

外泌体在心血管疾病中的研究进展

张维 张恒 康品方

(蚌埠医学院第一附属医院心血管内科, 安徽 蚌埠 233600)

【摘要】 外泌体是细胞经过包吞方式, 分泌到细胞外的一种囊泡结构。其内含有多数蛋白质、核酸等具有生物活性的物质, 介导机体内多种生理活动, 包括免疫调节、炎症反应、基因转递、细胞间交流等。另一方面, 心血管疾病仍居中国居民死亡率首位, 严重影响着全体居民的健康生活。越来越多的研究表明, 外泌体在心力衰竭、急性心肌梗死、高血压等疾病中有着重要的作用, 介导疾病的发生发展, 影响疾病的进展, 并在一些疾病中有望作为更加精准的疾病标志物。现从多个方面介绍外泌体在心血管疾病的研究进展。

【关键词】 外泌体; 心血管疾病; miRNA; 胞外囊泡

【DOI】 10.16806/j.cnki.issn.1004-3934.2019.05.038

Exosome in Cardiovascular Diseases

ZHANG Wei, ZHANG Heng, KANG Pinfang

(Department of Cardiology, The First Affiliated Hospital of Bengbu Medical College, Bengbu 233600, Anhui, China)

【Abstract】 Exosome is a vesicular structure which is secreted by cells through the way of ingestion. It contains a variety of proteins, nucleic acids and other bioactive substances, mediating a variety of physiological activities in the body, including immune regulation, inflammatory response, gene transmission, intercellular communication, and so on. On the other hand, cardiovascular disease still ranks first in the mortality rate, which seriously affects the healthy life of the whole population. More and more studies have shown that exosome plays an important role in heart failure, acute myocardial infarction, hypertension and other diseases, mediating the occurrence and development of disease, affecting the progress of disease. And exosome are expected to be more accurate disease markers in some diseases. This article will introduce the research progress of exosome in cardiovascular disease.

【Key words】 Exosome; Cardiovascular diseases; miRNA; Extracellular vesicles

1986 年科学家首次在绵羊红细胞培养基中发现具有膜结构的小囊泡, 并将其命名为外泌体。外泌体的分泌是动态的过程。首先, 胞外物质通过细胞膜包吞进入细胞形成核内体, 核内体在细胞器以及一些胞内因子的作用下, 有选择地摄入一些蛋白质、核酸、脂类物质等具有生物活性的物质形成多泡内核体, 多泡内核体最终与细胞膜融合, 分泌入胞外基质形成外泌体^[1]。目前, 胞外囊泡由微泡、凋亡小体、外泌体三大类组成, 外泌体直径为 30 ~ 100 nm, 来源相同的外泌体形态、大小相近, 来源不同的外泌体大小不一; 不同来源的外泌体可拥有特异的蛋白或 miRNA 等^[2], 人

体的外泌体广泛存在于尿液、乳汁、血液等体液中^[3]。外泌体可通过与细胞表面受体结合或与受体细胞融合后, 将内容物释放入受体细胞发挥生物效能^[2]。

科学家发现外泌体参与体内多方面的生物学活动。在肿瘤方面, 肿瘤微环境中分泌的外泌体, 可为癌细胞提供必要的营养成分^[4]; Liu 等^[5]发现肿瘤来源的外泌体可促进胃癌的淋巴结转移。在自身免疫性疾病中, Solé 等^[6]发现在狼疮性肾病患者中, 其外泌体中的 miRNA-29c 低于健康患者, 并且与狼疮性肾病的肾功能和肾纤维化程度相关。另一方面, 由于中国心血管疾病的患病率仍呈现增加的趋势, 目前心血

基金项目: 国家自然科学基金项目(81550036, 81770297)

通讯作者: 康品方, E-mail: kangpinfang_1016@163.com

管疾病仍占全民总死亡原因的首位,城市为 42.61%,农村为 45.01%^[7]。外泌体不仅在心血管疾病的发生发展中有重要作用,而且在心血管疾病的治疗和诊断中也十分重要,研究外泌体在心血管疾病中的作用,将为进一步认识和治疗心血管疾病提供新的依据。

1 外泌体与心血管疾病

1.1 外泌体与冠心病

根据流行病学调查研究,冠心病在中国的患病人数约为 1 100 万,每年死亡率为 110/10 万^[7]。动脉粥样硬化涉及脂质的渗透、血管内皮的损伤、动脉血管内皮的炎症反应、单核巨噬细胞及平滑肌细胞的共同作用。Emanueli 等^[8]发现 Krüppel 样因子 2(KLF2)引导的内皮细胞,分泌富集 miRNA-143/145 的外泌体可与平滑肌细胞上特定的靶点结合,在大鼠实验中观察发现,miRNA-143/145 可减轻动脉粥样硬化。另一方面,外泌体介导 Krüppel 样因子 5(KLF5)高度表达的平滑肌细胞诱导 miRNA-15 的转移,进而破坏紧密连接和内皮屏障的完整性,导致内皮通透性的增加,加快动脉粥样硬化的进展;另外内皮细胞过多的表达 miRNA-155 可抑制内皮细胞的增生和迁移,导致血管通透性的增加^[9]。Madrigal-Matute 等^[10]发现巨噬细胞在氧化应激下分泌的外泌体中富含半乳凝素-3,进而加快单核细胞向巨噬细胞的演变;这种富含半乳凝素-3 的外泌体可促进动脉粥样斑块的破裂。冠心病中粥样斑块破裂、糜烂或出血,形成血栓堵塞血管时可引发急性心肌梗死^[11]。外泌体中包含趋化因子、生长因子、miRNA 等,可影响梗死后的心肌状态。有研究表明,急性心肌梗死时心肌细胞分泌富含肿瘤坏死因子的外泌体也会造成心肌细胞的损伤。但另一方面,研究发现心脏干细胞源性的外泌体可减少瘢痕组织的形成,这与心脏干细胞源性的外泌体使成纤维细胞活性改变,增加基质细胞衍生因子-1、血管内皮生长因子的分泌密切相关^[12]。Katare 等^[13]研究表明血管内皮祖细胞中的周细胞分泌 miRNA-132 通过调节甲基-CpG 结合蛋白 2,促进血管内皮细胞的再生。间充质干细胞分泌的外泌体中包含 miRNA-132,可促进心肌梗死后血管的再生,保护心脏功能^[14]。再者心脏干细胞源的外泌体富含 miRNA-210、miRNA-132、miRNA-146 等,可激活靶蛋白 ephrin A3、p120RasGAP 等,抑制梗死后心肌的凋亡,促进梗死旁心肌血管的再生^[15]。另外心脏内皮细胞分泌的外泌体中所含有的 miRNA 可激活细胞激酶,促进糖酵解,进而提高细胞对低氧的耐受^[16]。此外,有报道指出,缺血后心肌释放的外泌体不仅可调动心血管细胞间局部的相互

作用,还可影响骨髓微环境来参与损伤修复的过程^[16-17]。

1.2 外泌体与心力衰竭

心力衰竭几乎是所有心血管系统疾病的结局,在中国患病率约为 0.9%;而心力衰竭的形成又涉及 Frank-Starling、神经体液、心肌重构等生理机制^[18]。许多研究发现来源于心脏细胞或非心脏细胞分泌的外泌体均可参与心力衰竭的过程。Wang 等^[19]观察到心力衰竭患者血浆外泌体 miRNA-425、miRNA-744 降低,血浆中胶原蛋白及抗平滑肌抗体水平上升;体外将纤维化心肌细胞放入高浓度 miRNA-425、miRNA-744 培养基中培养,可显著抑制 I 型胶原 α_1 重组蛋白、人 III 型胶原 α_1 相关 RNA 水平,同时胶原蛋白及抗平滑肌抗体也被显著抑制;证明外泌体中 miRNA-425、miRNA-744 可抑制心力衰竭患者心肌纤维化水平,同时研究者发现这与 miRNA-425、miRNA-744 与转化生长因子- β 结合有关。Liu 等^[20]研究发现心力衰竭患者中 miRNA-132 水平比正常组明显降低,高水平 miRNA-13 可稳定 H9C2 细胞的稳定性,抑制 H2C9 细胞氧化应激反应,以及抑制 H2C9 的凋亡;另一方面 miRNA-132 可降低转化生长因子- β_1 和 smad3 信号通路的表达。miRNA-21 和 miRNA-26a 调节基质金属蛋白酶-2 的表达,在肥大型细胞外基质重构中发挥重要作用^[21]。另外心肌祖细胞在抑制心肌重构、改善心肌功能方面也有着重要的作用。研究表明心肌炎性细胞分泌的外泌体,可刺激血管生成,进而促进心肌细胞的存活和增殖,抑制心肌的重构^[22]。再者,在急性心肌梗死后的心力衰竭中,心肌细胞释放含有 miRNA-194、miRNA-34a 的外泌体,这些外泌体在体液中的浓度与梗死后左心室舒张功能密切相关^[23]。另一方面,研究发现脂肪细胞来源的富含 miRNA-200a 的外泌体,可活化雷帕霉素靶蛋白通路,诱导心肌肥大^[24];另外 miRNA-21-3p 可在心肌成纤维细胞分泌的外泌体中表达,促进心肌肥大。Gupta 等^[25]发现在低氧条件下,高分化的心肌细胞显著分泌富含 HSP60 的外泌体;而 HSP60 可激活 Toll 样细胞,造成细胞凋亡。Ji 等^[26]发现在心肌肥大的纤维化心肌中 miRNA-327 过高表达,体外培养中降低 miRNA-327 的浓度,可明显抑制心肌纤维化的形成;同时研究提示 miRNA-327 通过与整合素 B3 结合,可调节心肌的纤维化。

1.3 外泌体与高血压

中国高血压患病率约为 25.2%,而且高血压是冠心病、心力衰竭、心律失常等疾病的主要危险因素,高血压又可分为原发性高血压和继发性高血压^[27]。

Pironti 等^[28]研究发现当细胞受牵连时,可促进富含血管紧张素 II 1 型受体(AT₁R)的外泌体的分泌,8~9 个/100 个外泌体($P < 0.005$);外泌体中含的 AT₁R 富有生物活性,同时发现心肌细胞是压力过载时分泌的 AT₁R 富集外小体的主要来源;将从主动脉狭窄或低压刺激的细胞培养基中分离出外泌体,注入 AT₁R 基因敲除的大鼠体内,可使 AT₁R 基因敲除大鼠收缩压升高约 30%;可能是由于外泌体被定向运输至心肌及外周阻力血管的原因。另外,Otani 等^[29]在小鼠实验中发现,分别提纯高血压组的小鼠(spontaneously hypertensive rats, SHR)和空白对照组的小鼠(normotensive Wistar Kyoto rats, WKY)血液中的外泌体;将 SHR 组的外泌体注入 WKY 组小鼠腹腔,WKY 组小鼠收缩压明显增高($P < 0.05$);相反,将 WKY 组外泌体注入 SHR 组小鼠腹腔,可观察到 WKY 组小鼠收缩压明显降低($P < 0.05$);再者实验研究了外泌体对动脉结构的影响,发现在注入 SHR 组外泌体的小鼠胸主动脉增厚较明显,可能与外泌体对胶原等基质的影响有关;另外实验者还发现,WKY 组外泌体可抑制人前列腺素 F2a 所致肠系膜动脉的收缩,可能由于外泌体含有前列腺素 F2a 受体的抑制信号。在肺动脉高压中,研究人员发现外泌体通过抑制转录因子-3 等高增值途径、抑制单核细胞的炎症作用等,具有缓解肺动脉重塑、降低肺动脉高压的作用^[30]。

2 外泌体与心血管疾病的诊断和治疗

中国心血管疾病的患病率为 2.9 亿,每年因心血管死亡人数居高不下,合理的诊断和治疗心血管疾病尤为重要。在诊断心肌梗死方面,现有诊断依据主要取决于心电图动态改变和心肌酶谱的变化,有研究表明心肌特异性表达的 miRNA 会随着病情的加重,而更易在血浆外泌体中检测到^[31]。在急性心肌梗死时,提取自血浆和尿液的外泌体,发现 miRNA-1 与 miRNA-208 会显著上升^[32]。另外,外泌体转运的 DNA 片段可在受体细胞中转录翻译,影响细胞功能;并发现部分外泌体中 DNA 片段与冠状动脉粥样硬化有关,推测含有基因片段的外泌体可作为冠状动脉粥样硬化性心肌病的标志物^[33]。在心力衰竭患者中血浆外泌体 miR-425、miR-744 明显降低^[19]。Lakhani 等^[34]发现包括 miRNA 在内的一些血清物质可作为心肌重塑及心肌梗死后心力衰竭的标志物,对发现病情、提示病情程度及愈后有重要意义。在治疗方面,Kuwabara 等^[35]证明急性冠脉综合征患者血清中肌肉特异性 miRNAs(如 miRNA-1 和 miRNA-133 a)明显增加,他们进一步证明这些 miRNAs 来源于梗死区和边

缘区释放出来的外显子。间充质干细胞通过分泌富含 miRNA-22 的外泌体来保护缺血心肌细胞^[36]。另外研究也发现间充质干细胞分泌的外泌体可保护心肌细胞,同时发现间充质干细胞分泌的外泌体可刺激 ATP 和烟酰胺腺嘌呤二核苷酸的产生,减少局部和系统对缺血和炎症反应^[37]。再者心肌的修复涉及血管的再生,多项研究发现不同来源的外泌体可促进心肌细胞血管内皮的分化和血管的再生^[38]。研究发现 miRNA 通过抑制同源性磷酸酶-张力蛋白等表达,激活 PI3K/AKT 通路,促进扩张型心肌病大鼠心肌细胞的凋亡和纤维化^[39]。Gartz 等^[40]发现外泌体可通过 ERK1/2-p38/MAPK 信号通路,发挥对肌营养不良性心肌细胞的保护作用。其次,外泌体在体内具有相对的稳定性,不易被降解,与其他基因治疗载体相比较,具有毒性低、无免疫抵抗等特点;利用一些跨膜蛋白可在外泌体的表面展示归巢肽,使外泌体具有靶向性,靶向地运输 RNA、miRNA 等生物活性物质,发挥治疗作用。

3 结语

越来越多的研究表明,外泌体在心血管疾病的进展和治疗中发挥着重要作用,但外泌体对心血管疾病的影响远不止上述内容。研究发现 miRNA-1、miRNA-133 与心律失常密切相关,miRNA-1、miRNA-133 可使蛋白磷酸酶过磷酸化,促进肌质网钙离子的释放,进而触发心律失常。但另一方面,外泌体的研究同时也存在不足,如外泌体在心血管疾病中如何介导细胞间信号的传递,来源不同细胞的外泌体结构和功能上具体有何不同之处,外泌体如何在心肌梗死后影响心肌的免疫功能,外泌体怎样优化用于心血管疾病的治疗等。尽管如此,研究外泌体在机体中的作用,将有助于探索细胞与细胞、细胞与器官、器官与器官之间相互作用的新机制;同时也有利于发现新型生物标志物,为心血管疾病,乃至更多其他系统疾病的诊疗提供新见解。

参考文献

- [1] Raposo G, Stoorvogel W. Extracellular vesicles: exosomes, microvesicles, and friends[J]. *J Cell Biol*, 2013, 200(4): 373-383.
- [2] 贝毅桦,喻博蛟,肖俊杰. 小囊泡中的大学问——外泌体的前世今[J]. *自然杂志*, 2017, 39(3): 191-198.
- [3] Vlassov AV, Magdaleno S, Setterquist R, et al. Exosomes: current knowledge of their composition, biological functions, and diagnostic and therapeutic potentials[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2012, 1820(7): 940-948.
- [4] Zhao H, Yang L, Baddour J, et al. Tumor microenvironment derived exosomes pleiotropically modulate cancer cell metabolism[J]. *Elife*, 2016, 5:e10250.
- [5] Liu D, Li C, Trojanowicz B, et al. CD97 promotion of gastric carcinoma lymphat-

- ic metastasis is exosome dependent[J]. *Gastric Cancer*, 2016, 19(3):754-766.
- [6] Solé C, Cortés-Hernández J, Felip ML, et al. miR-29c in urinary exosomes as predictor of early renal fibrosis in lupus nephritis[J]. *Nephrol Dial Transplant*, 2015, 30(9):1448-1496.
- [7] 陈伟伟, 高润霖, 刘力生, 等. 中国心血管病报告 2017 概要[J]. *中国循环杂志*, 2018, 33(1):1-8.
- [8] Emanuelli C, Shearn AI, Angelini GD, et al. Exosomes and exosomal miRNAs in cardiovascular protection and repair[J]. *Vascul Pharmacol*, 2015, 71:24-30.
- [9] Zheng B, Yin WN, Suzuki T, et al. Exosome-mediated miR-155 transfer from smooth muscle cells to endothelial cells induces endothelial injury and promotes atherosclerosis[J]. *Mol Ther*, 2017, 25(6):1279-1294.
- [10] Madrigal-Matute J, Lindholt JS, Fernandez-Garcia CE, et al. Galectin-3, a biomarker linking oxidative stress and inflammation with the clinical outcomes of patients with atherothrombosis [J]. *J Am Heart Assoc*, 2014, 3(4): pii: e000785.
- [11] 中华医学会心血管病学分会, 中华心血管病杂志编辑委员会. 急性 ST 段抬高型心肌梗死诊断和治疗指南[J]. *中华心血管病杂志*, 2015, 43(5):380-393.
- [12] Tseliou E, Fouad J, Reich H, et al. Fibroblasts rendered antifibrotic, antiapoptotic, and angiogenic by priming with cardiosphere-derived extracellular membrane vesicles [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2015, 66(6):599-611.
- [13] Katare R, Riu F, Mitchell K, et al. Transplantation of human pericyte progenitor cells improves the repair of infarcted heart through activation of an angiogenic program involving micro-RNA-132[J]. *Circ Res*, 2011, 109(8):894-906.
- [14] Ma T, Chen Y, Chen Y, et al. MicroRNA-132, delivered by mesenchymal stem cell-derived exosomes, promote angiogenesis in myocardial infarction[J]. *Stem Cells Int*, 2018, 2018:3290372.
- [15] Barile L, Lionetti V, Cervio E, et al. Extracellular vesicles from human cardiac progenitor cells inhibit cardiomyocyte apoptosis and improve cardiac function after myocardial infarction[J]. *Cardiovasc Res*, 2014, 103(4):530-541.
- [16] Zhao W, Zheng XL, Zhao SP. Exosome and its roles in cardiovascular diseases [J]. *Heart Fail Rev*, 2015, 20(3):337-348.
- [17] Tano N, Kim HW, Ashraf M. microRNA-150 regulates mobilization and migration of bone marrow-derived mononuclear cells by targeting Cxcr4 [J]. *PLoS One*, 2011, 6(10):e23114.
- [18] 中华医学会心血管病学分会心力衰竭学组, 中国医师协会心力衰竭专业委员会, 中华心血管病杂志编辑委员会. 中国心力衰竭诊断和治疗指南 2018 [J]. *中华心血管病杂志*, 2018, 46(10):760-789.
- [19] Wang L, Liu J, Xu B, et al. Reduced exosome miR-425 and miR-744 in the plasma represents the progression of fibrosis and heart failure [J]. *Kaohsiung J Med Sci*, 2018, 34(11):626-633.
- [20] Liu X, Tong Z, Chen K, et al. The role of miRNA-132 against apoptosis and oxidative stress in heart failure [J]. *Biomed Res Int*, 2018, 1-8:3452748.
- [21] Wei C, Kim IK, Kumar S, et al. NF-kappaB mediated miR-26a regulation in cardiac fibrosis [J]. *J Cell Physiol*, 2013, 228(7):1433-1442.
- [22] Ibrahim AG, Cheng K, Marbún E. Exosomes as critical agents of cardiac regeneration triggered by cell therapy[J]. *Stem Cell Reports*, 2015, 2(5):606-619.
- [23] 潘益凯, 孙喜庆. 外泌体来源微小 RNA 在心血管疾病中作用研究进展[J]. *心脏杂志*, 2018, 30(4):469-472.
- [24] Fang X, Stroud MJ, Ouyang K, et al. Adipocyte-specific loss of PPAR gamma attenuates cardiac hypertrophy[J]. *JCI Insight*, 2016, 1(16):e89908.
- [25] Gupta S, Knowlton AA. HSP60 trafficking in adult cardiac myocytes: role of the exosomal pathway [J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2007, 292(6):H3052-3056.
- [26] Ji Y, Qiu M, Shen Y, et al. MicroRNA-327 regulates cardiac hypertrophy and fibrosis induced by pressure overload [J]. *Int J Mol Med*, 2018, 41(4):1909-1916.
- [27] 国家卫生计生委合理用药专家委员会, 中国医师协会高血压专业委员会. 高血压合理用药指南(第 2 版)[J]. *中国医学前沿杂志*, 2017, 9(7):28-125.
- [28] Pironti G, Strachan RT, Abraham D, et al. Circulating exosomes induced by cardiac pressure overload contain functional angiotensin II type 1 receptors[J]. *Circulation*, 2015, 131(24):2120-2130.
- [29] Otani K, Yokoya M, Kodama T, et al. Plasma exosomes regulate systemic blood pressure in rats [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 503(2):776-783.
- [30] Lee C, Mitsialis SA, Aslam M, et al. Exosomes mediate the cytoprotective action of mesenchymal stromal cells on hypoxia-induced pulmonary hypertension [J]. *Circulation*, 2012, 126(22):2601-2611.
- [31] 赵晓琦, 程敏. 外泌体相关微小 RNA 的生物学特性及其在多种心血管疾病中的诊断价值[J]. *临床心血管病杂志*, 2015, 31(9):924-928.
- [32] 李福山, 房冉, 饶琳, 等. 外泌体在心血管疾病诊疗中的作用研究进展[J]. *浙江大学学报*, 2018, 47(3):320-326.
- [33] Cai J, Guan W, Tan X, et al. SRY gene transferred by extracellular vesicles accelerates atherosclerosis by promotion of leucocyte adherence to endothelial cells [J]. *Clin Sci (Lond)*, 2015, 129(3):259-269.
- [34] Lakhani HV, Khanal T, Gabi A, et al. Developing a panel of biomarkers and miRNA in patients with myocardial infarction for early intervention strategies of heart failure in West Virginian population [J]. *PLoS One*, 2018, 13(10):e0205329.
- [35] Kuwabara Y, Ono K, Horie T, et al. Increased microRNA-1 and microRNA-133a levels in serum of patients with cardiovascular disease indicate myocardial damage[J]. *Circ Cardiovasc Genet*, 2011, 4(4):446-454.
- [36] Feng Y, Huang W, Wani M, et al. Ischemic preconditioning potentiates the protective effect of stem cells through secretion of exosomes by targeting Mecp2 via miR-22[J]. *PLoS One*, 2014, 9(2):e88685.
- [37] Lai RC, Arslan F, Lee MM, et al. Exosome secreted by MSC reduces myocardial ischemia/reperfusion injury [J]. *Stem Cell Res*, 2010, 4(3):214-222.
- [38] Salomon C, Ryan J, Sobrevia L, et al. Exosomal signaling during hypoxia mediates microvascular endothelial cell migration and vasculo-genesis [J]. *PLoS One*, 2013, 8(7):e68451.
- [39] Zhang CJ, Huang Y, Lu JD, et al. Upregulated microRNA-132 rescues cardiac fibrosis and restores cardiocyte proliferation in dilated cardiomyopathy through the phosphatase and tensin homolog-mediated PI3K/Akt signal transduction pathway [J]. *J Cell Biochem*, 2018:1-13.
- [40] Gartz M, Darlington A, Afzal MZ, et al. Exosomes exert cardioprotection in dystrophin-deficient cardiomyocytes via ERK1/2-p38/MAPK signaling [J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1):16519.

收稿日期:2018-12-30