皮细胞之外,还应包括心肌成纤维细胞等^[82]. b. 结构方面.应尽可能模仿体内心脏组织的三维结构特征^[83],甚至扩展到不同心房心室的结构差异仿生. c. 给药方式方面.应尽可能通过模型内的血管组织动态给药,以模拟药物在体内对心肌细胞的作用方式.接下来,如何在同一模型中同时实现以上要点,仍将是该方向的一大挑战.但相信随着各项技术的进一步发展,未来体外心肌组织模型的设计与构建将逐渐优化,更加合理.另一方面,人体是一个多系统和谐构成的统一整体,未来的药物评价模型也必将朝着越来越系统和多器官相互作用的方向发展,这也为科研人员接下来的研究指出了方向.

参 考 文 献

- [1] Siramshetty V B, Nickel J, Omieczynski C, *et al.* WITHDRAWN--a resource for withdrawn and discontinued drugs. *Nucleic Acids Res*, 2016, **44**(D1): D1080-1086
- [2] Magdy T, Schuldt A J T, Wu J C, *et al.* Human induced pluripotent stem cell (hiPSC) -derived cells to assess drug cardiotoxicity: opportunities and problems. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 2018, **58**: 83-103
- [3] Wallis R, Benson C, Darpo B, *et al.* CiPA challenges and opportunities from a non-clinical, clinical and regulatory perspectives. An overview of the safety pharmacology scientific discussion. *J Pharmacol Toxicol Methods*, 2018, **93**: 15-25
- [4] Ferri N, Siegl P, Corsini A, *et al.* Drug attrition during pre-clinical and clinical development: understanding and managing drug-induced cardiotoxicity. *Pharmacol Ther*, 2013, **138**(3): 470-484
- [5] Mordwinkin N M, Burrige P W, Wu J C. A review of human pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes for high-throughput drug discovery, cardiotoxicity screening, and publication standards. *J Cardiovasc Transl Res*, 2013, **6**(1): 22-30
- [6] Lian X, Zhang J, Azarin S M, *et al.* Directed cardiomyocyte differentiation from human pluripotent stem cells by modulating Wnt/ β -catenin signaling under fully defined conditions. *Nat Protoc*, 2013, **8**(1): 162-175
- [7] Rodrigues I C P, Kaasi A, Maciel Filho R, *et al.* Cardiac tissue engineering: current state-of-the-art materials, cells and tissue formation. *Einstein (Sao Paulo)*, 2018, **16**(3): eRB4538
- [8] Fleischer S, Shapira A, Feiner R, *et al.* Modular assembly of thick multifunctional cardiac patches. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2017, **114**(8): 1898-1903
- [9] Rothbauer M, Rosser J M, Zirath H, *et al.* Tomorrow today: organ-on-a-chip advances towards clinically relevant pharmaceutical and medical *in vitro* models. *Curr Opin Biotechnol*, 2019, **55**: 81-86
- [10] Kurokawa Y K, George S C. Tissue engineering the cardiac microenvironment: multicellular microphysiological systems for drug screening. *Adv Drug Deliv Rev*, 2016, **96**: 225-233
- [11] Xiang F L, Guo M, Yutzey K E. Overexpression of tbx20 in adult cardiomyocytes promotes proliferation and improves cardiac function after myocardial infarction. *Circulation*, 2016, **133**(11): 1081-1092

- [12] Tobita K, Liu L J, Janczewski A M, *et al.* Engineered early embryonic cardiac tissue retains proliferative and contractile properties of developing embryonic myocardium. *American Journal of Physiology*, 2006, **291**(4): 1829-1837
- [13] Just L, Kürsten A, Borth-Bruhns T, *et al.* Formation of three-dimensional fetal myocardial tissue cultures from rat for long-term cultivation. *Dev Dyn*, 2006, **235**(8): 2200-2209
- [14] Galdos F X, Guo Y, Paige S L, *et al.* Cardiac regeneration: lessons from development. *Circ Res*, 2017, **120**(6): 941-959
- [15] Yang X, Papoian T. Moving beyond the comprehensive *in vitro* proarrhythmia assay: use of human-induced pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes to assess contractile effects associated with drug-induced structural cardiotoxicity. *J Appl Toxicol*, 2018, **38**(9): 1166-1176
- [16] Jiang Y, Park P, Hong S M, *et al.* Maturation of cardiomyocytes derived from human pluripotent stem cells: current strategies and limitations. *Mol Cells*, 2018, **41**(7): 613-621
- [17] Thomson JA, Itskovitz-Eldor J, Shapiro SS, *et al.* Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. *Science*, 1998, **282**(5391): 1145-1147
- [18] Shambloot M J, Axelman J, Wang S, *et al.* Derivation of pluripotent stem cells from cultured human primordial germ cells. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, **95**(23): 13726-13731
- [19] Zhou D, Lin G, Xie C Q, *et al.* Establishment and maintenance of three Chinese human embryonic stem cell lines. *In Vitro Cell Dev Biol Anim*, 2010, **46**(3-4): 192-199
- [20] Takahashi K, Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell*, 2006, **126**(4): 663-676
- [21] Takahashi K, Tanabe K, Ohnuki M, *et al.* Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors. *Cell*, 2007, **131**(5): 861-872
- [22] Karakikes I, Ameen M, Termglinchan V, *et al.* Human induced pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes: insights into molecular, cellular, and functional phenotypes. *Circ Res*, 2015, **117**(1): 80-88
- [23] Deng F, Lei H, Hu Y, *et al.* Combination of retinoic acid, dimethyl sulfoxide and 5-azacytidine promotes cardiac differentiation of human fetal liver-derived mesenchymal stem cells. *Cell Tissue Bank*, 2016, **17**(1): 147-159
- [24] Mohanty S, Bose S, Jain K G, *et al.* TGF β 1 contributes to cardiomyogenic-like differentiation of human bone marrow mesenchymal stem cells. *Int J Cardiol*, 2013, **163**(1): 93-99
- [25] Cao N, Huang Y, Zheng J, *et al.* Conversion of human fibroblasts into functional cardiomyocytes by small molecules. *Science*, 2016, **352**(6290): 1216-1220
- [26] Pekkanen-Mattila M, Chapman H, Kerkelä E, *et al.* Human embryonic stem cell-derived cardiomyocytes: demonstration of a portion of cardiac cells with fairly mature electrical phenotype. *Exp Biol Med (Maywood)*, 2010, **235**(4): 522-530
- [27] Sharma A, McKeithan W L, Serrano R, *et al.* Use of human induced pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes to assess drug cardiotoxicity. *Nat Protoc*, 2018, **13**(12): 3018-3041
- [28] Tsao C J, Taraballi F, Pandolfi L, *et al.* Controlled release of small molecules for cardiac differentiation of pluripotent stem cells. *Tissue Eng Part A*, 2018, **24**(23-24): 1798-1807
- [29] Sacchetto C, Vitiello L, De Windt L J, *et al.* Modeling cardiovascular diseases with hiPSC-derived cardiomyocytes in 2D and 3D cultures. *Int J Mol Sci*, 2020, **21**(9): 3404
- [30] Pontes Soares C, Midlej V, De Oliveira M E, *et al.* 2D and 3D-organized cardiac cells shows differences in cellular morphology, adhesion junctions, presence of myofibrils and protein expression. *Plos One*, 2012, **7**(5): e38147
- [31] Yuan J, Sahni G, Toh Y C. Stencil micropatterning for spatial control of human pluripotent stem cell fate heterogeneity. *Methods Mol Biol*, 2016, **1516**: 171-181
- [32] 刘文文, 陈振玲, 蒋兴宇. 二维平面细胞微图案化技术及其生物学应用. *分析化学*, 2009, **37**(7): 943-949
Liu W W, Chen Z L, Jiang X Y. Chinese Journal of Analytical Chemistry, 2009, **37**(7): 943-949
- [33] Tanyeri M, Tay S. Viable cell culture in PDMS-based microfluidic devices. *Methods Cell Biol*, 2018, **148**: 3-33
- [34] Kim Y, Kwon C, Jeon H. Genetically engineered phage induced selective h9c2 cardiomyocytes patterning in PDMS microgrooves. *Materials (Basel)*, 2017, **10**(8): 973-980
- [35] Fu J, Chuah Y J, Ang W T, *et al.* Optimization of a polydopamine (PD)-based coating method and polydimethylsiloxane (PDMS) substrates for improved mouse embryonic stem cell (ESC) pluripotency maintenance and cardiac differentiation. *Biomater Sci*, 2017, **5**(6): 1156-1173
- [36] Ma Z, Wang J, Loskill P, *et al.* Self-organizing human cardiac microchambers mediated by geometric confinement. *Nat Commun*, 2015, **6**: 7413
- [37] Pati F, Jang J, Ha D H, *et al.* Printing three-dimensional tissue analogues with decellularized extracellular matrix bioink. *Nat Commun*, 2014, **5**: 3935
- [38] Azimi B, Milazzo M, Lazzeri A, *et al.* Electrospinning piezoelectric fibers for biocompatible devices. *Adv Healthc Mater*, 2020, **9**(1): e1901287
- [39] Kai D, Prabhakaran M P, Jin G, *et al.* Guided orientation of cardiomyocytes on electrospun aligned nanofibers for cardiac tissue engineering. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*, 2011, **98**(2): 379-386
- [40] Badrossamay M R, Balachandran K, Capulli A K, *et al.* Engineering hybrid polymer-protein super-aligned nanofibers via rotary jet spinning. *Biomaterials*, 2014, **35**(10): 3188-3197
- [41] Khan M, Xu Y, Hua S, *et al.* Evaluation of changes in morphology and function of human induced pluripotent stem cell derived cardiomyocytes (hiPSC-CMs) cultured on an aligned-nanofiber cardiac patch. *Plos One*, 2015, **10**(5): e0126338
- [42] Streeter B W, Xue J, Xia Y, *et al.* Electrospun nanofiber-based patches for the delivery of cardiac progenitor cells. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2019, **11**(20): 18242-18253
- [43] Tay C Y, Muthu M S, Chia S L, *et al.* Reality check for

- nanomaterial-mediated therapy with 3D biomimetic culture systems. *Advanced Functional Materials*, 2016, **26**(23): 4046-4065
- [44] Wu Y, Wang L, Guo B, *et al.* Interwoven aligned conductive nanofiber yarn/hydrogel composite scaffolds for engineered 3D cardiac anisotropy. *ACS Nano*, 2017, **11**(6): 5646-5659
- [45] Neves S C, Moroni L, Barrias C C, *et al.* Leveling up hydrogels: hybrid systems in tissue engineering. *Trends Biotechnol*, 2020, **38**(3): 292-315
- [46] Navaei A, Truong D, Heffernan J, *et al.* PNIPAAm-based biohybrid injectable hydrogel for cardiac tissue engineering. *Acta Biomater*, 2016, **32**: 10-23
- [47] Goldfracht I, Efraim Y, Shinnawi R, *et al.* Engineered heart tissue models from hiPSC-derived cardiomyocytes and cardiac ECM for disease modeling and drug testing applications. *Acta Biomater*, 2019, **92**: 145-159
- [48] Roshanbinfar K, Mohammadi Z, Sheikh-Mahdi Mesgar A, *et al.* Carbon nanotube doped pericardial matrix derived electroconductive biohybrid hydrogel for cardiac tissue engineering. *Biomater Sci*, 2019, **7**(9): 3906-3917
- [49] Peña B, Maldonado M, Bonham A J, *et al.* Gold nanoparticle-functionalized reverse thermal gel for tissue engineering applications. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2019, **11**(20): 18671-18680
- [50] Li J, Minami I, Shiozaki M, *et al.* Human pluripotent stem cell-derived cardiac tissue-like constructs for repairing the infarcted myocardium. *Stem Cell Reports*, 2017, **9**(5): 1546-1559
- [51] Majidi S S, Slemming-Adamsen P, Hanif M, *et al.* Wet electrospun alginate/gelatin hydrogel nanofibers for 3D cell culture. *Int J Biol Macromol*, 2018, **118**(Pt B): 1648-1654
- [52] Ghosh L D, Jain A, Sundaresan N R, *et al.* Elucidating molecular events underlying topography mediated cardiomyogenesis of stem cells on 3D nanofibrous scaffolds. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*, 2018, **88**: 104-114
- [53] Zhang S, Wang H. Current progress in 3D bioprinting of tissue analogs. *SLAS Technol*, 2019, **24**(1): 70-78
- [54] Gao L, Kupfer M E, Jung J P, *et al.* Myocardial tissue engineering with cells derived from human-induced pluripotent stem cells and a native-like, high-resolution, 3-dimensionally printed scaffold. *Circ Res*, 2017, **120**(8): 1318-1325
- [55] Tsukamoto Y, Akagi T, Akashi M. Vascularized cardiac tissue construction with orientation by layer-by-layer method and 3D printer. *Sci Rep*, 2020, **10**(1): 5484
- [56] Tijore A, Irvine S A, Sarig U, *et al.* Contact guidance for cardiac tissue engineering using 3D bioprinted gelatin patterned hydrogel. *Biofabrication*, 2018, **10**(2): 025003
- [57] Yilmaz B, Tahmasebifar A, Baran E T. Bioprinting technologies in tissue engineering. *Adv Biochem Eng Biotechnol*, 2020, **171**: 279-319
- [58] Chikae S, Kubota A, Nakamura H, *et al.* Three-dimensional bioprinting human cardiac tissue chips of using a painting needle method. *Biotechnol Bioeng*, 2019, **116**(11): 3136-3142
- [59] Tang Y, Liu L, Li J, *et al.* Induction and differentiation of human induced pluripotent stem cells into functional cardiomyocytes on a compartmented monolayer of gelatin nanofibers. *Nanoscale*, 2016, **8**(30): 14530-14540
- [60] 魏鑫伟, 高庆, 苏凯麒, 等. 结合组织工程支架的三维心肌细胞传感器. *浙江大学学报(工学版)*, 2018, **52**(7): 1415-1422
Wei X W, Gao Q, Sun K Q, *et al.* *Journal of Zhejiang University (Engineering Science)*, 2018, **52**(7): 1415-1422
- [61] Alassaf A, Tansik G, Mayo V, *et al.* Engineering anisotropic cardiac monolayers on microelectrode arrays for non-invasive analyses of electrophysiological properties. *Analyst*, 2019, **145**(1): 139-149
- [62] Ribas J, Sadeghi H, Manbachi A, *et al.* Cardiovascular organ-on-a-chip platforms for drug discovery and development. *Appl In Vitro Toxicol*, 2016, **2**(2): 82-96
- [63] Akintewe O O, Roberts E G, Rim N G, *et al.* Design approaches to myocardial and vascular tissue engineering. *Annu Rev Biomed Eng*, 2017, **19**: 389-414
- [64] Kobayashi J, Kikuchi A, Aoyagi T, *et al.* Cell sheet tissue engineering: cell sheet preparation, harvesting/manipulation, and transplantation. *J Biomed Mater Res A*, 2019, **107**(5): 955-967
- [65] Sekine H, Shimizu T, Hobo K, *et al.* Endothelial cell coculture within tissue-engineered cardiomyocyte sheets enhances neovascularization and improves cardiac function of ischemic hearts. *Circulation*, 2008, **118**(14 Suppl): S145-152
- [66] Sekine H, Shimizu T, Sakaguchi K, *et al.* *In vitro* fabrication of functional three-dimensional tissues with perfusable blood vessels. *Nat Commun*, 2013, **4**: 1399
- [67] Inui A, Sekine H, Sano K, *et al.* Generation of a large-scale vascular bed for the *in vitro* creation of three-dimensional cardiac tissue. *Regen Ther*, 2019, **11**: 316-323
- [68] Zhang Y S, Arneri A, Bersini S, *et al.* Bioprinting 3D microfibrillar scaffolds for engineering endothelialized myocardium and heart-on-a-chip. *Biomaterials*, 2016, **110**: 45-59
- [69] Ong C S, Fukunishi T, Zhang H, *et al.* Biomaterial-free three-dimensional bioprinting of cardiac tissue using human induced pluripotent stem cell derived cardiomyocytes. *Sci Rep*, 2017, **7**(1): 606-619
- [70] Maiullari F, Costantini M, Milan M, *et al.* A multi-cellular 3D bioprinting approach for vascularized heart tissue engineering based on HUVECs and iPSC-derived cardiomyocytes. *Sci Rep*, 2018, **8**(1): 13532
- [71] Yang G H, Yeo M, Koo Y W, *et al.* 4D Bioprinting: technological advances in biofabrication. *Macromol Biosci*, 2019, **19**(5): e1800441
- [72] Burridge P W, Li Y F, Matsa E, *et al.* Human induced pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes recapitulate the predilection of breast cancer patients to doxorubicin-induced cardiotoxicity. *Nat Med*, 2016, **22**(5): 547-556
- [73] Burridge P W, Matsa E, Shukla P, *et al.* Chemically defined generation of human cardiomyocytes. *Nat Methods*, 2014, **11**(8): 855-860

- [74] Zhang B, Montgomery M, Chamberlain M D, *et al.* Biodegradable scaffold with built-in vasculature for organ-on-a-chip engineering and direct surgical anastomosis. *Nat Mater*, 2016, **15**(6): 669-678
- [75] Zheng F, Fu F, Cheng Y, *et al.* Organ-on-a-chip systems: microengineering to biomimic living systems. *Small*, 2016, **12**(17): 2253-2282
- [76] Wilmer M J, Ng C P, Lanz H L, *et al.* Kidney-on-a-chip technology for drug-induced nephrotoxicity screening. *Trends Biotechnol*, 2016, **34**(2): 156-170
- [77] Beckwitt C H, Clark A M, Wheeler S, *et al.* Liver 'organ on a chip'. *Exp Cell Res*, 2018, **363**(1): 15-25
- [78] Marsano A, Conficconi C, Lemme M, *et al.* Beating heart on a chip: a novel microfluidic platform to generate functional 3D cardiac microtissues. *Lab Chip*, 2016, **16**(3): 599-610
- [79] Maoz B M, Herland A, Henry O Y F, *et al.* Organs-on-Chips with combined multi-electrode array and transepithelial electrical resistance measurement capabilities. *Lab Chip*, 2017, **17**(13): 2294-2302
- [80] Weng K C, Kurokawa Y K, Hajek B S, *et al.* Human induced pluripotent stem-cardiac-endothelial-tumor-on-a-chip to assess anticancer efficacy and cardiotoxicity. *Tissue Eng Part C Methods*, 2020, **26**(1): 44-55
- [81] Schneider O, Zeifang L, Fuchs S, *et al.* User-friendly and parallelized generation of human induced pluripotent stem cell-derived microtissues in a centrifugal heart-on-a-chip. *Tissue Eng Part A*, 2019, **25**(9-10): 786-798
- [82] Yang B, Lui C, Yeung E, *et al.* A net mold-based method of biomaterial-free three-dimensional cardiac tissue creation. *Tissue Eng Part C Methods*, 2019, **25**(4): 243-252
- [83] Nugraha B, Buono M F, Von Boehmer L, *et al.* human cardiac organoids for disease modeling. *Clin Pharmacol Ther*, 2019, **105**(1): 79-85

Research Progress in Cardiac Tissue Model for *In vitro* Drug Evaluation*

MIAO Xiao-Min¹⁾, WANG Ya-Qi¹⁾, CHEN Jia-Ying¹⁾, LAN Xing-Zi¹⁾,
ZENG Xiao-Han¹⁾, TANG Ya-Dong^{1)**}, ZHANG Kun^{1,2)**}

¹⁾School of Biomedical and Pharmaceutical Sciences, Guangdong University of Technology, Guangzhou 510006, China;

²⁾School of Biotechnology and Health Sciences, Wuyi University, Jiangmen 529020, China)

Abstract Drug-induced cardiotoxicity is one of the important causes of the failure in drug development. The traditional animal models for drug evaluation have many defects such as species differences, high cost, and low efficiency. It is crucial for drug development to construct more economical and efficient toxicity evaluation models which can accurately simulate the physiological characteristics of human heart. In recent years, with the rapid development of stem cell and bioprinting technologies, the construction of *in vitro* cardiac tissue model has received more and more attention. In this review, the origin and development of *in vitro* cardiac model construction are overviewed. The cell sources of cardiomyocyte and the relative techniques and methods for model construction are comprehensively reviewed. Combining with the construction technologies such as bioprinting and microfluidics, the importance and research progress of vascularized cardiac tissue model are highlighted. Finally, the future perspectives and challenges of this field are discussed in order to provide new ideas for the research and application of *in vitro* cardiac tissue model in drug evaluation.

Key words *in vitro* model, cardiac tissue, drug evaluation, cardiotoxicity, bioprinting, microfluidic

DOI: 10.16476/j.pibb.2020.0228

* This work was supported by grants from The National Natural Science Foundation of China (81801830), Guangdong Basic and Applied Basic Research Foundation (2019A1515011363) and Project of Innovative Research Teams of Jiangmen (2017TD02).

** Corresponding author.

TANG Ya-Dong. Tel: 86-20-85827854, E-mail: tangyadong@gdut.edu.cn

ZHANG Kun. Tel: 86-750-3296601, E-mail: kzhang@gdut.edu.cn

Received: July 8, 2020 Accepted: August 26, 2020