【基础研究】

基于人源性细胞的酪氨酸激酶抑制剂心脏毒性作用研究

王 明[1,2,3]，赵 琪[4,5]，杨 彬[4,5]，杨 浩[4]，李 华[2,4*]，汪溪洁[1,4,5*]

（1. 江西中医药大学药学院，江西南昌 330004；2. 益诺思生物技术南通有限公司，江苏南通 226100；3. 长三角药物高等研究院高等工程学院，江苏南通 226133；4. 中国医药工业研究总院，上海 201203；5. 上海益诺思生物技术股份有限公司，上海 201203）

摘要：目的 探究酪氨酸激酶抑制剂（tyosine kinase inhihibition，TKI）在人源性细胞中导致心脏毒性的潜在机制。**方法** 采用实时细胞分析技术检测 3 种不同靶点、不同浓度的 TKI 药物拉帕替尼、达沙替尼和奥希替尼对人诱导多功能干细胞分化的心肌细胞（human induced pluripotent stem cell derived cardiomyocytes，hiPSC-CMs）功能性指标的作用；采用全自动膜片钳检测 TKI 药物拉帕替尼、达沙替尼和奥希替尼对人胚肾 HEK293 细胞的人类果蝇相关基因（human ether-a-go-go related gene，HERG）钾通道电流作用。**结果** 与阴性对照组相比，拉帕替尼浓度≥ 10 μmol/L 时可明显抑制 hiPSC-CMs 的搏动信号，hiPSC-CMs 搏动的半数抑制浓度（half maximal inhibitory concentration，IC_{50}）为 7.20 μmol/L，HEK293 细胞 HERG 钾通道电流的 IC_{50} 为 3.92 μmol/L；与阴性对照组相比，达沙替尼浓度为 30 μmol/L 时可明显抑制 hiPSC-CMs 的搏动信号，hiPSC-CMs 搏动的 IC_{50} 为 16.00 μmol/L，HEK293 细胞 HERG 钾通道电流的 IC_{50} 为 12.18 μmol/L；与阴性对照组相比，奥希替尼浓度≥ 3 μmol/L 时可明显抑制 hiPSC-CMs 的搏动信号，hiPSC-CMs 搏动的 IC_{50} 为 2.60 μmol/L，HEK293 细胞 HERG 钾通道电流的 IC_{50} 为 2.06 μmol/L。**结论** 3 种不同靶点的 TKI 药物对 2 种人源性细胞搏动和钾离子通道均有抑制作用，或可为后续人源性心肌细胞的基础研究提供数据支持。

关键词：酪氨酸激酶抑制剂；心脏毒性；人诱导多功能干细胞分化的心肌细胞；HEK293 细胞；实时细胞分析技术；膜片钳技术

中图分类号：R-33 **文献标志码：**A **文章编号：**1672-9188（2026）02-0122-010

引用：王明, 赵琪, 杨彬, 等. 基于人源性细胞的酪氨酸激酶抑制剂心脏毒性作用研究[J]. 世界临床药物, 2026, 47（2）: 122-131.

DOI：10.13683/j.wph.2026.02.003

Research on cardiotoxic effects of tyrosine kinase inhibitors in human-derived cells

WANG Ming[1,2,3], ZHAO Qi[4,5], YANG Bin[4,5], YANG Hao[4], LI Hua[2,4*], WANG Xijie[1,4,5*]

(*1. School of Pharmacy, Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330004, Jiangxi Province, China; 2. InnoStar Bio-tech Nantong Co., Ltd., Nantong 226100, Jiangsu Province, China; 3. Higher Engineering College of Yangtze River Delta Drug Research Institute, Nantong 226133, Jiangsu Province, China; 4. China Pharmaceutical Industry Research Institute, Shanghai 201203, China; 5. Shanghai InnoStar Bio-tech Co., Ltd., Shanghai 201203, China*)

Abstract: ***Objective*** To explore the potential mechanism of cardiotoxicity inducing by tyrosine kinase inhibitors（TKI）in human-derived cells. ***Methods*** Using real-time cell analysis technology to assess the effects of three TKI drugs with different targets and different concentrations-lapatinib, dasatinib and osimertinib-on the functional indicators of human induced pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes（hiPSC-CMs）. Using automated patch clamp technique to investigate the effects of TKI drugs lapatinib, dasatinib and osimertinib on the potassium channel current

收稿日期：2024-05-21

作者简介：王明，研究方向：药物毒理研究。

通信作者：李华，研究员，博士生导师，研究方向：药物毒理研究。

汪溪洁，研究员，博士生导师，研究方向：药物毒理研究。

基金项目：江苏省新药一站式高效非临床评价公共服务平台建设（NO.BM2021002）

of human ether-a-go-go related gene（HERG） in human embryonic kidney HEK293 cells. ***Results*** Compared with the negative control group, lapatinib at concentration≥10 μmol/L significantly inhibit the beating signals of hiPSC-CMs. The half maximal inhibitory concentration（IC_{50}） for the beating of hiPSC-CMs was 7.20 μmol/L, and the IC_{50} for the HERG potassium channel current in HEK293 cells was 3.92 μmol/L. Compared with the negative control group, dasatinib at concentration 30 μmol/L significantly inhibit the beating signal of hiPSC-CMs. The IC_{50} for the beating of hiPSC-CMs was 16.00 μmol/L, and the IC_{50} for the HERG potassium channel current of HEK293 cells was 12.18 μmol/L. Compared with the negative control group, osimertinib at concentration≥3 μmol/L significantly inhibit the beating signal of hiPSC-CMs. The IC_{50} for the beating of hiPSC-CMs was 2.60 μmol/L, and the IC_{50} for the HERG potassium channel current of HEK293 cells was 2.06 μmol/L. ***Conclusion*** Three kinds of TKI drugs with different targets can inhibit the beating and potassium channels of two kinds of human derived cells, providing data support for the subsequent basic research of human cardiomyocytes.

Key words: tyosine kinase inhihibition; cardiotoxicity; human induced pluripotent stem cell derived cardiomyocytes; HEK293 cell; real-time cell analysis technology; patch clamp technique

近年来，随着肿瘤治疗技术不断进步，死亡率逐渐下降，但抗肿瘤药物引发的心脏毒性事件仍严重影响肿瘤患者预后[1]。抗肿瘤药物引起的心脏毒性可分为Ⅰ型和Ⅱ型[2]。Ⅰ型是不可逆的心肌细胞损伤，代表药物有蒽环类药物等；Ⅱ型通常是可逆的心肌损伤，一般由靶向药物引起，代表药物有索拉非尼等[3]。酪氨酸激酶抑制剂（tyosine kinase inhihibition，TKI）作为一种小分子药物，其作用机制是与三磷酸腺苷竞争性结合酪氨酸激酶功能域，从而实现酪氨酸激酶磷酸化，可逆性或不可逆性抑制酪氨酸酶活性，阻断信号转导，进而抑制肿瘤细胞生长[4]。虽然 TKI 较传统蒽环类药物可更好地改善患者预后，且不良反应较少，但临床上仍可见高血压、心力衰竭以及动脉血栓形成等严重不良反应，危及患者生命[5]。因此充分认识了解 TKI 药物的心脏毒性，早期发现、预防和采取针对性治疗，可提高疗效。本研究采用人诱导多功能干细胞分化的心肌细胞（human induced pluripotent stem cell derived cardiomyocytes，hiPSC-CMs）和人类果蝇相关基因（human ether-a-go-go related gene，HERG）钾通道的 HEK293 细胞作为体外试验细胞模型，探究 3 种不同靶点 TKI 药物诱导心脏毒性的风险，为评估心脏毒性风险和临床用药提供参考。

1 材料与方法

1.1 试剂与仪器

人源心肌细胞 - 药筛级（IJ19IO162）购自北京赛贝生物技术有限公司；稳定表达 HERG 钾通道的 HEK293 细胞系（APC092811）购自法国 CREACELL 公司；Novoceell-Cardiomyocytes 心肌细胞（HELP4111）购自南京艾尔普再生医学科技公司；拉帕替尼（HY-50898，100 mg）、奥希替尼（HY-15772，100 mg）以及达沙替尼（HY-10181，100 mg）均购自美国 MedChemExpress 公司；二甲基亚砜（dimethyl sulfoxide，DMSO）（D2650，50 mL）购自美国 Sigma-Aldrich 公司，实时无细胞标记分析仪（CA92121）购自美国艾森生物有限公司；E-Plate Cardio 96 购自美国 Agilent 公司；Nanion Patchliner 4 通道全细胞膜片钳（NPC-NBC-16）、膜片钳放大器（NPC-NBC-16）购自德国 Nation Techologies GmbH 公司。

1.2 方法

1.2.1 细胞准备

从液氮中迅速取出冻存的 hiPSC-CMs，放入 37 ℃恒温水浴锅中，边摇晃边观察，待冻存管内融化只剩一小块冰晶时，转移至生物安全柜中，将细胞转移至含 9 mL 复苏接种完全培养基的离心管中，混

匀细胞后室温条件下 200 *g* 离心 5 min，弃上清，加入适量的复苏接种完全培养基，轻轻吹打，重悬细胞，使用全自动细胞荧光分析仪计数。

取出培养好的 HEK293 细胞，弃去培养液，加入磷酸盐缓冲液清洗 2 次，加入 1 mL 的 Accutsase 消化液，消化至细胞分离，加入 3 mL 含有 G-418 的杜尔贝科改良 Eagle 培养基，终止消化，收集细胞至离心管中，室温条件下 200×*g* 离心 3 min，弃去上清液，加入 1 mL 细胞外液，重悬细胞，转移细胞至细胞槽。

1.2.2 hiPSC-CMs 搏动状态检测

取出包被的 E-Plate Cardio 96 孔板，按照细胞数 3×10^4 个 / 孔的密度加入 100 μL/ 孔的细胞悬液，室温放置 10 min，使细胞均匀沉降到孔板底部，将 E-Plate Cardio 96 孔板放回 RTCA-Cardio 工作站，培养 144 h，分别加入待测药物（拉帕替尼及达沙替尼的浓度均为 0.3、1、3、10 及 30 μmol/L，奥希替尼浓度为 0.1、0.3、1、3 及 10 μmol/L）处理，于二氧化碳培养箱培养 24 h，RTCA Cardio Software 1.0 软件分析记录药物对 hiPSC-CMs 搏动信号和搏动频率的作用，确认 3 种不同靶点 TKI 药物对人源性心肌细胞收缩功能的影响。

1.2.3 HEK293 细胞 HERG 钾通道检测

由 Nanion Patchliner 4 通道全细胞膜片钳工作站的机械臂从细胞槽中吸取细胞悬液至芯片孔中，芯片电阻约为 2×10^6 Ω，Patchliner 工作站完成封接工作，当芯片电极与细胞膜之间封接电阻＞ 1×10^9 Ω，给予负压破膜，形成全细胞记录模式，待破膜稳定及电流稳定后加入相应干预措施，阴性对照组加入 0.3% DMSO 细胞外液，不同药物组分别加入不同浓度的拉帕替尼（1、3、10 及 30 μmol/L）、达沙替尼（5、10、20 及 40 μmol/L）或奥希替尼（0.3、1、3 及 10 μmol/L）。记录 HERG 钾电流，分析药物对 HEK293 细胞 HERG 钾通道的作用，确认 3 种不同靶点 TKI 药物对人源性心肌细胞钾离子通道的影响。HERG 钾通道电流的刺激程序为钳制电压为 −80 mV，去极化到＋ 40 mV，时程为 2 000 ms，然后复极 −30 mV，时程 2 000 ms，见图 1。

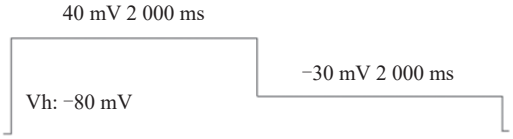


图 1 HERG 电流记录程序

Figure 1 HERG current recording program

1.3 数据分析

使用 RTCA Cardio Software 1.0 软件、Excel 2019、IBM SPSS Statistics 26 以及 Graphad prism 9.0 软件对 RTCA 数据进行统计学分析及作图，数据以（$\bar{x}\pm s$）呈现。RTCA 数据中给药后搏动频率不为 0 视为有效数据，有效数据≥ 3 个进行统计分析。使用 Igor 4.0.0.0、Excel 2019 以及 IBM SPSS Statistics 26 对膜片钳数据进行统计分析，使用 Igor 4.0.0.0 作图，数据以（$\bar{x}\pm s$）表示。阴性对照组电流抑制率：抑制率＝ 100% − $I_{Control}/I_{加样前}\times100\%$；待测药物电流抑制率：抑制率＝ 100% − $I_{待测药物}/I_{Control}\times100\%$。以浓度为横坐标，电流抑制率为纵坐标，用 Hill 方程，即 $I = I_{max}\times\{1/[1+(X_{half}/X)^{rate}]\}$ 拟合得出浓度 - 反应关系曲线，其中，I 为电流强度，I_{max} 为饱和浓度时最大抑制电流强度，X_{half} 为最大抑制一半的药物浓度，X 为药物浓度，rate 为 Hill 系数，半抑制浓度（half inhibitory concentration，IC_{50}）为尾电流被抑制 50% 时的药物浓度。若药物最高浓度对离子通道的抑制率＜ 50%，则根据最高浓度的抑制率推测 IC_{50}，无需拟合浓度 - 反应关系曲线。给药组与阴性对照组相比时，应用单因素方差分析和 *t* 检验进行数据统计，$P\leqslant0.05$ 或 0.01 表示差异具有显著性。

2 结果

2.1 拉帕替尼对 hiPSC-CMs 搏动状态的作用

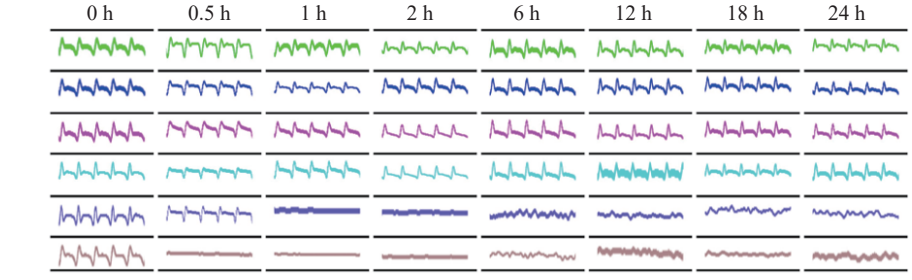
与阴性对照组相比，拉帕替尼浓度≥ 10 μmol/L

时可影响细胞特征性搏动图谱，且具有一定浓度 - 时间依赖性。10 μmol/L 组 hiPSC-CMs 加药后 0.5 h，搏动信号开始减弱，1 h 后搏动信号消失，24 h 未见恢复；30 μmol/L 组 hiPSC-CMs 加药后 0.5 h，搏动信号消失，24 h 未见恢复，见图 2。

与阴性对照组相比，拉帕替尼浓度≥ 1 μmol/L 时，加药后 0.5 h，hiPSC-CMs 的搏动频率可见统计学差异降低，见表 1。拉帕替尼加药 0.5 h 时对细胞搏动频率的 IC_{50} 为 7.20 μmol/L。

2.2 拉帕替尼对 HEK293 细胞 HERG 钾电流作用

阴性对照组对快速激活的延迟整流钾电流（I_{kr}）电流无明显作用。与阴性对照组相比，拉帕替尼浓度≥ 1 μmol/L 时，对 I_{Kr} 的抑制作用有显著差异，见图 3 和表 2；IC_{50} 为 3.92 μmol/L，Hill 系数为 1.06，浓度 - 反应曲线见图 4。



— 阴性对照组；— 0.3 μmol/L组；— 1 μmol/L组；— 3 μmol/L组；— 10 μmol/L组；— 30 μmol/L组。

图 2 拉帕替尼对 hiPSC-CMs 搏动作用图谱
Figure 2 Pulsation map of lapatinib on hiPSC-CMs

表 1 拉帕替尼对 hiPSC-CMs 搏动频率的作用（$\bar{x}\pm s$）
Table 1 The effect of lapatinib on the pulsation frequency against hiPSC-CMs ($\bar{x}\pm s$)

时间	阴性对照组	0.3 μmol/L组	1 μmol/L组	3 μmol/L组	10 μmol/L组	30 μmol/L组
加药前	1.00±0.00	1.00±0.00	1.00±0.00	1.00±0.00	1.00±0.00	1.00±0.00
加药后0.5 h	0.80±0.02	0.74±0.03	0.58±0.01**	0.64±0.03**	0.57±0.06**	0.00±0.00
*P*值	N/A	0.166	0.000	0.001	0.000	N/A
加药后1 h	0.98±0.05	0.99±0.08	0.75±0.03**	0.90±0.05	0.00±0.00	0.00±0.00
*P*值	N/A	0.964	0.003	0.251	N/A	N/A
加药后2 h	1.03±0.07	1.00±0.08	0.83±0.02*	0.57±0.49	0.00±0.00	0.00±0.00
*P*值	N/A	0.781	0.014	N/A	N/A	N/A
加药后6 h	1.04±0.09	0.92±0.05	0.79±0.05**	0.55±0.48	0.00±0.00	0.00±0.00
*P*值	N/A	0.09	0.006	N/A	N/A	N/A
加药后12 h	0.99±0.01	1.02±0.01	0.83±0.04*	0.53±0.45	0.00±0.00	0.00±0.00
*P*值	N/A	0.14	0.049	N/A	N/A	N/A
加药后18 h	0.98±0.03	0.97±0.06	0.85±0.03*	0.59±0.51	0.00±0.00	0.00±0.00
*P*值	N/A	0.957	0.014	N/A	N/A	N/A
加药后24 h	0.94±0.03	0.93±0.01	0.85±0.02**	0.57±0.49	0.00±0.00	0.00±0.00
*P*值	N/A	0.833	0.004	N/A	N/A	N/A

注：与阴性对照组相比，*P<0.05，**P<0.01；N/A为不适用。
Note: vs. the negative control group, *P<0.05, **P<0.01; N/A is not application.

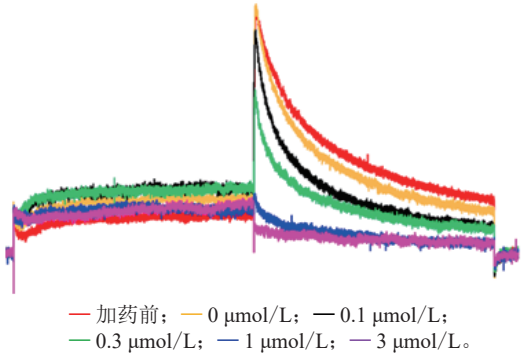
表 2 拉帕替尼浓度对 I_{kr} 的抑制率（$\bar{x}\pm s$，单位：%）

Table 2 Inhibition rate of I_{kr} by lapatinib concentration ($\bar{x}\pm s$, unit: %)

组别	抑制率	*P*值
阴性对照组	1.72±2.46	–
1 μmol/L组	15.80±5.41*	0.029
3 μmol/L组	45.21±8.83**	<0.001
10 μmol/L组	74.84±6.89**	<0.001
30 μmol/L组	85.20±4.39**	<0.001

注：与阴性对照组相比，*P<0.05，**P<0.01。

Note: vs. the negative control group, *P<0.05, **P<0.01.



加药前；0 μmol/L；0.1 μmol/L；0.3 μmol/L；1 μmol/L；3 μmol/L。

图 3 拉帕替尼对 I_{kr} 的阻断

Figure 3 Blockade of I_{kr} by lapatinib

2.3 达沙替尼对 hiPSC-CMs 搏动状态的作用

与阴性对照组相比，达沙替尼浓度为 30 μmol/L 时，加药后 0.5 h，hiPSC-CMs 搏动信号消失，加药后 12 h 有恢复趋势，见图 5。

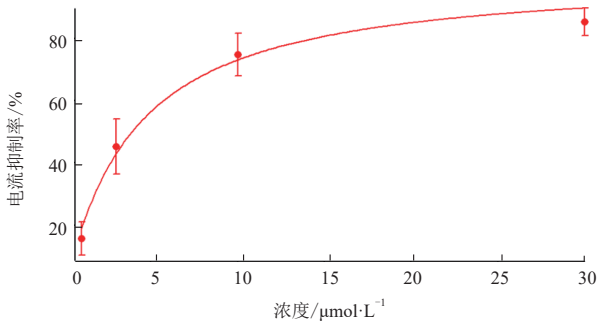


图 4 拉帕替尼抑制 HERG 钾通道的浓度 - 反应曲线（$\bar{x}\pm s$）

Figure 4 Concentration-response curves of lapatinib inhibition of HERG potassium channels ($\bar{x}\pm s$)

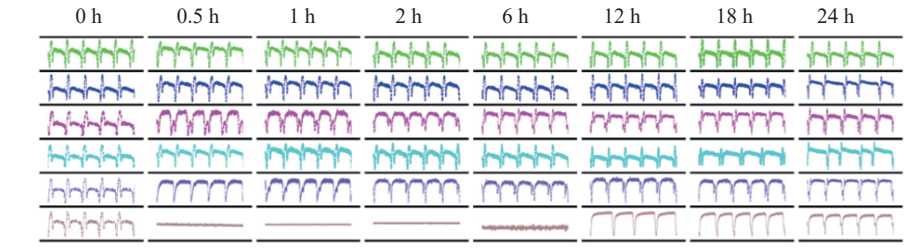
与阴性对照组相比，达沙替尼浓度≥ 0.3 μmol/L 时，加药后 0.5 h，hiPSC-CMs 的细胞搏动频率可见统计学差异降低，见表 3。达沙替尼加药 0.5 h 时，对细胞搏动频率的 IC_{50} 为 16.00 μmol/L。

2.4 达沙替尼对 HEK293 细胞 HERG 钾电流作用

阴性对照组对 I_{Kr} 无明显作用。与阴性对照组相比，达沙替尼≥ 5 μmol/L 时，对 I_{Kr} 的抑制作用有显著差异，见图 6、表 4，IC_{50} 为 12.18 μmol/L，Hill 系数为 1.40，浓度 - 反应曲线见图 7。

2.5 奥希替尼对 hiPSC-CMs 搏动状态的作用

与阴性对照组相比，奥希替尼浓度≥ 3 μmol/L 时影响细胞特征性搏动图谱，且具有一定浓度 - 时间依赖性。与阴性对照组相比，奥希替尼浓度为



阴性对照组；0.3 μmol/L组；1 μmol/L组；3 μmol/L组；10 μmol/L组；30 μmol/L组。

图 5 达沙替尼对 hiPSC-CMs 搏动作用图谱

Figure 5 Dasatinib pulse spectrum of hiPSC-CMs

表 3 达沙替尼对 hiPSC-CMs 搏动频率的作用（$\bar{x}\pm s$）

Table 3 The effect of dasatinib on the beating frequency of hiPSC-CMs（$\bar{x}\pm s$）

时间点	阴性对照组	0.3 μmol/L组	1 μmol/L组	3 μmol/L组	10 μmol/L组	30 μmol/L组
加药前	1.00±0.00	1.00±0.00	1.00±0.00	1.00±0.00	1.00±0.00	1.00±0.00
加药后0.5 h	1.21±0.02	1.04±0.05**	1.65±0.02**	1.09±0.06**	0.87±0.01**	0.00±0.00
*P*值	N/A	0.001	＜0.001	0.008	＜0.001	N/A
加药后1 h	2.30±0.05	1.80±0.10**	2.31±0.05	2.06±0.06**	1.34±0.03**	0.00±0.00
*P*值	N/A	＜0.001	0.999	0.003	＜0.001	N/A
加药后2 h	2.23±0.03	2.59±0.04**	2.50±0.04**	1.98±0.07**	1.73±0.07**	0.00±0.00
*P*值	N/A	＜0.001	＜0.001	＜0.001	＜0.001	N/A
加药后6 h	1.96±0.02	2.40±0.05**	1.93±0.05	2.00±0.08	1.95±0.04	0.00±0.00
*P*值	N/A	＜0.001	0.903	0.717	1.000	N/A
加药后12 h	2.08±0.03	2.00±0.11	1.53±0.07*	1.65±0.03**	1.48±0.13**	0.17±0.00**
*P*值	N/A	0.860	0.015	＜0.001	0.060	0.000
加药后18 h	2.20±0.07	1.96±0.05**	1.61±0.03**	1.45±0.03**	1.60±0.05**	0.22±0.01**
*P*值	N/A	0.002	＜0.001	＜0.001	＜0.001	＜0.001
加药后24 h	2.24±0.01	2.03±0.07	1.39±0.03**	1.58±0.02**	1.60±0.05**	0.20±0.01**
*P*值	N/A	0.164	0.001	＜0.001	0.007	0.000

注：与阴性对照组相比，*P＜0.05，**P＜0.01；N/A为不适用。

Note: vs. the negative control group, *P＜0.05, **P＜0.01; N/A is not application.

表 4 不同浓度达沙替尼对 I_{kr} 的抑制率（$\bar{x}\pm s$，单位：%）

Table 4 Inhibition rate of I_{kr} by different concentrations of dasatinib（$\bar{x}\pm s$, unit: %）

组别	抑制率	*P*值
阴性对照组	−2.14±3.09	N/A
5 μmol/L组	21.42±8 .43*	0.022
10 μmol/L组	43.68±14.33**	＜0.001
20 μmol/L组	67.65±12.01**	＜0.001
40 μmol/L组	82.66±11.38**	＜0.001

注：与阴性对照组相比，*P＜0.05，**P＜0.01；N/A为不适用。

Note: vs. the negative control group, *P＜0.05, **P＜0.01; N/A is not application.

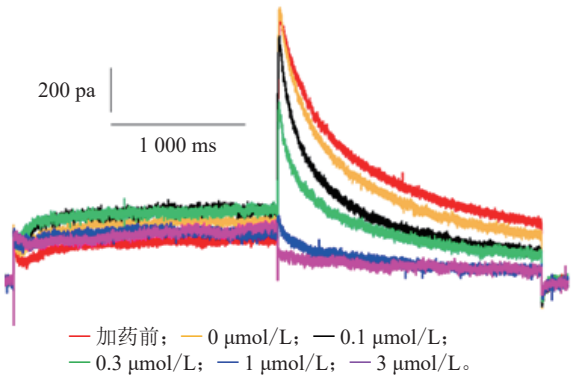


图 6 不同浓度达沙替尼对 I_{kr} 的阻断作用

Figure 6 The blocking effect of different concentrations of dasatinib on I_{kr}

3 μmol/L 时，加药后 0.5 h，hiPSC-CMs 搏动信号消失，加药后 18 h 有恢复趋势；浓度为 10 μmol/L 时，加药后 0.5 h，细胞搏动信号消失，24 h 未见恢复，见图 8。

与阴性对照组相比，奥希替尼浓度≤ 0.3 μmol/L 时，加药后 0.5 h，hiPSC-CMs 的整体搏动频率有升高趋势，提示低浓度奥希替尼可能会兴奋 hiPSC-CMs 的搏动；奥希替尼浓度≥ 1 μmol/L 时，加药后 0.5 h，hiPSC-CMs 的整体搏动频率降低，提示高浓度奥希替尼可抑制 hiPSC-CMs 搏动，且有浓度依赖性，见表 5；奥希替尼加药 0.5 h 时对细胞搏动频率的 IC_{50} 为 2.60 μmol/L。

表 5 不同浓度奥希替尼对 hiPSC-CMs 搏动频率的作用（$\bar{x}\pm s$）

Table 5 The effect of osimertinib on beating frequency of hiPSC-CMs（$\bar{x}\pm s$）

时间点	阴性对照组	0.1 μmol/L组	0.3 μmol/L组	1 μmol/L组	3 μmol/L组	10 μmol/L组
加药前	1.00±0.00	1.00±0.00	1.00±0.00	1.00±0.00	1.00±0.00	1.00±0.00
加药后0.5 h	1.21±0.02	1.99±0.09**	2.22±0.07**	1.62±0.04**	0.00±0.00	0.00±0.00
*P*值	N/A	＜0.001	＜0.001	＜0.001	N/A	N/A
加药后1 h	2.30±0.05	2.22±0.05	2.31±0.01	1.96±0.10**	0.00±0.00	0.00±0.00
*P*值	N/A	0.278	0.999	＜0.001	N/A	N/A
加药后2 h	2.23±0.03	2.01±0.07*	2.29±0.09	1.61±0.07**	0.00±0.00	0.00±0.00
*P*值	N/A	0.012	0.716	＜0.001	N/A	N/A
加药后6 h	1.96±0.02	2.21±0.01**	2.61±0.04**	1.62±0.07*	0.00±0.00	0.00±0.00
*P*值	N/A	0.003	＜0.001	0.027	N/A	N/A
加药后12 h	2.08±0.03	2.30±0.06*	2.58±0.12**	1.64±0.03**	0.00±0.00	0.00±0.00
*P*值	N/A	0.011	＜0.001	＜0.001	N/A	N/A
加药后18 h	2.20±0.07	2.07±0.07	2.62±0.11**	1.81±0.05**	0.59±0.05**	0.00±0.00
*P*值	N/A	0.179	＜0.001	＜0.001	＜0.001	N/A
加药后24 h	2.24±0.01	2.13±0.06*	2.46±0.03**	1.64±0.05**	0.97±0.05**	0.00±0.00
*P*值	N/A	0.032	＜0.001	＜0.001	＜0.001	N/A

注：与阴性对照组相比，*P＜0.05，**P＜0.01；N/A为不适用。

Note: vs. the negative control group, *P＜0.05, **P＜0.01; N/A is not application.

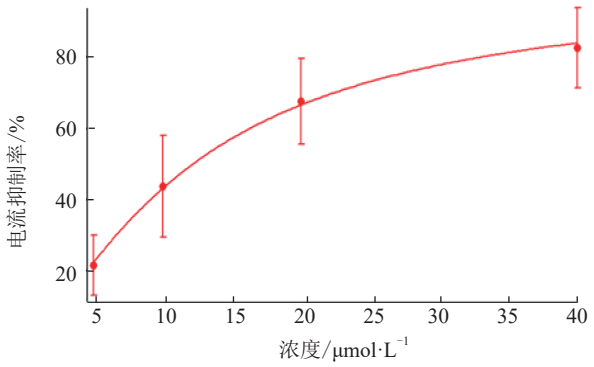


图 7 不同浓度达沙替尼抑制 HERG 钾通道的浓度 - 反应曲线

Figure 7 The different concentrations for sand for inhibiting concentration response curve of HERG potassium channels

2.6 奥希替尼对 HEK293 细胞 HERG 钾电流作用

阴性对照组对 I_{Kr} 无明显作用。与阴性对照组相比，奥希替尼浓度≥ 0.3 μmol/L 时，对 I_{Kr} 的抑制作用有显著差异，见图 9 和表 6；IC_{50} 值为 2.06 μmol/L，Hill 系数为 1.53，浓度 - 反应曲线见图 10。

表 6 奥希替尼对 I_{kr} 的抑制率（$\bar{x}\pm s$，单位：%）

Table 6 Percentage of current inhibition of I_{kr} by osimertinib（$\bar{x}\pm s$, unit: %）

组别	抑制率	*P*值
阴性对照组	4.51±0.90	N/A
0.3 μmol/L组	3.58±7.80	0.999
1 μmol/L组	25.72±8.31**	0.001
3 μmol/L组	63.55±7.86**	＜0.001
10 μmol/L组	91.89±3.66**	＜0.001

注：与阴性对照组相比，*P＜0.05，**P＜0.01；N/A为不适用。

Note: vs. the negative control group, *P＜0.05, **P＜0.01; N/A is not application.

3 讨论

目前常用的体外心脏毒性评价方法是采用膜片钳技术测定药物对异源转染 HERG 钾通道的细胞上的钾电流作用。其中异源转染 HERG 钾通道的人胚肾细胞 HEK293 是常用细胞模型之一。膜片钳技

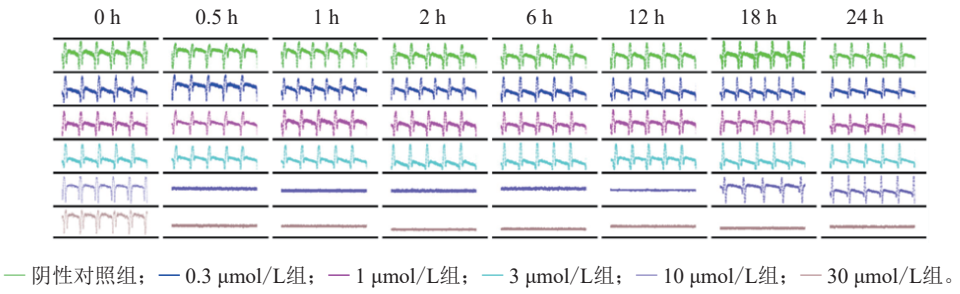


图 8　不同浓度奥希替尼对 hiPSC-CMs 搏动作用图谱

Figure 8　Pulsation patterns of hiPSC-CMs exposed to different concentrations of osimertinib

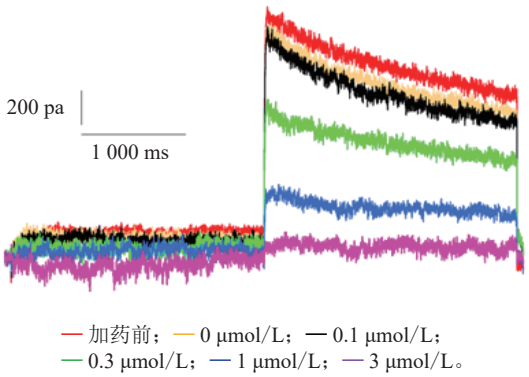


图 9　不同浓度奥希替尼对 I_{kr} 的阻断作用

Figure 9　The blocking effects of different concentrations of osimertinib on I_{kr}

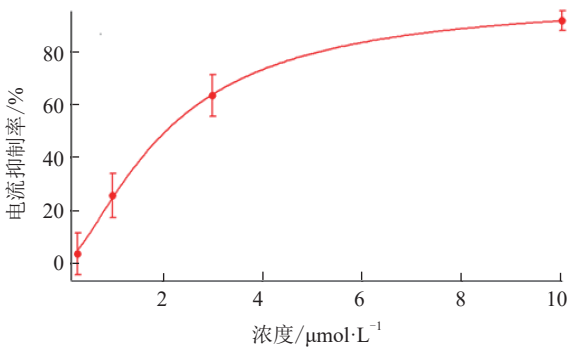


图 10　不同浓度奥希替尼抑制 HERG 钾通道的浓度 - 反应曲线

Figure 10　The concentration-response curves of different concentrations of osimertinib in inhibiting the HERG potassium channels

术是研究离子通道的重要技术手段，也是离子通道研究的“金标准”[6]。2013 年，综合性离体致心律失常风险评估（comprehensive in vitro proarrhythmia assay，CiPA）这一药物心脏安全性评价规范被提出[7-9]。其中，采用人源性干细胞进行心脏毒性研究是 CiPA 心脏干细胞工作小组的主要工作。研究[10]显示，RTCA 系统能准确检测化合物对 hiPSC-CMs 收缩性和场电位的影响。本研究采用 RTCA 技术探究 3 种不同靶点的 TKI 药物对 hiPSC-CMs 搏动图谱和搏动频率的影响，同时采用全细胞膜片钳技术研究 3 种不同靶点的 TKI 药物对 HEK293 细胞 HERG 钾通道电流的影响。

拉帕替尼是一种是表皮生长因子受体（epidermal growth factor receptor，EGFR）和人表皮生长因子受体（human epidermal growth factor receptor，HER）2 的双重 TKI，主要通过阻断 HER2 的胞内结构域抑制肿瘤细胞的生长，临床上主要用于治疗 HER2 过表达且接受过蒽环类、类固醇类药物或曲妥珠单抗治疗的晚期或转移性乳腺癌[11-12]。临床主要不良反应表现为心力衰竭，左心室射血分数下降，QT 间期延长以及窦性心律过速[13-15]。本研究显示，拉帕替尼浓度≥ 10 μmol/L 时，hiPSC-CMs 搏动频率被抑制，提示可能有细胞毒性作用；IC_{50} 为 7.20 μmol/L。此外，拉帕替尼对 HEK293

细胞 I_{Kr} 存在浓度依赖性的抑制作用，IC_{50} 值为 3.92 μmol/L，Hill 系数为 1.06，提示拉帕替尼对 HERG 钾通道的作用唯一。综合分析上述结果表明，拉帕替尼在临床治疗剂量下有潜在致心律失常的风险。

达沙替尼是一种多靶点激酶抑制剂，临床主要用于治疗慢性粒细胞白血病和急性淋巴细胞白血病，其心脏毒性主要表现为心室功能障碍、心力衰竭、心包积液、肺动脉高压、QT 间期延长和心律失常[16-18]。本研究显示，达沙替尼浓度为 30 μmol/L 时，加药后 0.5 h，hiPSC-CMs 搏动信号消失，加药后 12 h 有恢复趋势，但其波动频率仍明显低于阴性对照组，提示其心血管不良反应风险较小；IC_{50} 为 16.00 μmol/L。此外，达沙替尼对 HEK293 细胞 I_{Kr} 电流存在浓度依赖性的抑制作用，IC_{50} 为 12.18 μmol/L，Hill 系数为 1.40，提示达沙替尼对 HERG 钾通道的作用不唯一。综合分析上述结果表明，达沙替尼在临床治疗剂量下致心律失常的风险较低。

奥希替尼是第 3 代 EGFR-TKI，亦是临床治疗非小细胞肺癌的首选药物[19-20]。奥希替尼较其他，亦 EGFR-TKI 的疗效得到提升，但心力衰竭、心房颤动和 QT 间期延长的风险相应增加[21-23]。本研究显示，奥希替尼浓度≥ 3 μmol/L 时，hiPSC-CMs 的搏动频率明显被抑制，提示可能有细胞毒性作用；IC_{50} 为 2.60 μmol/L。此外，奥希替尼对 HEK293 细胞 I_{Kr} 电流存在浓度依赖性的抑制作用，IC_{50} 为 2.06 μmol/L，Hill 系数为 1.53，提示奥希替尼对 HERG 钾通道的作用不唯一。综合分析上述结果表明，奥希替尼在临床治疗剂量下存在较高的致心律失常风险。

4 结论

综上所述，3 种不同靶点的 TKI 药物（拉帕替尼，达沙替尼和奥希替尼）均能浓度依赖性地抑制 hiPSC-CMs 搏动和 HEK293 的 HERG 钾通道电流，且 3 种不同靶点的 TKI 药物对 HERG 通道抑制作用的 IC_{50} 与其对 hiPSC-CMs 细胞搏动频率的 IC_{50} 相近，为后续人源性心肌细胞的基础研究提供了数据支持。此外，本研究结果提示拉帕替尼和奥希替尼诱导心脏毒性的风险相对高于达沙替尼，为临床用药提供了参考。

参考文献：

[1] RHEA IB, OLIVEIRA GH. Cardiotoxicity of novel targeted chemotherapeutic agents[J]. Curr Treat Options Cardiovasc Med, 2018, 20(7): 53.

[2] SHYAM SUNDER S, SHARMA UC, POKHAREL S. Adverse effects of tyrosine kinase inhibitors in cancer therapy: pathophysiology, mechanisms and clinical management[J]. Signal Transduct Target Ther, 2023, 8(1): 262.

[3] PANG Y, ERESEN A, ZHANG Z, *et al*. Adverse events of sorafenib in hepatocellular carcinoma treatment[J]. Am J Cancer Res, 2022, 12(6): 2770-2782.

[4] TOCCHETTI CG, CADEDDU C, DI LISI D, *et al*. From molecular mechanisms to clinical management of antineoplastic drug-induced cardiovascular toxicity: a translational overview[J]. Antioxid Redox Signal, 2019, 30(18): 2110-2153.

[5] CORTES J, LANG F. Third-line therapy for chronic myeloid leukemia: current status and future directions[J]. J Hematol Oncol, 2021, 14(1): 44.

[6] POLONCHUK L. Toward a new gold standard for early safety: Automated temperature-controlled hERG test on the patchliner[J]. Front Pharmacol, 2012, 3: 3.

[7] HOUTMANN S, SCHOMBERT B, SANSON C, *et al*. Automated patch-clamp methods for the hERG cardiac potassium channel[J]. Methods Mol Biol, 2017, 1641: 187-199.

[8] KRAMER J, OBEJERO-PAZ CA, MYATT G, *et al*. MICE models: superior to the HERG model in predicting torsade de pointes[J]. Sci Rep, 2013, 3: 2100.

[9] STRAUSS DG, GINTANT G, LI Z, *et al*. Comprehensive *in vitro* proarrhythmia assay(CiPA) update from a Cardiac Safety Research Consortium/Health and Environmental Sciences Institute/FDA Meeting[J]. Ther Innov Regul Sci, 2019, 53(4): 519-525.

[10] ZHANG X, GUO L. ZENG H, *et al*. Multi-parametric assessmentof cardiomyocyte excitation-contraction coupling using impedanceand field potential recording: a tool for

cardiac safety assessment[J]. J Pharmacol Toxicol Methods, 2016, 81: 201-216.

[11] KIM S, LAHU G, VAKILYNEJAD M, *et al*. A case study of a patient-centered reverse translational systems-based approach to understand adverse event profiles in drug development[J]. Clin Transl Sci, 2022, 15(4): 1003-1013.

[12] SUN L, WANG H, XU D, *et al*. Lapatinib induces mitochondrial dysfunction to enhance oxidative stress and ferroptosis in doxorubicin-induced cardiomyocytes via inhibition of PI3K/AKT signaling pathway[J]. Bioengineered, 2022, 13(1): 48-60.

[13] YUAN Y, LIU X, CAI Y, *et al*. Lapatinib and lapatinib plus trastuzumab therapy versus trastuzumab therapy for HER2 positive breast cancer patients: an updated systematic review and meta-analysis[J]. Syst Rev, 2022, 11(1): 264.

[14] RAJA SHARIN RNFS, KHAN J, IBAHIM MJ, *et al*. Role of ErbB1 in the underlying mechanism of lapatinib-induced diarrhoea: a review[J]. Biomed Res Int, 2022, 2022: 4165808.

[15] SHARMA A, BURRIDGE PW, MCKEITHAN WL, *et al*. High-throughput screening of tyrosine kinase inhibitor cardiotoxicity with human induced pluripotent stem cells[J]. Sci Transl Med, 2017, 9(377): eaaf2584.

[16] COOPER J, GIANCOTTI FG. Integrin signaling in cancer: mechanotransduction, stemness, epithelial plasticity, and therapeutic resistance[J]. Cancer Cell, 2019, 35(3): 347-367.

[17] XU Z, JIN Y, YAN H, *et al*. High-mobility group box 1 protein-mediated necroptosis contributes to dasatinib-induced cardiotoxicity[J]. Toxicol Lett, 2018, 296: 39-47.

[18] UPRETY D, MANSFIELD AS. Targeting the cardiotoxicity of epidermal growth factor receptor inhibitors[J]. J Am Coll Cardiol Cardio Oncol, 2020, 2(1): 11-12.

[19] MENG Y, LIN W, WANG N, *et al*. Bazedoxifene-induced ROS promote mitochondrial dysfunction and enhance osimertinib sensitivity by inhibiting the p-STAT3/SOCS3 and KEAP1/NRF2 pathways in non-small cell lung cancer[J]. Free Radic Biol Med, 2023, 196: 65-80.

[20] ANAND K, ENSOR J, TRACHTENBERG B, *et al*. Osimertinib-induced cardiotoxicity: a retrospective review of the FDA adverse events reporting system (FAERS)[J]. J Am Coll Cardiol CardioOncol, 2019, 1(2): 172-178.

[21] LAMB YN. Osimertinib: a review in previously untreated, *EGFR* mutation-positive, advanced NSCLC[J]. Target Oncol, 2021, 16(5): 687-695.

[22] WU YL, JOHN T, GROHE C, *et al*. Postoperative chemotherapy use and outcomes from ADAURA: osimertinib as adjuvant therapy for resected *EGFR*-mutated NSCLC[J]. J Thorac Oncol, 2022, 17(3): 423-433.

[23] FRAMPTON JE. Osimertinib: a review in completely resected, early-stage, *EGFR* mutation-positive NSCLC[J]. Target Oncol, 2022, 17(3): 369-376.

（编辑：沈佳婕）