中国细胞生物学学报 Chinese Journal of Cell Biology 2025, 47(9): 2332–2348
DOI: 10.11844/cjcb.2025.09.0015
CSTR: 32200.14.cjcb.2025.09.0015

孟庆航博士, 现任粤港澳大湾区精准医学研究院(广州)青年研究员。课题组结合细胞生物学、遗传学、生物化学等多学科手段, 以类器官和小鼠为模型, 对心血管疾病及肺部损伤的致病机制和潜在的治疗方法进行深入研究。研究成果在*Circulation*、*Nat Cardiovasc Res*、*Circ Res*等期刊发表。
https://www.ipm-gba.org.cn/Index/team_details/id/338.html

心脏类器官在心血管发育与疾病研究中的应用: 现状与展望

梁逸云[1,2]　孟庆航[1,2]*
([1]粤港澳大湾区精准医学研究院(广州), 广州 511458; [2]复旦大学生命科学学院, 上海 200438)

摘要　心血管系统作为维持人体生命活动的核心系统, 其相关疾病已成为全球范围内的重大公共卫生问题。类器官技术作为一种新兴的生物技术, 通过模拟心血管系统的发育过程和疾病机制, 为相关研究提供了创新的视角和工具。该综述系统回顾了心脏类器官技术的发展历程, 重点探讨了其在心血管发育和疾病研究中的应用。尽管该技术在功能完善性、伦理和成本等方面仍面临挑战, 但随着新方法的引入和融合, 其在心血管领域的应用前景广阔。该文还展望了心脏类器官技术的未来发展方向, 旨在为该领域的进一步研究提供参考和指导。

关键词　心血管系统; 类器官技术; 发育与疾病; 研究现状; 未来展望

Cardiac Organoids: Applications in Research on Cardiovascular Development and Disease-Current Status and Future Perspectives

LIANG Yiyun[1,2], MENG Qinghang[1,2]*
([1]*Greater Bay Area Institute of Precision Medicine (Guangzhou), Guangzhou 511458, China*;
[2]*School of Life Sciences, Fudan University, Shanghai 200438, China*)

Abstract　Cardiovascular diseases are major global public health challenges. Cardiac organoid technology, as an emerging bioengineering approach, provides novel tools by mimicking cardiovascular development and disease mechanisms. This review traces the evolution of cardiac organoids and highlights their applications in study-

收稿日期: 2025-06-15　　接受日期: 2025-08-01
国家重点研发计划(批准号: 2022YFA0806200)和广东省自然科学基金面上项目(批准号: 2024A1515013130)资助的课题
*通信作者。Tel: 18028067829, E-mail: mengqinghang@ipm-gba.org.cn
Received: June 15, 2025　　Accepted: August 1, 2025
This work was supported by the National Key R&D Programs of China (Grant No.2022YFA0806200), and the Guangdong Natural Science Foundation (Grant No.2024A1515013130)
*Corresponding author. Tel: +86-18028067829, E-mail: mengqinghang@ipm-gba.org.cn

ing development and disease. While challenges regarding functionality, ethics, and costs remain, the integration of novel methodologies offers promising prospects. Future research directions are also discussed to inform this rapidly advancing field.

Keywords cardiovascular system; organoid technology; development and disease; research status; future perspectives

作为人体生理活动的核心枢纽, 心血管系统承载着维持生命稳态的关键功能。心脏通过节律性收缩与舒张, 推动血液沿动脉、毛细血管及静脉循环流动, 将氧气、营养物质及免疫因子输送至全身60万亿个细胞, 同时将代谢废物转运至肝、肾等器官排出体外[1]。这种精密的循环机制不仅保障了组织器官的能量供给, 还使得血压调节、体液平衡的维持及免疫应答等复杂生理过程得以进行。从胚胎发育角度看, 心血管系统是首个形成功能的器官系统——受孕后第3周, 原始心管即开始搏动, 标志着生命早期循环的建立, 而其发育异常将直接导致先天性心脏病等严重出生缺陷。在成人阶段, 心血管系统的健康状态不仅影响着身体各个器官和系统的正常功能, 还与多种慢性疾病的发生、发展密切相关。心脏每搏输出量、血管弹性等指标的细微变化, 均可能引发连锁性的病理反应[2]。迄今为止, 心血管疾病已成为全球范围内致死率最高的疾病类型, 世界卫生组织2023年报告指出, 全球每年约1 800万人死于心血管疾病, 占总死亡人数的32%, 其中冠心病、脑卒中、心力衰竭是主要死因[3]。在我国, 据2023年《中国心血管健康与疾病报告》显示, 现有心血管疾病患者约3.3亿, 每5例死亡患者中就有2例死于心血管疾病, 年均医疗费用超5 000亿元, 且发病率逐年升高, 发病人群也更趋向于年轻化[4]。近年来, 在疾病治疗方面, 尽管介入技术和同种异体心脏移植已取得显著进展, 但仍面临移植物排斥、供体短缺及难以完全重建长期生理功能等严峻挑战[3]。在体外研究方面, 传统的二维心血管研究模型, 如原代血管内皮细胞(endothelial cells, ECs)或干细胞分化的单一细胞类型通常难以全面、精准地模拟心血管系统发育过程中复杂的时空动态性、三维组织结构与多细胞互作网络, 也无法充分再现心血管疾病的完整病理生理进程, 极大地限制了发育异常与疾病机制的深入探究[3]。因此, 开发三维多细胞类器官模型, 不仅为深入解析心血管生理病理机制提供前所未有的平台, 同时, 患者hiPSC来源的心血管类器官也可为探索同基因型组织、器官移植以改善免疫相容性提供潜在可能, 成为未来突破临床治疗瓶颈的关键研究方向。

类器官技术的兴起标志着生命科学研究从二维平面走向三维立体的新纪元, 该技术最早起源于20世纪初的组织培养技术, 在干细胞技术与三维培养体系的建立下逐步成熟[5]。1970年代, GREEN 团队[5]通过共培养原代人角质形成细胞与3T3成纤维细胞(fibroblast, FB), 成功构建了类似人类表皮的分层鳞状上皮集落。这一模型首次展示了细胞在体外的组织样分化能力, 但因其受限于2D培养, 仍无法模拟细胞在天然器官中的三维空间组织。在经历了将近半个世纪的摸索后, 直至2009年, CLEVERS和SATO团队[6]用来源于小鼠肠道的成体干细胞培育出首个微型肠道类器官, 并揭示其自我更新与分化机制, 标志着类器官时代的正式开启。同期, SASAI等[7]利用多能干细胞(pluripotent stem cells, PSCs)诱导出皮质组织和视杯结构, 显示PSCs可模拟胚胎发育过程中的形态发生。此后该技术迅速拓展至如肺、肾、胃等多个器官系统, 形成以多能干细胞或成体干细胞为种子细胞, 调控微环境因素诱导细胞在体外培养体系中自组织形成具有器官特异性结构与功能三维结构体的技术体系[8]。

在心血管领域, 类器官的应用不仅能够解决传统二维培养无法模拟体内细胞间三维互作及机械应力环境的问题, 同时也能克服动物模型与人类之间存在的种属差异[9]。在发育模拟方面, 心血管类器官的诱导分化关键在于适时调控与胚胎心脏发育密切相关的信号通路及模拟发育过程的环境因素。相较于传统方法, 心脏类器官能更好地模拟人类胚胎期心脏的分化过程与形态建构特征[9]。在心血管疾病模型构建方面, 利用患者来源的诱导多能干细胞构建的心脏类器官能大致重现遗传性心血管疾病表型, 如携带*MYBPC3*基因突变的肥厚型心肌病类器官的特征与患者心肌活检结果高度吻合[10]。对于获得性心血管疾病, 可通过药物诱导等方法构建病理

微环境, 用于研究疾病发生发展机制[11]。此外, 在推动转化医学研究层面, 类器官的引入显著提升了药物筛选效率——由于其可通过标准化培养体系进行大规模批量生产, 故能同时对多种化合物进行心脏毒性测试, 高通量平台通过实时监测收缩频率、钙瞬变及电生理信号, 快速排除具有潜在致心律失常风险的候选药物, 缩短新药研发周期[12]。在再生医学领域, 心脏和血管类器官不仅可作为移植物前驱模型, 还可用于研究细胞移植后的整合机制[8]。

尽管类器官技术在心血管发育及疾病研究中展现出显著优势, 但其在模拟生理复杂性与临床转化中仍存在多重局限[13]。从发育维度看, 当前心脏类器官虽能复现早期心管搏动功能, 但难以形成具有成熟浦肯野纤维网络的传导系统, 导致其电生理活动与真实心脏存在差异, 且缺乏神经–内分泌调控网络的整合, 无法模拟压力反射等高级调节机制; 在疾病建模层面, 血管类器官仍存两大问题: 动脉–静脉分化效率不足, 以及难以模拟慢性疾病的病理进程[13]。此外, 若要进行临床转化, 技术层面亦仍面临三大瓶颈: 一是规模化生产难题, 现有培养体系中类器官直径变异系数普遍>15%, 限制了高通量筛选的可靠性; 二是伦理与标准化挑战, 基于人类多能干细胞的类器官是否涉及“类胚胎”伦理争议尚未完全厘清, 且不同实验室的培养方案缺乏统一质控标准; 三是成本昂贵, 动物源性基质胶、所需细胞因子的高昂价格及专业设备的需求, 阻碍了该技术在资源有限地区的普及[13]。由此可知, 类器官技术从基础研究迈向临床仍需突破诸多关键壁垒。

总而言之, 作为近年来生命科学领域最具变革性的突破之一, 类器官技术凭借其模拟人体器官结构与功能的独特能力, 正逐步发展成熟且日渐成为器官组织代谢及发育研究的首要选择。尽管目前仍面临功能成熟度不足、规模化生产及伦理监管等挑战, 但随着跨学科技术的融合与研究的深入, 这一技术有望在未来推动心血管疾病的发病机制解析、药物研发及临床治疗。本综述系统回顾了心脏类器官技术的发展历程, 从早期起源到最新前沿应用。重点探讨了该技术在三个关键领域的应用: 心血管发育研究、疾病模型构建和治疗策略开发。文章深入分析了当前面临的技术瓶颈, 并展望了未来跨学科创新的发展趋势。通过全面梳理现有文献, 本文旨在为心血管领域的研究者提供有价值的参考。

1 类器官技术的历史回顾

1.1 类器官技术的起源与发展

类器官技术的历史最早可追溯至20世纪初对细胞体外培养的探索(图1)。1907年, 发育生物学家WILSON海绵细胞的实验揭示了多细胞系统中的一个重要现象——即在体外环境中, 细胞具备自组织为功能性结构的能力。WILSON将海绵细胞打散后重新混合, 一段时间后发现这些细胞并非无序分布, 而是趋向于恢复原有组织结构[11]。这一现象提示细胞之间存在特定的组织识别机制, 为后来的类器官建模提供了启发。此后半个世纪, 研究重点集中于单细胞培养体系的优化, 如1952年SCHERER等[14]建立的HeLa细胞系, 首次实现人类癌细胞的无限增殖, 为细胞生物学研究提供了标准化模型。真正推动类器官概念形成的关键在于对细胞三维微环境的认知突破。1970年, GREEN团队[5]发现人角质形成细胞与3T3FBs的共培养可形成类似表皮的分层结构, 尽管仍为二维培养, 却首次提示细胞间互作对组织形态构建的重要性。与此同时, BISSELL等[15]在研究中利用富含层黏连蛋白与胶原蛋白的三维基质培养乳腺上皮细胞, 观察到这些细胞在三维环境中不仅能够维持极性, 还能形成腺泡状结构并分泌酪蛋白。与传统的二维单层培养相比, 这些细胞在三维微环境中表现出更接近体内的状态, 提示细胞的功能与其立体结构密切相关。此后, EVANS与KAUFMAN[16]首次从小鼠早期胚胎中分离出胚胎干细胞(embryonic stem cells, ESCs), 这些ESCs可在体外无限增殖并分化为三胚层来源的各种细胞类型, 为体外模拟胚胎发育与器官形成奠定了细胞基础。1998年, THOMSON等[17]进一步从人类胚胎中获得了hESCs, 拓展了类器官技术在疾病建模与人类发育研究中的潜力。与干细胞技术几乎同步发展的是三维培养体系的进步。基质胶的广泛应用使细胞在胶状三维环境中得以自由生长、分化与极化, 其中使用最广泛的基质胶Matrigel是一种源自EHS(Engelbreth-Holm-Swarm)小鼠肿瘤的细胞外基质混合物, 富含层黏连蛋白、胶原、巢蛋白等多种细胞外基质蛋白, 在接近生理温度下可快速凝胶化, 为细胞在体外生长、分化、极化提供了仿生环境[18]。此外, 悬浮培养技术也在同期被引入, 用以促进细胞形成三维聚集体(embryoid bodies, EBs)[19]。EBs是多能干细胞在低附着力条件下自然形成的球形结构, 模拟了胚胎中三

胚层分化的早期事件, 其成功培养不仅为后续的心肌、神经、胰腺等器官样细胞的诱导提供了中间体, 也为类器官自组织构建提供了起始细胞来源。

21世纪初, 类器官研究迎来了重要突破。包括干细胞工程、生物支架、信号调控和活体成像在内的多项关键技术的融合, 推动了类器官构建从二维培养模式向三维结构和功能性重建转变[20]。这一进展标志着类器官研究进入了新阶段, 然而仍存在局限性。当时的研究主要依赖工程式构建方法, 严重依赖人工干预和结构支架, 这与细胞自主组织形成的真正类器官存在本质差异。这一阶段在为后续研究奠定了基础的同时, 也突显了进一步优化的必要性。

2009年至2019年是类器官技术的黄金发展期。这十年间, 两个关键领域的突破性进展相互促进, 显著推动了类器官技术的飞速发展: 三维培养体系的工程化突破使得更精确的微环境控制和结构模拟得以实现; 而干细胞技术的跨物种拓展则扩大了类器官模型的适用范围。这两大进展的协同效应不仅提高了类器官的复杂性和功能性, 还大大拓展了其在基础研究和临床应用中的潜力[20]。2009 年, SATO团队[6]在《自然》杂志上报道了利用小鼠肠干细胞与基质胶(Matrigel)构建肠类器官的研究成果, 这一成果标志着类器官技术迈入了新的阶段。他们将Lgr5$^+$肠道干细胞置于含有表皮生长因子、Noggin和R-spondin的三维基质凝胶中, 这种培养环境能够模拟肠道干细胞的自然生长条件, 促使其分化并形成具有隐窝和绒毛结构的小肠类器官[6]。同期, GJOREVSKI等[21]开发的合成水凝胶也为类器官技术的发展提供了新的思路。他们通过调控基质硬度与降解性, 实现了对细胞分化方向的动态调控[21]。在干细胞技术方面, 诱导多能干细胞(induced pluripotent stem cells, iPSCs)技术的成熟彻底改变了类器官的研究范式。它不仅为类器官的构建提供了更加丰富和多样化的细胞来源, 还极大地提升了类器官在疾病模型构建、药物筛选和再生医学中的应用潜力[22]。一方面, hiPSC可以直接重编程自患者来源的细胞——如ZHOU等[23]利用腺病毒介导的重编程方法, 成功将人类FBs重编程为hiPSC, 并进一步将其分化为心肌细胞(cardiomyocytes, CMs), 在此过程中, 分化得到的细胞具有与患者相同的基因型, 可为具体疾病, 尤其是单基因病机制的研究提供新的方法。另一方面, 类器官也具有移植和治疗的潜能。例如血管类器官移植可用于缺血性疾病的治疗, 而hiPSC来源的类器官具有“同基因型移植”的潜能和优势, 从而可有效避免免疫排异反应的发生。如TAKASATO等[24]利用hiPSC成功生成了肾脏类器官; 另有研究团队对hiPSC进行三维培养, 模拟了肝脏、胆囊和胰腺结构的动态形态发生。他们发现, 通过将分化为前肠和中肠的球状体共培养, 可以在没有外源诱导因子的情况下, 自主形成肝胆胰等不同的器官域[25]。

近年来, 随着研究方法的不断更新和成熟, 类器官技术逐步从实验走向临床, 在多个系统相关的疾病建模、个性化医疗以及再生医学领域均取得了令人瞩目的进展, 为生物医学研究带来了新的契机首先, 越来越多的文献报道了针对类器官的基因编辑技术, 研究团队利用CRISPR/Cas9系统, 对类器官中的特定基因进行靶向敲除或敲入, 使之成为研究发育调控与疾病机制的强有力工具。例如, 在肠道类器官中敲除*APC*基因可诱导类癌变过程, 为结直肠癌形成机制的研究提供了模型平台[26]。2025年4月, IGARASHI等[27]使用CRISPR/Cas9系统, 分别针对糖异生途径中的关键酶G6PC及尿素循环中的关键酶OTC设计了特异性的sgRNA, 并通过电转染将其导入人干细胞类器官中, 成功构建了*G6PC*和*OTC*基因缺陷型肝脏类器官, 为研究遗传性肝脏疾病提供了可靠的体外模型。此外, 由于单一类器官虽可还原部分结构, 但缺乏器官间通信, 不能很好地模拟体内的复杂生理环境。新兴的多器官类器官通过物理融合或共培养方式, 将多个类器官模型组合在一起, 模拟复杂的系统生理功能。例如, 微流控芯片可以模拟体内的液流剪切力、血液灌注与器官间作, 目前已有研究团队成功将肠道类器官与芯片系统结合, 重建了肠–肝轴、肠–脑轴的功能通路[28]。QIN等[29]则利用器官芯片技术构建了一个包含肝脏和胰岛类器官的共培养体系, 发现高糖条件下类器官出现线粒体损伤和葡萄糖代谢功能下降等异常改变, 为糖尿病研究提供了新方法。XIANG等[30]将背侧与腹侧前脑类器官融合, 观察到γ-氨基丁酸能神经元的迁移行为, 重建了脑区间互作。

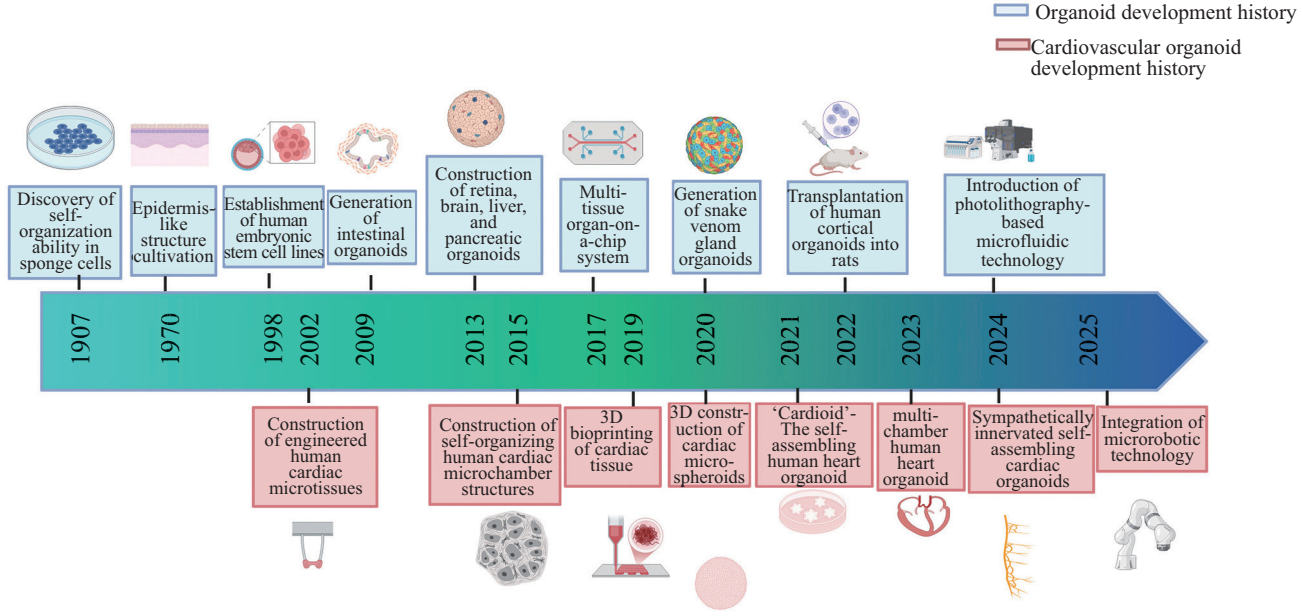
综上所述, 类器官技术从20世纪初细胞体外培养的探索起步, 历经单细胞培养体系优化、三维微环境认知突破、干细胞技术与三维培养体系协同发展等阶段, 逐步从二维迈向三维、功能性重建, 未来,

其有望进一步深化对器官发育和疾病机制的研究，助力精准医学发展。

1.2 心血管类器官技术的发展历程

在心血管领域，类器官技术的发展经历了从体外2D细胞培养、工程化组织构建及自组织三维微结构建立等诸多阶段(表1)[9]。2006年，TAKAHASHI和YAMANAKA[31]的研究证明了转录因子的异位共表达可以影响细胞分化，这种诱导多能干细胞技术的诞生使得CMs可通过hiPSC诱导形成[31]。此后，这类2D CM模型逐渐成为药物筛选和疾病建模的工具。例如有研究者利用hiPSC-CMs研究抗心律失常药对心率变异性的影响，发现其与体内实验的结果相似。此外，该模型还用于研究化疗药的心脏毒性，通过检测钙处理、线粒体功能等指标评估毒性机制[32]。也有团队基于小鼠、猪或兔等构建心血管疾病的动物模型[33]。但二维培养无法模拟体内微环境，缺乏细胞间相互作用和组织结构，功能成熟度低；疾病动物模型与人类在基因表达、代谢和炎症反应等方面存在显著差异，且伦理成本高、实验周期长，两者均不能成为研究心血管发育与疾病的理想方法[34]。随着hiPSC技术和组织工程的发展，工程化心脏组织(engineered heart tissues, EHTs)作为一种新型的体外模型逐渐被推广运用[34]。具体而言，EHT结合了组织工程、材料科学和细胞生物学，是一种通过生物医学工程手段构建的三维功能性心肌组织，旨在模拟天然心脏的结构与生理功能。2002年，ZIMMERMANN等[35]首次报道利用胶原支架包裹CMs，并通过柔性锚定结构施加机械张力，成功构建具有收缩功能的工程化心脏微组织。该模型通过模拟生理机械应力，促进细胞沿受力方向排列，形成相互连接的三维结构，首次在体外再现了心肌组织的基本收缩功能。同期，由细胞组织形成的三维球体技术也逐渐成熟，主要是通过悬挂滴法或微孔板诱导细胞自发聚集，形成多细胞球体[36]。例如，利用克氏锥虫感染心脏球状体，成功模拟恰加斯病的炎症反应，并筛选出潜在抗寄生虫药物苯硝，验证了球状体在感染性疾病建模中的实用性[36]。

2010年代中期以来，类器官与生物打印技术的兴起显著提升了实验模型对人心脏生理和病理的模拟精度，并为高通量药物筛选与个性化再生医学开辟了新思路[37-39]。2017年，首个96孔板高通量心脏类器官平台问世，该平台通过模拟产后代谢环境和机械负荷，显著提升CMs成熟度，使其电生理特性更接近成年心脏，为大规模药物筛选奠定了基础[37]。



展示从1907年到2025年类器官技术及心脏类器官的发展历程，及相应年份的重要事件和研究进展。

The timeline of the development of organoids and heart organoids spans from 1907 to 2025, marking significant events and research advancements for each year.

图1 类器官技术发展历程

Fig.1 Timeline of organoid technology development

两年后, LEE团队[38]利用3D生物打印技术, 以胶原蛋白为支架材料, 构建了类似新生儿的人类左心室结构, 并成功实现了心室收缩时的壁增厚模拟, 证明了生物打印在复现解剖结构中的潜力。同期, NOOR等[39]结合患者hiPSC衍生的CMs和ECs, 利用生物打印技术制备个性化可灌注心脏补片, 其使用网膜组织来源的热响应水凝胶作为生物墨水, 显著降低了免疫原性, 推动了个性化再生医学的发展。

近年来, 心血管类器官在微环境重建与系统整合方面迎来极大发展。2021年, HOFBAUER团队[9]用hiPSCs构建了自组织心脏类器官, 并将其命名为“cardioid”。与EHT等[9]组织工程化技术不同的是, “cardioid”的建立无需外源支架或人工引导, 仅通过调控发育过程中不同的信号通路即实现由hiPSCs自组织分化形成三维心脏微结构, 这项研究首次在体外重现了心脏腔室的自主形成过程。两年后, 该研究团队在前期基础上开发了多腔室心脏类器官平台, 成功分化出具有左右心室、心房、流出道和房室管等分区的心脏类器官[40]。此外, 以XAVIER为代表的研究团队[41]将血管类器官与微流控系统融合, 首次在体外构建出具备完整动脉–毛细血管–静脉结构的血管网络, 并成功实现生理性灌流。这一灌流系统不仅能维持稳定的氧供, 还能模拟剪切应力调控下的ECs响应, 为模拟高血压、动脉粥样硬化等血管相关疾病提供了理想工具[41]。此后, 心血管类器官在疾病建模方面继续推进, 特别是基于患者iPSCs构建的个体化心血管疾病模型日趋成熟——如HINSON团队[42]成功建立了携带*TTN*基因突变的扩张型心肌病(dilated cardiomyopathy, DCM)类器官, 该模型首次将疾病特异性基因变异与类器官功能缺陷直接关联, 为遗传性心肌病的病因研究与药物筛选提供了精准平台。还有研究团队将免疫细胞引入心肌类器官中, 重构心肌炎相关的免疫浸润与细胞因子风暴过程, 为炎症性心血管疾病的机制研究和抗炎治疗策略开发提供可能[43]。

2024年, 人工智能技术开始大规模介入心血管

表1 心血管体外模型分类与特征比较

Table 1 Classification and characteristic comparison of *in vitro* cardiovascular models

模型类型 Model type	传统心肌球体/微组织 Traditional cardiac spheroid/micro-tissue	工程化心脏组织 Engineered heart tissue	心脏类器官 Cardioids	心脏芯片 Heart-on-a-chip
Core definition	Simple 3D aggregates spontaneously formed when cardiomyocytes are cultured in hanging drops or non-adherent wells	Enhanced 3D functional cardiac tissue constructed from cardiomyocytes, matrix, and scaffolds within an engineered environment	3D cardiac micro-architectures generated via self-organization of stem cells, recapitulating embryonic heart development	Microfluidic platform creates a controllable microenvironment for cardiomyocyte cultures
Key characteristics	Simple self-aggregates lacking complex internal architecture; suspension culture	Engineered design with external cues (mechanical stretch, electrical stimulation); quantifiable biomechanical performance; controllable tissue maturation	Self-assembly; recapitulates embryonic cardiac development; endogenous structure formation (e.g.,chambers,compartments); scaffold-free; self-organization	Microfluidic technology integration: dynamic microenvironment control (fluid shear stress); highly integrated sensing; multi-organ interactions; small-scale, moderate throughput
Core technologies/elements	Basic drug screening (simplified model): electrophysiological studies	Tissue engineering (biomaterials, scaffold structures); bioreactors (mechanical conditioning)	Stem-cell biology (precise signaling-pathway regulation)	Organoid technology; microfluidic chip fabrication; on-chip integrated sensing
Application areas	Investigating contractile force and cardiotoxicity of drugs	Cardiotoxicity studies, heart-failure mechanisms, disease modeling	Cardiac development research, congenital heart disease, monogenic disorders; self-organization mechanisms	Investigating cell-cell interactions, pharmacokinetics; high-throughput drug screening
Morphological dimension	3D	3D	3D	Mostly 3D

类器官的功能评价体系。PARK等[44]开发的类器官自动化分析平台，通过高分辨率成像结合深度学习算法，能实时量化心脏类器官的搏动频率、节律一致性、收缩幅度与药物响应，从而替代传统人工观察方式，大幅提升分析效率与标准化程度。此类系统适用于高通量药物筛查平台，为心血管药物的早期毒性识别与剂量反应评估提供技术保障。直至今年，心血管类器官的研究重点逐步转向系统整合与个体化治疗模拟。有研究团队基于心脏类器官模型设计了一种搭载自驱动微机器人和微针的贴片，这种贴片不仅能有效促进血管新生和CMs增殖，还能有效抑制炎症反应和心肌纤维化，显著改善心肌梗死后的左心室功能[45]。也有团队将心脏类器官技术与小型荧光显微镜和芯片技术结合，用于实时监测心脏类器官的钙动态变化[46]。一些前沿研究开始尝试将心肌类器官与免疫细胞、ECs、肝细胞或脂肪细胞共培养，模拟心血管系统在炎症、代谢紊乱甚至远程器官互作过程中的反应特征。例如，类器官被用于研究糖尿病相关心脏病的致病机制，模拟高血糖对心肌电生理与能量代谢的长期影响[47]；另有研究将心脏类器官植入雄性裸鼠体内，实现部分体内灌注与神经支配，初步探索其在再生医学中的应用前景[48]。此外，类器官基因编辑与药物反应数据开始与患者临床表型结合，为个体化药物选择、基因治疗策略制定提供了切实基础。

2 类器官在心血管发育研究中的应用

2.1 心血管发育研究的类器官模型构建

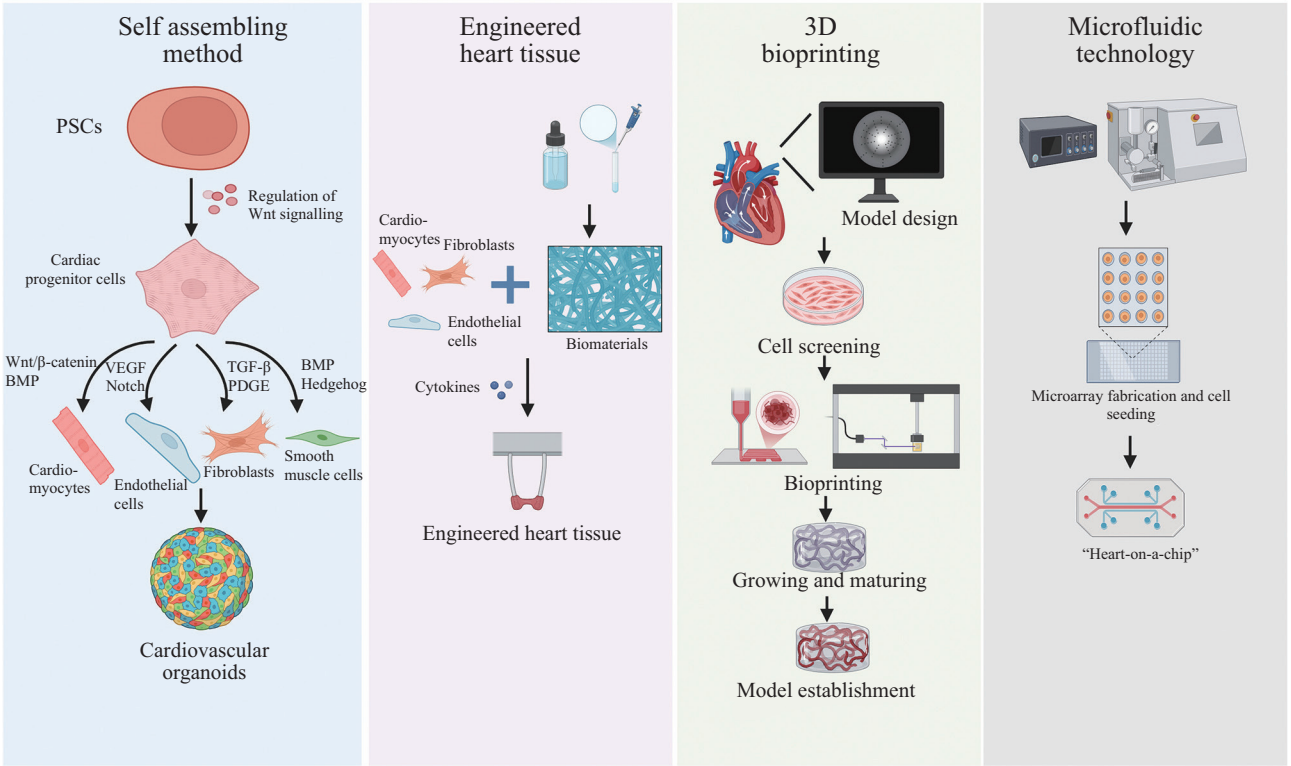
心血管类器官的构建依赖于干细胞定向分化、培养体系构建及生物工程技术的整合，主要包括心脏类器官与血管类器官的构建两大体系。

心脏类器官的构建旨在模拟心脏腔室形成和CMs成熟过程，其细胞来源主要包括hiPSCs和成体干细胞(adult stem cells, ASCs)两类，具体方法包括自组装法、3D打印技术及与器官芯片融合的构建方法等(图2)[36]。第一是自组装构建法。该方法的关键在于可适时、精准地调控与胚胎心脏发育密切相关的Wnt/β-catenin信号通路[36]。如DRAKHLIS等[49]在hiPSC悬浮培养中先以CHIR99021激活Wnt信号，诱导形成中胚层祖细胞，再用IWP-4联合BMP4，抑制非心脏谱系并促进心肌祖细胞分化，14天后即形成包含CMs、ECs和FBs的EBs，呈现类似原始心管的单腔结构，自发搏动频率可达50~90次/分钟。2021年，HOFBAUER团队[9]在《细胞》杂志发表的研究通过优化诱导体系与信号调控网络，提出了具有中空腔室的心脏类器官的自组装培养方法，显著提升了模型的发育模拟精度。该研究在经典Wnt通路调控的基础上，创新性引入成纤维细胞生长因子4(fibroblast growth factor 4, FGF4)与层粘连蛋白–内肌动蛋白复合物，通过激活FGF/MAPK信号轴与细胞外基质锚定作用，可定向促进心室样结构分化，使CMs表达连接蛋白Cx43，显著提升了电信号转导的同步性。单细胞测序显示，该模型中起搏样细胞富集HCN4离子通道基因表达，为解析心脏传导系统的早期发育提供了分子证据[9]。两年后，该团队在原先基础上优化了培养方案，成功构建了多腔室心脏类器官[40]。在细胞分化诱导流程上，他们将Wnt信号激活时间从原来的48小时缩短至36小时，同时配合BMP信号强度的微调，显著提升了不同心脏分区细胞分化的特异性与效率；在培养体系方面，团队还对培养基成分进行了优化，添加了多种新型生长因子与小分子化合物，有效促进了心脏类器官各分区的形态发育与功能成熟[40]。然而临床转化亟需高通量、低成本的类器官平台。基于此，2024年POMPILIO团队[50]的研究通过对微孔直径和培养底物刚度的联合调控，结合Wnt通路小分子诱导分化，开发了基于微孔板的标准化培养系统，单个30 mm 培养皿可并行生成约150个类器官，且无需预分化细胞或复杂组装步骤，显著降低了时间和成本。

新兴的3D打印技术是将生物材料和细胞混合后打印成具有特定形状和结构的心脏组织[39]。2019年，以色列特拉维夫大学研究团队[39]首次利用患者自体组织成功3D打印出全球首颗具备细胞、血管、心室和心房的约樱桃大小的心脏类器官。具体操作包括从患者脂肪组织分离细胞与细胞外基质，将细胞重编程为hiPSC，再分化为CMs和ECs，与基质加工的水凝胶混合形成“生物墨水”进而通过高精度3D打印逐层构建含血管网络的心脏解剖结构。这项研究首次实现心室、心房与血管的整合，为器官移植供体短缺等问题提供了解决思路[39]。此外，也有学者通过冠状动脉灌注系统，将iPSC-CM植入脱细胞支架的血管网络中，在生物反应器中模拟生理环境，成功构建了具有结构与功能活性的心脏移植物。在类器官芯片技术方面，东南大学梁戈玉教授和陈早

早研究员团队[52]将自组织获得的心脏类器官接种到Matrigel包被的芯片膜上, 通过摇臂平台产生双向流体剪切力实现对组织界面和流体剪切力的精确控制, 从而构建了心脏类器官芯片(cardiac organoid on a chip, COoC), 成功实现了对人体心脏的生理与病理环境的高仿真模拟, 为心脏疾病建模与药物筛选开辟了高仿真、高通量的技术路径。

血管类器官构建则聚焦于精准重建血管内皮层、平滑肌层和基底膜的分层结构, 旨在模拟血管生理功能。经典的方法包括MEIJER团队[53]研发的将hiPSC分化的内皮祖细胞与平滑肌细胞按2:1比例接种于基质胶或合成水凝胶等三维基质中。在成份上, 基质胶源自小鼠肿瘤细胞基底膜提取物, 富含多种细胞外基质成分; 合成水凝胶也即聚乙二醇水凝胶, 理化性质可精确调控[53]。接种后添加血管内皮生长因子A(vascular endothelial growth factor A, VEGF-A)诱导血管出芽。VEGF-A与ECs表面VEGFR受体结合, 激活PI3K-Akt、ERK等信号通路, 促进ECs增殖、迁移和管腔形成。在其刺激下, 内皮祖细胞增殖迁移形成血管出芽结构, 平滑肌细胞迁移至管腔周围包裹支持, 最终形成可灌注毛细血管类器官网络[53]。此外, 也有团队利用微流控芯片, 通过施加合适的剪切应力, 模拟体内血流对血管壁的作用力, 诱导ECs排列成管腔状, 表面紧密连接蛋白ZO-1表达上调, 增强屏障功能; 平滑肌细胞围绕内皮管腔螺旋包裹, 表达成熟收缩蛋白SM22a, 构建的血管类器官对乙酰胆碱舒张反应与体内血管吻合度达89%[41]。3D生物打印技术进一步为血管类器官构建带来突破, 可精准控制血管几何形态。以明胶甲基丙烯酰酯为例, 其生物相容性和可打印性良好。将其与细胞混合制成生物墨水, 用3D打印机可打印出内径50~1 000 μm的血管导管, 实现ECs在内侧连续分布、平滑肌细胞在外侧有序排列。打印后的血管类器官经培养, 平滑肌细胞表达更多成熟收缩蛋白, 如α-平滑肌肌动蛋白和肌球蛋白重链, 具备更强收缩舒张功能, 为研究血管发育、血流动力学及开发血管修复材料提供了理想的平台[54]。



心血管体外研究模型的不同构建方法及其流程, 主要包括自组装法、工程化心脏组织、3D生物打印和微流控技术。

Different construction methods and workflows for *in vitro* cardiovascular research models, mainly including self-assembly, engineered heart tissues, 3D bioprinting and microfluidics.

图2 心血管体外研究模型的构建方法

Fig.2 Construction methods for *in vitro* cardiovascular research models

2.2 类器官模拟心血管发育过程

心血管系统的发育是一个在时空上高度精密调控的生物学过程，涉及多种细胞谱系的动态分化与组织结构的逐步建立[55]。心脏作为胚胎最早形成的功能器官之一，其发育起始于受精后约14天形成的原始条，其中的原条细胞在迁移过程中逐步形成脏壁中胚层，并分化出心脏祖细胞。心脏祖细胞向两侧迁移并融合，形成心前体中胚层，最终形成一对心内膜管并于第21天融合形成心管[55]。此后，心管开始搏动并承担原始血液循环任务，逐渐发育为具有四腔结构的成熟心脏。在整个过程中，第一心区(first heart field, FHF)主要衍生出左心室和部分心房，第二心区(second heart field, SHF)则参与右心室、出流道及心内膜层的形成。该过程受到多条信号通路协同调控，其中WNT、VEGF、TGF-β等通路参与调控诱导、极化与成熟等多个关键过程[56]。

在模拟心脏发育的体外模型中，传统二维培养体系生成的hiPSC-CMs通常表现出功能不成熟、细胞类型单一等局限，难以再现心脏多谱系协同分化与三维空间结构[36]。心脏类器官的诱导分化依赖于模拟胚胎心脏发育过程中细胞命运和形态发生等所需的关键环境因素，进而自组装形成包含CMs、ECs、心脏成纤维细胞(cardiac fibroblasts, CFs)、血管平滑肌细胞(smooth muscle cells, SMCs)等多种细胞谱系的三维结构，目前已能部分模拟人类胚胎期心脏的分化过程与形态建构特征，故常被用于研究胚胎心脏的发育过程[36]。迄今为止，已有许多学者从不同维度揭示其发育特征与机制。如DRAKHLIS等[49]率先观察到心脏类器官中腔结构的形成，成功模拟中胚层体腔、前肠腔与血管腔的生成过程。通过类器官呈现FHF与SHF祖细胞的空间分布，该团队发现其心脏谱系形态变化与E7.5~E8.5天的小鼠胚胎心脏发育高度契合[49]。在分子机制方面，HOFBAUER等[9]发现心脏类器官内多个小腔从第2.5天起逐步融合为大腔，并证实HAND1在腔室结构形成中的必要性，为解析中胚层体腔发育的分子机制提供重要依据。ROSSI团队[57]在类器官分化的第4至第7天，利用单细胞RNA测序识别出多达32种不同细胞类型，涵盖了三胚层来源的多种细胞及CMs谱系。RNA velocity分析进一步揭示了类器官内部关键发育基因的动态表达轨迹，清晰展示了心脏发育过程中的转录变化路径。另一项研究通过模拟子宫内妊娠环境，采用四种发育诱导方法培养类器官，其中EMM2/1法通过添加脂肪酸、激素混合物、维生素C等成分来模拟体内环境，成功诱导形成具有心房和心室腔、心外膜前体器官的心脏类器官，并通过视黄酸梯度实现前后轴模式化，在转录和形态上与6~10周人类胚胎心脏高度相似[58]。在心脏早期发育过程中，血管化是至关重要的一环。它确保了心脏能够获得充足的氧气和营养，从而实现了快速生长和功能成熟[59]。冠状血管主要由窦房静脉和心内膜来源的ECs分化形成，分别响应心外膜和心肌内的信号，重塑成动脉、毛细血管和静脉。在今年一项新的研究中，WU等[59]利用hPSCs通过几何微图案化技术模拟了人类心脏早期发育阶段的血管化过程[59]，成功创建了包含CMs、心内膜、心外膜细胞、神经细胞在内等多种细胞类型的心脏血管化类器官(cardiac vascularized organoids, cVOs)，它能够模拟人类胚胎发育早期的血管生成过程，并且在结构和功能上与胚胎心脏相似。

在类器官中模拟心血管发育机制时，信号通路之间的相互协同至关重要[49]。WNT信号在早期中胚层形成中起主导作用，其激活诱导MESP1、EOMES等转录因子表达，是心脏谱系分化的起点。在进入心肌分化阶段后，WNT信号需被抑制以促进*TNNT2*、*ACTN2*等基因表达，从而推动CMs成熟[9]。BMP与Activin/Nodal信号则在心原基建立阶段协同WNT，刺激NKX2.5等转录因子活性，决定CMs命运[60]。而在SHF分化和右心室形成过程中，FGF8被证实起关键作用[61]。VEGF信号通路则专注于诱导KDR^+中胚层细胞向ECs转化，是形成心内膜与血管结构的核心信号。添加VEGF可有效增强类器官中的$CD31^+$ECs密度与网络构建能力[62]。RA信号呈现空间梯度分布，调控心室左–右极化，是决定心脏腔室空间定位的重要因子[63]。此外，LEFTY-PITX2轴控制左右不对称发育，其缺陷常见于异位心脏与先天性心脏缺陷模型[64]。

迄今为止，心血管类器官研究虽因心血管系统发育过程复杂性、神经与血管整合困难等方面的不足而不能完全模拟重现原始心管形成、心室腔室分化、心内膜内皮构建等发育阶段，但其在探究心脏发育机制的关键节点上仍取得了诸多进展。随着类器官自组织策略、生物材料支撑系统、电生理调控技术的不断迭代，未来有望构建具有全心腔分区与

血管系统整合的成熟人心脏发育模型, 为揭示人类心血管发育的研究提供重要平台。

3 类器官在心血管疾病研究中的应用

3.1 心血管疾病的类器官模型构建

心血管疾病可大致分为先天性和获得性两类, 并进一步划分为遗传性(基因性)与非遗传性(环境或多因素性)两种[65]。近年来, 类器官技术通过模拟这些疾病的病理特征, 为研究疾病的致病机制和开发治疗方法提供了重要的模型(图3和图4)[36]。

先天性心脏病(congenital heart disease, CHD)是最常见的发育性出生缺陷疾病, 每年约有1%的新生儿受此疾病影响。大约三分之一的先心病患儿具有导致该疾病的相关遗传病因, 8%的CHD则归因于蛋白质编码基因区域的突变[66]。2021年, LEWIS-ISRAELI等[60]首先构建了hiPSC来源的心脏类器官, 其在转录组、结构和细胞水平上与人类胎儿心脏组织相似, 具有自主跳动和电生理活动等功能。在此基础上, 他们通过添加适宜浓度的葡萄糖和胰岛素来模拟孕前糖尿病患者的母体环境, 结果发现所诱导的类器官模型表现出形态、电生理活动异常以及代谢功能障碍, 且心外膜和心肌组织的空间排列异常, 重现了孕前糖尿病相关CHD的关键病理特征[60]。两年后, 斯坦福大学KUNDAJE团队[66]通过比较iPSCs分化的心脏细胞与胎儿心脏的染色质差异, 利用scATAC技术绘制了人胚胎期心脏组织的单细胞染色质可及性图谱, 并利用该图谱确定了心脏细胞的多细胞表观基因组和转录图谱, 证实了非编码突变通过干扰转录因子结合调控CHD相关基因的机制。

遗传性心血管疾病通常由特定基因突变引起, 常见的包括编码钾、钠、钙离子通道基因突变导致的遗传性心律失常病, 心肌相关基因突变引起的肥厚型、扩张型心肌病以及毛细血管扩张症等[67]。近年来的研究表明, 对hiPSCs进行基因编辑或利用患者来源的hiPSCs构建携带特定基因突变的心血管类器官, 可以有效地模拟这些疾病的表型[68]。例如, 通过CRISPR/Cas9基因编辑技术, 研究人员可以在hiPSCs中过表达或敲低目的基因, 之后通过流式细胞分选技术, 筛选出基因编辑成功的细胞, 进而构建出具有相应遗传性心血管疾病特征的类器官, 用于后续分子机制层面的探索[69]。如DESAI等[10]利用CRISPR/Cas9技术在iPSCs中引入*MYBPC3*基因缺失突变, 通过悬浮培养构建了具有肥厚型心肌病(hypertrophic cardiomyopathy, HCM)病理特征的心脏类器官。模型显示CMs截面积较野生型增加, 同时收缩力下降, 肌节标志物染色显示Z线断裂、排列紊乱, 转录组分析揭示Wnt/β-catenin信号通路异常激活, 伴随细胞外基质蛋白fibronectin和collagen I表达水平上调, 阐明了心肌纤维化与重构的分子机制[10]。2015年, HINSON团队[42]从携带*TTN*基因突变的患者体内获取hiPSCs, 将其诱导分化为CMs, 并构建心脏类器官, 成功模拟了DCM的病理特征, 进一步阐明了*TTN*基因突变导致DCM的分子机制, 为深入理解DCM的发病机制提供了重要依据。长QT综合征以心室复极延迟为特征, 其类器官模型的运用为心律失常机制研究提供了突破[70]。一项针对KCNH2 p.G628S突变(LQT2型)的研究显示, IKr钾电流密度下降60%, 导致复极延迟, 与临床心电图的QTc延长高度吻合, 利用该模型筛选钾通道开放剂瑞替加滨, 可使APD缩短至280 ms, 验证了其潜在治疗价值[71]。Duchenne型肌营养不良相关心肌病是由*dystrophin*基因缺失引发的X连锁隐性遗传病, 约20%的患者最终进展为心肌病[72]。ERKUT等[72]利用CRISPR/Cas9介导的同源定向修复(homology-directed repair, HDR)技术, 纠正患者iPSCs中的*dystrophin*基因外显子45缺失突变。修复后的iPSC衍生CMs与FBs、ECs共培养形成自组装心脏类器官, 免疫荧光显示抗肌萎缩蛋白重新表达于细胞膜, 表达水平达野生型的85%[72]。力学分析显示, 类器官收缩力及钙瞬变频率都有不同程度的恢复。该研究首次证实, 仅需50%的CMs基因修复即可完全恢复类器官功能, 为单轮基因治疗的临床转化提供了关键依据[72]。

获得性心血管疾病是指出生后由于环境因素、生活方式、感染、代谢异常等后天因素引起的心血管系统疾病, 这类疾病占心血管疾病的绝大多数, 严重威胁人类健康, 其发病机制复杂, 常与年龄、高血压、高血脂、糖尿病、吸烟、肥胖等危险因素密切相关[67]。现有的类器官技术虽不能模拟这些复杂诱因致病的具体过程, 但有许多已报道的类器官建模方法通过模拟体内病理微环境——如缺血、氧化应激、机械负荷等, 为解析疾病机制与干预策略提供了动态研究平台[33]。以心肌梗死(myocardial infarction, MI)为例, VOGES等[73]通过冰冻损伤技术在人类心脏类器官中模拟了缺血–再灌注损伤, 损

伤区域24小时内即出现CMs的大量凋亡，cTnT释放增加约5倍，72小时后FBs活化并分泌I型胶原形成纤维化病灶，而外源性激活Hippo信号通路可显著促进心肌前体细胞增殖，这一研究为促进心梗修复提供了新方向[73]。此外，纽约大学MEI团队[74]利用氧气扩散梯度和去甲肾上腺素刺激人心脏类器官模型，模拟心肌梗死后的梗死区、边界区和远隔区结构，在转录组、结构和功能水平上重现了MI的病理特征，如病理性代谢转变、纤维化和钙处理异常(图3)。2024年，SONG等[75]利用TGF-β1诱导纤维化，首次在心脏类器官中模拟出急性心梗从缺血损伤到纤维化的完整病理过程。在动脉粥样硬化的建模中，KONG团队[76]将iPSCs诱导生成的血管类器官(blood vessel organoid, BVO)转移到低附着的6孔板中，并在70 r/min的旋转条件下培养，以模拟动脉粥样硬化过程中血管ECs受到的剪切应力。在后续培养中该团队引入单核细胞与类器官共培养，模拟单核细胞向血管ECs的浸润过程，结果发现BVOs表现出炎症反应，包括ECs表达的黏附分子增加，以及促炎细胞因子的表达上调。随着病变的进展，BVOs中还观察到纤维帽的形成和钙化现象，这与动脉粥样硬化的临床特征类似。针对糖尿病心肌病，WANG等[77]通过使用高葡萄糖联合棕榈酸的处理方法，在类器官模型中复现了CMs葡萄糖摄取率下降、甘油三酯异常沉积及线粒体膜电位降低等能量代谢紊乱表型[77]。进一步的研究表明，过氧化物酶体增殖物激活受体γ(peroxisome proliferator-activated receptor gamma, PPARγ)过表达可显著改善线粒体功能，为糖尿病心肌损伤的代谢干预策略提供了新方向。在近年由冠状病毒引发的相关心肌损伤研究中，有学者首先使用FGF2、BMP4、维甲酸等因子诱导hiPSC分化为心脏类器官，随后将其与SARS-CoV-2共孵育[78]。结果观察到病毒蛋白与CMs标记物TNNT2和ECs标记物CD31的共定位，GO富集分析显示感染冠状病毒的类器官中与心肌收缩、ECs损伤和炎症反应相关的基因表达上调，这为研究冠状病毒感染引起的心肌损伤机制提供了一个有效的体外模型[78]。

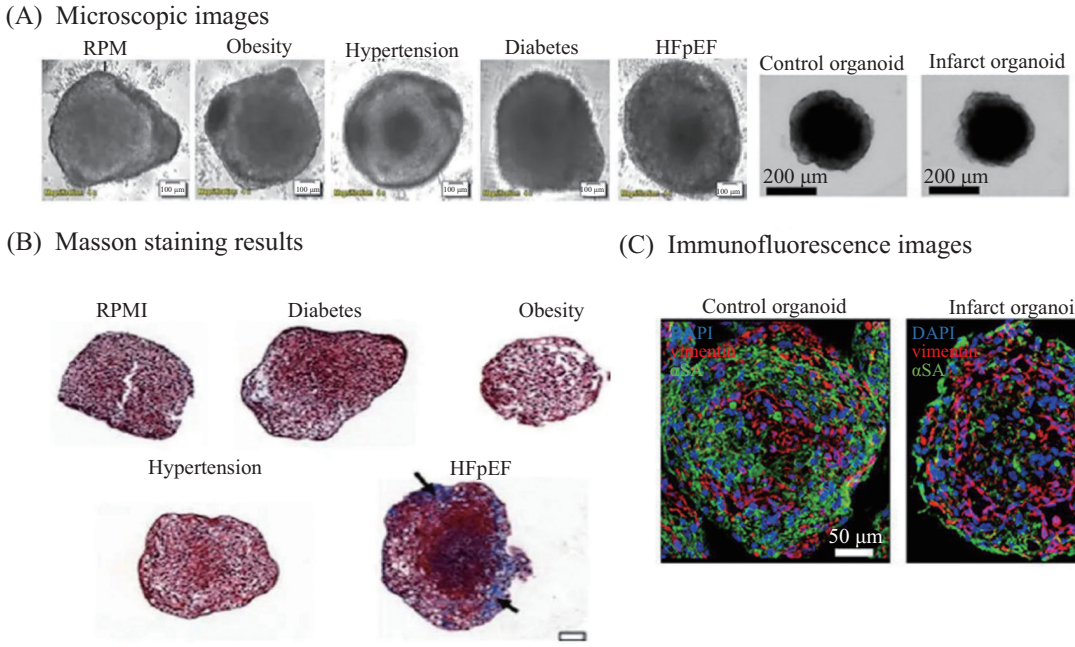
近几年，随着人工智能技术的广泛运用，已有研究将其与类器官模型相结合，为心脏疾病的研究提供了新方法。如AU YEUNG等[79]结合转录组学和机器学习方法，利用心脏类器官模型鉴定了52种与结构性心脏毒性相关的潜在生物标志物，推动了心血管药物及疾病机制的研究。今年四月，中国科学院王树团队[80]成功构建了具有复杂结构和细胞多样性的3D心脏炎症类器官模型，并开发了一种基于AI的炎症定量评估方法，并设计了能够提高内源性ATP和NADPH水平的治疗系统CM-PBF/NTUs，用于改善心脏炎症类器官的能量代谢紊乱[81]。这为研究炎症在心血管疾病中的作用机制提供了新的技术支持。

3.2 药物筛选与毒性测试

类器官技术凭借其模拟体内组织微环境的能力及规模化培养的特性，为心血管药物的高通量筛选提供了创新性平台(图4)[12]。通过整合自动化成像、微流控技术与功能组学分析，该平台可在单细胞至组织水平对候选化合物进行多参数动态评估，显著提升了药物研发的效率与准确性。

在心力衰竭治疗药物研发中，EHT模型是参与药物筛选的核心工具。TIBURCY等[83]利用悬浮培养的CMs与FBs共体系构建EHT，通过微力传感器实时监测组织收缩力及钙瞬变动力学参数，该团队从1 000种小分子化合物库中筛选出Wnt通路激动剂SKL2001，同步钙成像显示该化合物通过增强肌浆网钙释放通道活性显著改善了EHT整体收缩功能。单细胞RNA测序结果进一步证实，SKL2001通过上调心肌特异性基因*MYH7*和*TNNC1*的表达，促进CMs向成熟表型分化。对于抗肿瘤药物的心脏毒性早期筛查，3D心脏微组织模型展现出多细胞协同评估的优势。ARCHER等[84]构建的CMs-ECs-FBs三元共培养模型，可同步监测药物对多细胞组分的毒性效应。以阿霉素为例，该模型通过ATP生物发光检测显示，10 nmol/L阿霉素处理72小时可导致线粒体膜电位下降50%、葡萄糖调节蛋白表达水平升高2.5 倍，同时细胞内ATP水平降低40%。借助自动化高内涵成像系统，研究团队建立了包含12项形态学与功能学参数的毒性评分体系，成功区分出具有潜在心脏毒性的化合物与安全化合物，其预测准确率较传统2D模型提升68%[85]。

在离子通道靶向药物开发领域，心脏类器官芯片技术实现了电生理表型的高通量分析。如VISONE等[86]开发的一个名为“uHeart”的微生理模型，用于评估药物引起的心律失常事件。他们将iPSC-CMs和皮肤FBs嵌入纤维蛋白中，通过机械训练实现心脏微组织的同步收缩。uHeart平台通过集成的电



A: 显微结构图, 不同疾病建模(从左至右分别: 对照、肥胖症、高血压、糖尿病型心肌病、射血分数保留型心力衰竭/对照、心肌梗死)中心脏类器官的显微结构[82]; B: Masson染色图, 不同疾病建模(从左至右分别: 对照、肥胖症、高血压、糖尿病型心肌病、射血分数保留型心力衰竭)中心脏类器官的马松染色图(红: 肌肉组织; 蓝: 胶原纤维)[82]; C: 免疫荧光图, 对照组和心梗建模组心脏类器官的免疫荧光染色结果(蓝: 细胞核; 红: 中间丝蛋白; 绿: α-SMA)[74]。

A: microscopy images, cardiac organoid microstructure in disease models (left to right: control, obesity, hypertension, diabetic cardiomyopathy, HFpEF, MI)[82]; B: Masson staining of cardiac organoids (red: muscle; blue: collagen) in control, obesity, hypertension, diabetic cardiomyopathy, and HFpEF; C: the results of immunofluorescence staining of cardiac organoids in myocardial infarction model group (blue: nuclei; red: intermediate filaments; green: α-SMA)[74].

图3 心脏类器官在疾病建模中的病理特征对比(修改自参考文献[74,82])

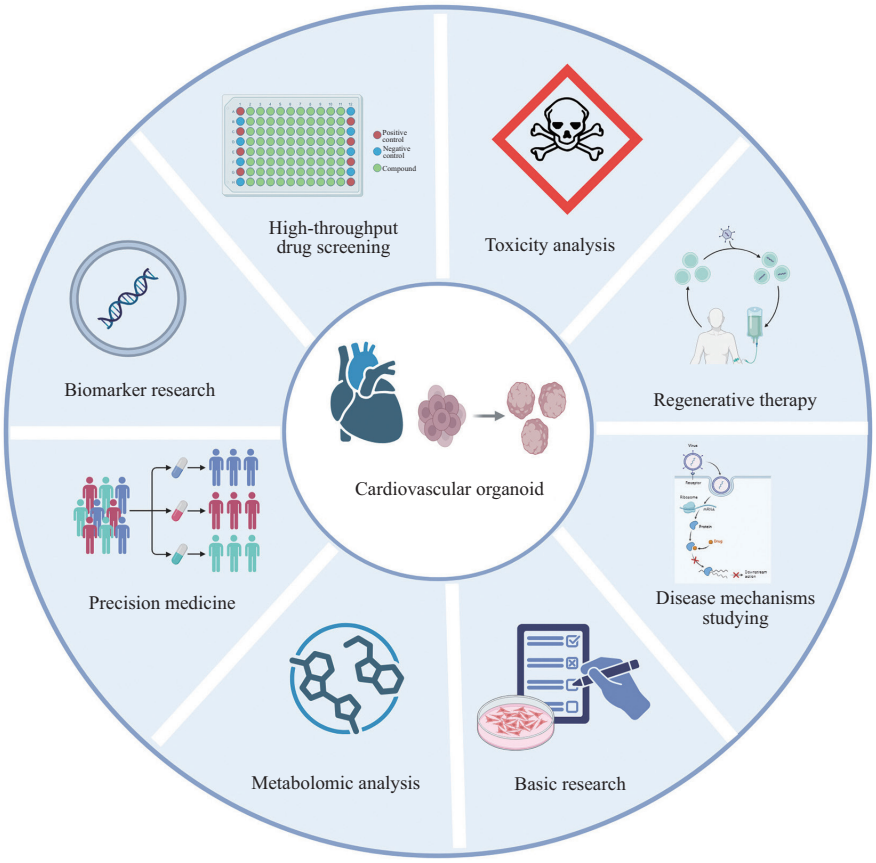
Fig.3 Pathological features of cardiac organoids in disease modeling (adapted from references [74,82])

生理系统记录场电位信号, 能够检测药物对CMs电生理参数的影响, 进而成功预测11种已知化合物可能导致的临床结果, 为药物的心脏毒性研究提供了一个有效的临床前工具[86]。另一种用于高通量药物筛选的心脏芯片通过微流控技术实现了对CMs的精确培养和药物处理, 集成了电极和传感器, 能够实时监测CMs的电生理反应, 包括动作电位、钙离子瞬变和收缩力变化[87]。这种芯片能够快速筛选大量药物, 评估其对心脏离子通道的影响, 为药物开发提供了重要的技术支持。

3.3 再生医学与治疗研究

类器官技术为心血管再生医学提供了多样化的治疗策略(图4)。在组织工程心脏移植领域, 3D生物打印技术成为构建复杂心脏结构的主要方法。2013年, EMMERT团队[88]将iPSC衍生的CMs、ECs和FBs按3:1:1比例混合, 结合明胶甲基丙烯酰酯水凝胶支架, 成功打印出包含仿生血管网络的心脏补片。该补片为厚度约500 μm、内部预制直径50~100 μm的血管通道, 通过ECs预分化实现移植后快速血管化。在猪心肌梗死模型中, 借助经导管电机械标测引导, 将补片精准植入梗死区域。术后4周超声心动图显示, 左心室射血分数从35%提升至约50%[88]。此外, GUYETTE团队[89]利用脱细胞心脏基质作为天然支架, 保留心脏三维纤维结构及生物活性因子, 与患者iPSCs结合构建移植物, 在免疫缺陷小鼠模型中显示, 移植8周后iPSC-CM占比达45%, 并形成自主收缩的心肌束, 极大地解决了供体短缺与免疫排斥的问题。

在心血管组织修复领域, 类器官衍生的细胞疗法展现出显著潜力。传统的细胞移植方法常存在细胞死亡率高、整合成功率低等问题。如2016年, SHIBA等[90]向每只猴子的心脏内移植了4×10^8个iPSC-CMs, 在移植后12周观察到移植细胞在瘢痕区域的占比约16%[90]。此外, 也有研究将间充质干细胞注射至大鼠受损心脏组织, 发现只有约1%~5%的MSC成功整合进梗死区域[91]。2019年, VARZIDEH



心血管类器官在不同领域的应用, 包括药物筛选、药物毒性检测、再生疗法、疾病研究、基础研究、代谢分析、个性化医疗和生物标记物研究等。
The applications of cardiovascular organoids across various fields, including drug screening, drug toxicity testing, regenerative therapy, disease research, basic research, metabolic analysis, personalized medicine, and biomarker research.

图4 心血管类器官的应用领域

Fig.4 Applications of cardiovascular organoids

等[48]第一次将hiPSC衍生的心脏类器官移植入雄性裸鼠的心肌组织。他们利用生物打印技术构建了一个用于固定心脏类器官的两件式篮状结构, 并将其移植入裸鼠心脏中, 四周后检测发现心脏类器官在宿主体内成功存活, 并出现了广泛的新生血管化, CMs的成熟标志物表达水平增加。近年来, 有研究者将纳米线连接的人心脏类器官移植入缺血再灌注(ischemia-reperfusion, I/R)损伤的无胸腺裸鼠心脏中, 观察到7天和28天的移植成功率约为30%, 且纳米线连接的类器官在移植后的裸鼠心脏显示出更高的血管化程度和更厚的左心室壁, 说明心脏功能得到了显著改善[48]。此外, 日本大阪大学团队尝试将hiPSC-CM和人脂肪间充质干细胞(human adipose-derived mesenchymal stem cell, hADSC)按9:1的比例共培养在微米纤维支架形成三维复合心脏类器官, 发现相较于hiPSC-CM的移植, 这种复合组织在结构上厚度更大, 细胞排列更整齐, 细胞外基质沉积更丰富。他们将这种复合心脏类器官移植到大鼠心肌梗死模型的心外膜上, 显著改善了心脏功能, 促进了血管新生, 使得其纤维化及梗死范围显著缩小[51]。

尽管类器官技术在心血管再生医学中的潜力已崭露头角, 但其发展仍面临诸多挑战, 如移植物与宿主心脏整合效率不足、规模化生产的标准化难题及iPSC衍生细胞的致瘤性风险[68]。随着材料科学与人工智能的深度介入, 类器官技术有望在个性化器官移植、缺血性心脏病修复等领域实现临床转化突破, 拓宽心血管再生医学的治疗范围。

4 展望

作为全球主要的致死原因之一, 心血管疾病的高发病率和复杂性促使其医学研究方式的不断更新。类器官技术通过模拟人体器官的结构与功能, 正引领心血管研究从细胞组织层面迈向系统生物学时代。虽然其近年来在模拟心血管发育过程、构建

疾病模型及药物筛选平台方面取得了显著进展, 但目前仍存在诸多制约实验应用和临床转化的关键问题。首先, 当前心脏类器官多停留在模拟早期胚胎阶段的结构与功能, 尚未实现电传导系统、瓣膜组织及完整腔室等复杂解剖结构的准确重建。其电生理成熟度普遍较低, CMs表现出节律不稳定、离子通道表达不足等特征, 限制了其在成人心脏疾病建模中的适用性。其次, 血管类器官构建中动脉与静脉分化效率有限, 灌流能力不足, 难以模拟真实血管的机械感应与剪切应力响应。此外, 现有类器官模型普遍缺乏神经、免疫和内分泌系统的整合, 难以全面重现体内多系统协同调控下的心血管病理生理过程。技术层面上, 构建过程存在较大的批次间变异, 诱导方案不统一, 导致实验重复性较差。同时, 高昂的培养成本、生物材料来源不确定性及伦理争议亦构成了类器官大规模应用的现实障碍。

基于此, 未来类器官技术的发展可聚焦于提升功能成熟度、增强系统整合能力并推动标准化与规模化生产。在功能重建方面, 研究人员可通过调控发育信号通路、引入电/机械刺激、优化三维支架材料等策略, 促进CMs成熟、心室壁增厚、浦肯野网络形成以及电生理同步性增强, 从而促使其功能完整性的提升。血管类器官的优化方向则包括结合微流控系统与生物打印技术, 精确调控基质力学环境和细胞空间分布, 构建具备灌注能力、血管重构响应和免疫屏障功能的三维血管网络。在系统层面, 多器官联合类器官系统的构建将成为研究重点, 如通过模拟“心–肝–免疫”或“心–脑–血管”等多器官轴线的相互作用, 为揭示复杂疾病的多系统发病机制提供体外仿生模型。同时, 未来的研究也可结合单细胞组学、空间转录组学与功能多模态成像等前沿技术, 对类器官内部的细胞异质性、空间结构重建及功能调控网络进行更高维度的系统解析。此外, 自动化培养系统与人工智能辅助成像分析的引入, 将助力建立类器官构建与功能评价的统一指标体系, 提升实验可重复性与数据可比性, 为其在临床前研究中的应用打下基础。此外, 开发合成、可控、无动物来源的支架材料, 有望降低成本并解决伦理争议, 从而提升类器官技术在全球范围内的普及。

总体来看, 类器官技术正处于由实验探索向临床转化过渡的关键阶段。未来, 伴随干细胞生物学、合成生物学、生物材料科学、人工智能与系统生物学的深度融合, 心血管类器官有望实现从结构重建到功能重构的跨越, 成为揭示疾病机制、筛选个体化疗法、开发再生治疗方案的重要支撑平台, 最终推动精准心血管医学迈入新时代。

参考文献 (References)

[1] ISATH A, KOZIOL K J, MARTINEZ M W, et al. Exercise and cardiovascular health: a state-of-the-art review [J]. Prog Cardiovasc Dis, 2023, 79: 44-52.

[2] TAN C M J, LEWANDOWSKI A J. The transitional heart: from early embryonic and fetal development to neonatal life [J]. Fetal Diagn Ther, 2020, 47(5): 373-86.

[3] PERMAN S M, ELMER J, MACIEL C B, et al. 2023 american heart association focused update on adult advanced cardiovascular life support: an update to the american heart association guidelines for cardiopulmonary resuscitation and emergency cardiovascular care [J]. Circulation, 2024, 149(5): e254-e73.

[4] 《中国心血管健康与疾病报告》2023(冠心病部分内容)[J]. 心肺血管病杂志(Chinese Cardiovascular Health and Disease Report 2023 (Section on Coronary Heart Disease) [J]. J Cardiovasc Pulm Dis), 2024, 43(10): 1015-24.

[5] RHEINWALD J G, GREEN H. Formation of a keratinizing epithelium in culture by a cloned cell line derived from a teratoma [J]. Cell, 1975, 6(3): 317-30.

[6] SATO T, VRIES R G, SNIPPERT H J, et al. Single lgr5 stem cells build crypt-villus structures *in vitro* without a mesenchymal niche [J]. Nature, 2009, 459(7244): 262-5.

[7] EIRAKU M, TAKATA N, ISHIBASHI H, et al. Self-organizing optic-cup morphogenesis in three-dimensional culture [J]. Nature, 2011, 472(7341): 51-6.

[8] HSIA G S P, ESPOSITO J, DA ROCHA L A, et al. Clinical application of human induced pluripotent stem cell-derived organoids as an alternative to organ transplantation [J]. Stem Cells Int, 2021, 2021: 6632160.

[9] HOFBAUER P, JAHNEL S M, PAPAI N, et al. Cardioids reveal self-organizing principles of human cardiogenesis [J]. Cell, 2021, 184(12): 3299-317,e22.

[10] DESAI D, SONG T, SINGH R R, et al. Mybpc3 d389v variant induces hypercontractility in cardiac organoids [J]. bioRxiv, 2024, doi: 10.3390/cells13221913.

[11] LANCASTER M A, KNOBLICH J A. Organogenesis in a dish: modeling development and disease using organoid technologies [J]. Science, 2014, 345(6194): 1247125.

[12] KIM J, KOO B K, KNOBLICH J A. Human organoids: model systems for human biology and medicine [J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2020, 21(10): 571-84.

[13] TAO B, LI X, HAO M, et al. Organoid-guided precision medicine: from bench to bedside [J]. Med Comm, 2025, 6(5): e70195.

[14] SCHERER W F, SYVERTON J T, GEY G O. Studies on the propagation *in vitro* of poliomyelitis viruses. Iv. viral multiplication in a stable strain of human malignant epithelial cells (strain hela) derived from an epidermoid carcinoma of the cervix [J]. J Exp Med, 1953, 97(5): 695-710.

[15] BISSELL M J, RIZKI A, MIAN I S. Tissue architecture: the ultimate regulator of breast epithelial function [J]. Curr Opin Cell Biol, 2003, 15(6): 753-62.
[16] EVANS M J, KAUFMAN M H. Establishment in culture of pluripotential cells from mouse embryos [J]. Nature, 1981, 292(5819): 154-6.
[17] THOMSON J A, ITSKOVITZ-ELDOR J, SHAPIRO S S, et al. Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts [J]. Science, 1998, 282(5391): 1145-7.
[18] KLEINMAN H K, MCGARVEY M L, HASSELL J R, et al. Basement membrane complexes with biological activity [J]. Biochemistry, 1986, 25(2): 312-8.
[19] MARTIN G R. Isolation of a pluripotent cell line from early mouse embryos cultured in medium conditioned by teratocarcinoma stem cells [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1981, 78(12): 7634-8.
[20] MULAUDZI P E, ABRAHAMSE H, CROUS A. Insights on three dimensional organoid studies for stem cell therapy in regenerative medicine [J]. Stem Cell Rev Rep, 2024, 20(2): 509-23.
[21] GJOREVSKI N, SACHS N, MANFRIN A, et al. Designer matrices for intestinal stem cell and organoid culture [J]. Nature, 2016, 539(7630): 560-4.
[22] ZHANG T, QIAN C, SONG M, et al. Application prospect of induced pluripotent stem cells in organoids and cell therapy [J]. Int J Mol Sci, 2024, 25(5): 2680.
[23] ZHOU W, FREED C R. Adenoviral gene delivery can reprogram human fibroblasts to induced pluripotent stem cells [J]. Stem Cells, 2009, 27(11): 2667-74.
[24] TAKASATO M, ER P X, CHIU H S, et al. Generation of kidney organoids from human pluripotent stem cells [J]. Nat Protoc, 2016, 11(9): 1681-92.
[25] KOIKE H, IWASAWA K, OUCHI R, et al. Modelling human hepato-biliary-pancreatic organogenesis from the foregut-midgut boundary [J]. Nature, 2019, 574(7776): 112-6.
[26] SOMMER C A, CAPILLA A, MOLINA-ESTEVEZ F J, et al. Modeling apc mutagenesis and familial adenomatous polyposis using human ips cells [J]. PLoS One, 2018, 13(7): e0200657.
[27] IGARASHI R, ODA M, OKADA R, et al. Generation of human adult hepatocyte organoids with metabolic functions [J]. Nature, 2025, 641(8065): 1248-57.
[28] GUO Y, CHEN X, GONG P, et al. The gut-organ-axis concept: advances the application of gut-on-chip technology [J]. Int J Mol Sci, 2023, 24(4): 4089.
[29] TAO T, DENG P, WANG Y, et al. Microengineered multi-organoid system from hipscs to recapitulate human liver-islet axis in normal and type 2 diabetes [J]. Adv Sci, 2022, 9(5): e2103495.
[30] XIANG Y, TANAKA Y, PATTERSON B, et al. Fusion of regionally specified hpsc-derived organoids models human brain development and interneuron migration [J]. Cell Stem Cell, 2017, 21(3): 383-98,e7.
[31] TAKAHASHI K, YAMANAKA S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors [J]. Cell, 2006, 126(4): 663-76.
[32] NARKAR A, WILLARD J M, BLINOVA K. Chronic cardiotoxicity assays using human induced pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes (hipsc-cms) [J]. Int J Mol Sci, 2022, 23(6): 3199.
[33] JIA T, WANG C, HAN Z, et al. Experimental rodent models of cardiovascular diseases [J]. Front Cardiovasc Med, 2020, 7: 588075.
[34] CHENG S, BRENIÈRE-LETUFFE D, AHOLA V, et al. Single-cell rna sequencing reveals maturation trajectory in human pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes in engineered tissues [J]. iScience, 2023, 26(4): 106302.
[35] ZIMMERMANN W H, SCHNEIDERBANGER K, SCHUBERT P, et al. Tissue engineering of a differentiated cardiac muscle construct [J]. Circ Res, 2002, 90(2): 223-30.
[36] DU X, JIA H, CHANG Y, et al. Progress of organoid platform in cardiovascular research [J]. Bioact Mater, 2024, 40: 88-103.
[37] 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-e81.
[38] 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): 482-7.
[39] 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.
[40] SCHMIDT C, DEYETT A, ILMER T, et al. Multi-chamber cardioids unravel human heart development and cardiac defects [J]. Cell, 2023, 186(25): 5587-605,e27.
[41] QUINTARD C, TUBBS E, JONSSON G, et al. A microfluidic platform integrating functional vascularized organoids-on-chip [J]. Nat Commun, 2024, 15(1): 1452.
[42] HINSON J T, CHOPRA A, NAFISSI N, et al. Heart disease. Titin mutations in ips cells define sarcomere insufficiency as a cause of dilated cardiomyopathy [J]. Science, 2015, 349(6251): 982-6.
[43] LV H, HAVARI E, PINTO S, et al. Impaired thymic tolerance to α-myosin directs autoimmunity to the heart in mice and humans [J]. J Clin Invest, 2011, 121(4): 1561-73.
[44] PARK T, KIM T K, HAN Y D, et al. Development of a deep learning based image processing tool for enhanced organoid analysis [J]. Sci Rep, 2023, 13(1): 19841.
[45] WANG F, XU Z, ZHENG F, et al. Cardiac organoid model inspired micro-robot smart patch to treat myocardial infarction [J]. Adv Mater, 2025: e2417327.
[46] TIRGAR P, VIKSTROM A, SEPúLVEDA J M R, et al. Heart-on-a-miniscope: a miniaturized solution for electrophysiological drug screening in cardiac organoids [J]. Small, 2025, 21(6): e2409571.
[47] CONNING-ROWLAND M, CUBBON R M. Molecular mechanisms of diabetic heart disease: insights from transcriptomic technologies [J]. Diab Vasc Dis Res, 2023, 20(6): 14791641231205428.
[48] VARZIDEH F, PAHLAVAN S, ANSARI H, et al. Human cardiomyocytes undergo enhanced maturation in embryonic stem cell-derived organoid transplants [J]. Biomaterials, 2019, 192: 537-50.
[49] DRAKHLIS L, BISWANATH S, FARR C M, et al. Human heart-forming organoids recapitulate early heart and foregut development [J]. Nat Biotechnol, 2021, 39(6): 737-46.
[50] SANTORO R, PIACENTINI L, VAVASSORI C, et al. An in vitro model for cardiac organoid production: the combined role of geometrical confinement and substrate stiffness [J]. Mater Today

Bio, 2025, 31: 101566.
[51] ZHANG J, LI J, QU X, et al. Development of composite functional tissue sheets using hipsc-cms and hadscs to improve the cardiac function after myocardial infarction [J]. Bioact Mater, 2024, 37: 533-48.
[52] ZHANG T, YANG S, GE Y, et al. Unveiling the heart's hidden enemy: dynamic insights into polystyrene nanoplastic-induced cardiotoxicity based on cardiac organoid-on-a-chip [J]. ACS Nano, 2024, 18(45): 31569-85.
[53] MEIJER E M, KOCH S E, VAN DIJK C G M, et al. 3d human ipsc blood vessel organoids as a source of flow-adaptive vascular cells for creating a human-relevant 3d-scaffold based macrovessel model [J]. Adv Biol, 2023, 7(1): e2200137.
[54] CUI H, ZHU W, HUANG Y, et al. *In vitro* and *in vivo* evaluation of 3d bioprinted small-diameter vasculature with smooth muscle and endothelium [J]. Biofabrication, 2019, 12(1): 015004.
[55] HIKSPOORS J, KRUEPUNGA N, MOMMEN G M C, et al. Human cardiac development [J]. Adv Exp Med Biol, 2024, 1441: 3-55.
[56] KIDOKORO H, YONEI-TAMURA S, TAMURA K, et al. The heart tube forms and elongates through dynamic cell rearrangement coordinated with foregut extension [J]. Development, 2018, 145(7): dev152488.
[57] ROSSI G, BROGUIERE N, MIYAMOTO M, et al. Capturing cardiogenesis in gastruloids [J]. Cell Stem Cell, 2021, 28(2): 230-40,e6.
[58] VOLMERT B, KISELEV A, JUHONG A, et al. A patterned human primitive heart organoid model generated by pluripotent stem cell self-organization [J]. Nat Commun, 2023, 14(1): 8245.
[59] ABILEZ O J, YANG H, GUAN Y, et al. Gastruloids enable modeling of the earliest stages of human cardiac and hepatic vascularization [J]. Science, 2025, 388(6751): eadu9375.
[60] LEWIS-ISRAELI Y R, WASSERMAN A H, GABALSKI M A, et al. Self-assembling human heart organoids for the modeling of cardiac development and congenital heart disease [J]. Nat Commun, 2021, 12(1): 5142.
[61] BLACK B L. Transcriptional pathways in second heart field development [J]. Semin Cell Dev Biol, 2007, 18(1): 67-76.
[62] XIN C, ZHU C, JIN Y, et al. Discovering the role of vegf signaling pathway in mesendodermal induction of human embryonic stem cells [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2021, 553: 58-64.
[63] WIESINGER A, BOINK G J J, CHRISTOFFELS V M, et al. Retinoic acid signaling in heart development: application in the differentiation of cardiovascular lineages from human pluripotent stem cells [J]. Stem Cell Reports, 2021, 16(11): 2589-606.
[64] SONG M H, CHOI S C, NOH J M, et al. Lefty-pitx2 signaling pathway is critical for generation of mature and ventricular cardiac organoids in human pluripotent stem cell-derived cardiac mesoderm cells [J]. Biomaterials, 2021, 278: 121133.
[65] ASHLEY E A, HERSHBERGER R E, CALESHU C, et al. Genetics and cardiovascular disease: a policy statement from the american heart association [J]. Circulation, 2012, 126(1): 142-57.
[66] AMEEN M, SUNDARAM L, SHEN M, et al. Integrative single-cell analysis of cardiogenesis identifies developmental trajectories and non-coding mutations in congenital heart disease [J]. Cell, 2022, 185(26): 4937-53,e23.
[67] HOPKINS S, GAJAGOWNI S, QADEER Y, et al. Oral health and cardiovascular disease [J]. Am J Med, 2024, 137(4): 304-7.
[68] NUGRAHA B, BUONO M F, VON BOEHMER L, et al. Human cardiac organoids for disease modeling [J]. Clin Pharmacol Ther, 2019, 105(1): 79-85.
[69] WANG J, ZHANG L, WU G, et al. Correction of a cadasil point mutation using adenine base editors in hipscs and blood vessel organoids [J]. J Genet Genomics, 2024, 51(2): 197-207.
[70] MA D, WEI H, ZHAO Y, et al. Modeling type 3 long qt syndrome with cardiomyocytes derived from patient-specific induced pluripotent stem cells [J]. Int J Cardiol, 2013, 168(6): 5277-86.
[71] YUAN Y C, WANG H, JIANG Z J, et al. Potassium voltage-gated channel subfamily h member 2 (kcnh2) is a promising target for incretin secretagogue therapies [J]. Signal Transduct Target Ther, 2024, 9(1): 207.
[72] ERKUT E, YOKOTA T. Crispr therapeutics for duchenne muscular dystrophy [J]. Int J Mol Sci, 2022, 23(3): 1832.
[73] 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.
[74] RICHARDS D J, LI Y, KERR C M, et al. Human cardiac organoids for the modelling of myocardial infarction and drug cardiotoxicity [J]. Nat Biomed Eng, 2020, 4(4): 446-62.
[75] SONG M, CHOI D B, IM J S, et al. Modeling acute myocardial infarction and cardiac fibrosis using human induced pluripotent stem cell-derived multi-cellular heart organoids [J]. Cell Death Dis, 2024, 15(5): 308.
[76] KONG D, RYU J C, SHIN N, et al. In vitro modeling of atherosclerosis using ipsc-derived blood vessel organoids [J]. Adv Healthc Mater, 2025, 14(1): e2400919.
[77] WANG X, CHEN X X, YU H T, et al. Engineered cardiac tissues: a novel in vitro model to investigate the pathophysiology of mouse diabetic cardiomyopathy [J]. Acta Pharmacol Sin, 2021, 42(6): 932-41.
[78] WANG W, YANG J, KANG P, et al. Direct infection of sars-cov-2 in human ipsc-derived 3d cardiac organoids recapitulates covid-19 myocarditis [J]. Virol Sin, 2023, 38(6): 971-4.
[79] AU YEUNG V P W, OBREZANOVA O, ZHOU J, et al. Computational approaches identify a transcriptomic fingerprint of drug-induced structural cardiotoxicity [J]. Cell Biol Toxicol, 2024, 40(1): 50.
[80] LIN H, CHENG J, ZHU C, et al. Artificial intelligence-enabled quantitative assessment and intervention for heart inflammation model organoids [J]. Angew Chem Int Ed Engl, 2025, 64(25): e202503252.
[81] LIN H, CHENG J, ZHU C, et al. Artificial intelligence-enabled quantitative assessment and intervention for heart inflammation model organoids [J]. Angew Chem Int Ed Engl, 2025: e202503252.
[82] HAIM I R, GRUBER A, KAZMA N, et al. Modeling heart failure with preserved ejection fraction using human induced pluripotent stem cell-derived cardiac organoids [J]. Circ Heart Fail, 2025, 18(3): e011690.
[83] 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): 1832-47.

[84] 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.

[85] EL KHOURY R, RAMIREZ S P, LOYOLA C D, et al. Demonstration of doxorubicin's cardiotoxicity and screening using a 3d bioprinted spheroidal droplet-based system [J]. RSC Adv, 2023, 13(12): 8338-51.

[86] VISONE R, LOZANO-JUAN F, MARZORATI S, et al. Predicting human cardiac qt alterations and pro-arrhythmic effects of compounds with a 3d beating heart-on-chip platform [J]. Toxicol Sci, 2023, 191(1): 47-60.

[87] REN L, ZHOU X, NASIRI R, et al. Combined effects of electric stimulation and microgrooves in cardiac tissue-on-a-chip for drug screening [J]. Small Methods, 2020, 4(10): 2000438.

[88] EMMERT M Y, WOLINT P, WICKBOLDT N, et al. Human stem cell-based three-dimensional microtissues for advanced cardiac cell therapies [J]. Biomaterials, 2013, 34(27): 6339-54.

[89] GUYETTE J P, CHAREST J M, MILLS R W, et al. Bioengineering human myocardium on native extracellular matrix [J]. Circ Res, 2016, 118(1): 56-72.

[90] SHIBA Y, GOMIBUCHI T, SETO T, et al. Allogeneic transplantation of ips cell-derived cardiomyocytes regenerates primate hearts [J]. Nature, 2016, 538(7625): 388-91.

[91] HALE S L, DAI W, DOW J S, et al. Mesenchymal stem cell administration at coronary artery reperfusion in the rat by two delivery routes: a quantitative assessment [J]. Life Sci, 2008, 83(13/14): 511-5.