

肠道微生物细胞外囊泡对心血管系统影响的研究进展

黄露霁¹ 成泽东²

(1. 辽宁中医药大学研究生学院, 辽宁 沈阳 110000; 2. 辽宁中医药大学科技处, 辽宁 沈阳 110000)

【摘要】 心血管疾病(CVD)在中国发病率居高不下,动脉粥样硬化是多数心血管疾病的主要病理因素,但其发病机制仍不明确。近年来国内外学者逐步意识到肠道菌群在 CVD 中发挥不可替代的作用,而肠道微生物分泌的细胞外囊泡(EVs)与自体细胞来源的 EVs 类似,在细胞间通信、增殖、分化和炎症等过程中起重要作用。目前国内外关于 EVs 在 CVD 的研究集中于宿主细胞来源的 EVs,然而肠道细菌来源的 EVs 在炎症反应、脂质摄取和血管功能障碍方面的作用同样不可忽视,同时肠道来源的 EVs 因其特性或能成为药物载体和治疗靶点,有望通过疫苗接种实现对 CVD 的防治。现就肠道菌群的 EVs 对心血管系统的作用进行阐述,以期对 CVD 的发病机制和治疗价值提供理论依据。

【关键词】 肠道菌群;细胞外囊泡;心血管疾病

【DOI】10.16806/j.cnki.issn.1004-3934.2023.04.015

Effect of Intestinal Microbial Extracellular Vesicles on Cardiovascular System

HUANG Lupei¹, CHENG Zedong²

(1. Graduate School, Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Shenyang 110000, Liaoning, China; 2. Department of Science and Technology, Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Shenyang 110000, Liaoning, China)

【Abstract】 The incidence of cardiovascular disease(CVD) is still high in China, and atherosclerosis is the main pathological basis for most cardiovascular disease, however the pathogenesis of atherosclerosis hasn't been figured out yet. Recent years, researchers at home and abroad have recognized that intestinal flora plays an irreplaceable role in CVD, and the extracellular vesicles (EVs) from intestinal flora is similar to those from host cells that they also have a huge influence on intercellular communication, proliferation, differentiation and inflammation. The current studies about the EVs of CVD are mainly focus on host cells, while the EVs from intestinal microflora also has a potential role in the inflammation, lipid uptake, vascular dysfunction of atherosclerosis. Meanwhile, because of the characteristic, EVs from gut may become drug carrier and targets for treatment, and these EVs are expected to achieve the prevention and treatment of CVD by vaccination. This paper expounds the function of EVs derived from intestinal flora and the role of it in the pathogenesis of cardiovascular system, in order to provide theoretical basis for the pathogenesis and therapeutic value of CVD.

【Key words】 Intestinal flora; Extracellular vesicles; Cardiovascular disease

心血管疾病(cardiovascular disease, CVD)已成为世界范围内导致死亡和残疾的主要原因,而动脉粥样硬化(atherosclerosis, AS)是心肌梗死、卒中和不稳定型心绞痛等 CVD 的主要病理因素^[1]。AS 是一种慢性炎性动脉疾病,是大部分 CVD 的始动阶段,其发病机制尚不清楚,与炎症、氧化应激、免疫反应和感染密切相关^[2],而肠道微生物区系作为炎症反应的刺激点之一,在 AS 和 CVD 的发生和发展中有重要作用,微生物来源的细胞外囊泡(extracellular vesicles, EVs)及其在细胞内和细胞间的沟通、携带物呈递和宿主免疫调节

中的功能成为疾病机制研究的新热点。

目前在 CVD 中研究最多的是宿主细胞(内皮细胞、巨噬细胞、树突状细胞等)来源的 EVs,与炎症、血管功能障碍密切相关^[1]。而肠道来源的 EVs 携带多种蛋白、遗传物质、酶和代谢产物等,同样在 CVD 中起着不可忽视的作用。现主要对 EVs 的主要功能及其影响心血管系统的作用机制进行阐述,以期对 CVD 的诊断与治疗提供理论依据。

1 肠道微生物区系和 AS

人体是一个超有机体,微生物通常与宿主为共生

基金项目:国家自然科学基金面上项目(81674078);辽宁省应用基础研究计划项目(2022JH2/101300043);辽宁中医药大学自然科学类重点项目(2021LZY037)

通信作者:成泽东, E-mail: 893554622@qq.com

和互利的关系^[3]。而肠道中的万亿细菌、病毒等构成肠道微生物区系,肠道微生物区系通过释放代谢产物,激活先天受体来影响宿主^[3]。肠道微生物区系主要由两个细菌门组成,即拟杆菌门和厚壁菌门,占人类肠道菌群的 90% 以上。

近十年的研究证明了肠道微生物群与 CVD 之间的因果联系^[4]。肠道菌群作为炎症的扳机点,脂质代谢和糖代谢的关键阶段,在心血管系统中的调节作用不容忽视。

2 肠道细菌来源的 EVs 的结构与功能

EVs 是一种由原核生物、真核生物和古生物释放的双层膜结构囊泡状小体,直径为 30 ~ 1 000 nm,拥有与亲本细胞相似的细胞膜^[5],本质上是一种普遍的、可远距离运输的细胞间通信媒介^[6]。

1965 年 Bishop 等^[7]首次发现了细菌的细胞外囊泡(bacteria extracellular vesicles, BEVs),它是由细菌释放的纳米级的脂质球形双层膜结构,大小为 20 ~ 400 nm,密度为 1.133 ~ 1.201 g/mL,携带了如肽、蛋白质(周质、细胞质、外膜蛋白等)、核酸、毒素、脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)、磷脂、离子代谢物及信号分子等物质^[8],可与宿主和其他细菌进行长距离的信息传递。不同种类的 BEVs 在结构、大小、密度和分子量组成上是不同的^[9],而 BEVs 的功能与结构及其携带物有密切联系。革兰氏阴性菌产生的 3 种 BEVs 中,以外膜囊泡(outer membrane vesicles, OMVs)最为常见,大小为 50 ~ 250 nm。革兰氏阳性菌主要通过内毒素触发的细胞死亡产生细胞质膜囊泡,它们通过脂磷壁酸与细胞质膜连接,依赖 Toll 样受体 2 激活免疫细胞^[8]。

BEVs 释放是普遍存在的,在多种肠道共生菌和病原菌中都能观察到,双向的细菌-宿主通信不涉及直接细胞接触,微生物和宿主来源的 EVs 都是这种域间串扰的关键因素^[10],这是肠道微生物介导病原体-宿主相互作用的功能单元^[11]。

BEVs 是独立的 0 分泌系统(type 0 secretion system, TOSS)。分泌系统是通过细胞膜输出生物分子帮助细菌定植的工具,这些大分子结构能将蛋白质和 DNA 运送到细胞外或靶细胞中^[12],具有以下作用:(1)致病作用;(2)协同作用;(3)拮抗作用。因此 BEVs 能改善细菌的适应性,并促进菌群之间以及宿主和微生物之间的相互作用,被称为 TOSS。

BEVs 是细菌的“防御工程”。BEVs 是应激反应的体现,不同菌株的 BEVs 产生速率是不同的,当细菌受到外界因素(如温度、氧气、铁、抗生素等)刺激时会大量释放,BEVs 是一种保护机制,它的产生量和速率

与其生存能力正相关^[9,13]。

BEVs 是细菌的“远程武器”。BEVs 携带的黏附分子可帮助细菌入侵宿主细胞^[14];BEVs 的微生物/病原体相关分子模式也可与宿主来源的宿主模式识别受体接触,引起宿主免疫耐受或免疫反应。此外,BEVs 含有多种毒力因子,可抑制其他细菌生长、截获养分、损害其功能和防御能力以帮助亲本细菌成功定植生态位^[14]。

3 肠道来源的 EVs 对心血管系统的作用

肠道屏障受损和内毒素血症是 CVD 发展过程中的关键介质,而如今微生物 EVs 到达体循环的途径主要是基于肠道渗漏理论。已有研究^[15]证明 BEVs 可从肠道转移到不同哺乳动物的单个细胞中,而 BEVs 的转移不仅可在肠道上皮细胞内诱导短期效应,而且还通过靶向肠道干细胞而产生遗传变化。肠屏障破坏后,有毒物质(如 BEVs)进入血液引起炎症,而这又进一步破坏肠道通透性^[16-17],这会进一步引起血清连蛋白(Zonulin)和含 LPS 的 BEVs 水平升高。在稳定状态下,少量 BEVs 仍可通过肠上皮的跨细胞作用逃逸到黏膜下通过血液传播^[18]。

动脉硬化和炎症反应常贯穿 CVD 始终,而肠道菌群与二者有显著的相互作用关系。Ziganshina 等^[19]在 AS 斑块中发现了细菌的 DNA,这些细菌主要来源于肠道,如金黄色葡萄球菌、牙龈卟啉单胞菌等。在肠道中,柯林斯菌属和乳酸杆菌属在 AS 患者中高表达,而罗氏菌属和拟杆菌属减少^[4]。革兰氏阴性菌广泛存在于胃肠道中,细菌丰度的变化引起 BEVs 释放增加,BEVs 的携带物质或许会激发机体慢性炎症,促进血管损伤和脂质摄取,已报道的 BEVs 影响动脉粥样硬化的相关机制见表 1^[20-31]。

3.1 幽门螺杆菌

幽门螺杆菌常定植于胃肠道,大部分存在于黏膜层,其 OMVs 通常被肠上皮细胞通过内吞作用摄取,目前无进入血液循环的证据^[32]。幽门螺杆菌 OMVs 的细胞毒素相关基因 A(cytotoxin associated gene A, CagA)和 LPS 通过活性氧(reactive oxygen species, ROS)/核因子- κ B(nuclear factor- κ B, NF- κ B)信号通路促使内皮损伤,加速 AS 斑块的形成^[33]。幽门螺杆菌 EVs 还可通过 miR-25/KLF2 轴调节 NF- κ B 信号通路靶向调控人脐静脉内皮细胞,使人脐静脉内皮细胞内的 NF- κ B 活性增强,血管细胞黏附分子-1(vascular cell adhesion molecule-1, VCAM-1)、细胞间黏附分子-1(intercellular adhesion molecule-1, ICAM-1)、白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6)、单核细胞趋化蛋白-1 水平显著升高^[20],引起血栓形成和血管炎症反应。此外,幽

门螺杆菌感染通过宿主细胞外切体来损害患者和小鼠的内皮功能^[21]。

表 1 肠道微生物 EVs 对 AS 作用机制

BEVs 来源	机制	参考文献
幽门螺杆菌	CagA 阳性幽门螺杆菌 OMVs 可通过激活 ROS/NF-κB 信号通路引起内皮损伤,进而加速 AS 斑块的形成;CagA 阳性幽门螺杆菌 OMVs 提高了胆固醇水平;幽门螺杆菌 OMVs 能引起人脐静脉内皮细胞的增殖抑制和凋亡	[20-21]
脆弱拟杆菌和多形拟杆菌	两种 OMVs 均显著增加人体肠道 Caco-2 细胞中 NPC1L1 的表达,引起肠道胆固醇吸收增加和脂质堆积;增加动脉内中膜厚度、VCAM-1 和 ICAM-1 的含量	[22-23]
嗜黏蛋白阿克曼菌	可减轻体重和脂肪重量,减少脂肪组织;改善机体炎症,降低血糖和胆固醇水平;通过影响相关基因减轻肥胖;激活 PPAR,以减少泡沫细胞和炎症反应	[24-26]
大肠杆菌	使心肌细胞受损,心壁厚度增加,心率加快;引起血管钙化;使血液中肌钙蛋白显著增加	[27-28]
致病性古菌	增加自由基形成,促使 MMP9 释放以增加 AS 斑块不稳定性	[29]
牙龈卟啉单胞菌	牙龈假单胞菌 OMVs 促进血管平滑肌细胞钙化;引起血栓形成,增加血管通透性,诱发血管炎症	[30-31]

注:CagA,细胞毒素相关基因 A;ROS,活性氧;NF-κB,核因子-κB;VCAM-1,血管细胞黏附分子-1;ICAM-1,细胞间黏附分子-1;NPC1L1,尼曼-匹克 C1 型类似蛋白 1;PPAR,过氧化物酶体增殖物激活受体;MMP9,基质金属蛋白酶 9。

3.2 拟杆菌

高胆固醇血症是 CVD 的主要致病因素之一,革兰氏阴性菌 OMVs 不仅能通过破坏肠道屏障来影响 CVD 患者脂质代谢,加速脂质堆积和 AS 斑块的形成。尼曼-匹克 C1 型类似蛋白 1 (Niemann-Pick C1 like 1, NPC1L1) 位于小肠黏膜上皮细胞中,是肠道胆固醇转运入血的关键蛋白,脆弱拟杆菌和多形拟杆菌的 OMVs 通过提高 NPC1L1 水平,引起肠道胆固醇吸收增加,这与胆固醇运输、脂类稳态和胆固醇稳态密切相关^[22]。此外,高水平的 NPC1L1 也与血管内皮功能障碍相关,增加动脉内中膜厚度、VCAM-1 和 ICAM-1 的含量^[23]。

3.3 嗜黏蛋白阿克曼菌

嗜黏蛋白阿克曼菌是一种黏蛋白降解菌,是人类肠道微生物中含量最丰富的单一物种之一,近年关于其对肥胖的机制研究^[24]较多,肥胖是 CVD 的危险因素之一,可导致血脂异常及胰岛素抵抗。嗜黏蛋白阿克曼菌与其 EVs 作用相近,其 EVs 并未直接影响 AS 的症状或临床指标,而是通过增加紧密连接蛋白的表达,改善由高脂血症引起的肠道屏障通透性,显著减少高脂小鼠体重和脂肪重量,明显降低血糖、胆固醇水平和代谢性炎症反应以此间接地改善心血管系统^[25]。此外,普拉梭菌和嗜黏蛋白阿克曼菌 EVs 均能使过氧化物酶体增殖物激活受体 (peroxisome proliferator-activated receptor, PPAR) 激活,以降低血脂水平和炎症反应,提高斑块的稳定性^[26]。

3.4 大肠杆菌

大肠杆菌是人类肠道中的机会致病菌,在 CVD 患者体内该菌种数量显著增加,且在人类 AS 斑块中发现了来自大肠杆菌的 LPS^[34]。一项研究^[27]表明,大肠杆菌 OMVs 可诱导心肌细胞出现不规则钙振荡,血液

中肌钙蛋白显著增加,心壁厚度增加,心率加快;此外 OMVs 还能引起血管钙化,能提高促炎细胞因子肿瘤坏死因子-α、IL-6 等的表达,促进 CVD 发生和发展,损伤心肌细胞和心功能。来自尿路致病性大肠杆菌、铜绿假单胞菌和淋球菌的 OMVs 能诱导依赖 B 细胞淋巴瘤因子-2 家族成员促凋亡蛋白 (BCL2 antagonist/killer, BAK) 途径和非依赖 BAK 途径的线粒体凋亡,使巨噬细胞激活 NOD 样受体热蛋白结构域相关蛋白 3 (NOD-like receptor pyrin domain containing 3, NLRP3) 炎症小体介导的免疫反应^[28],NLRP3 炎症小体是驱动血管炎症反应的关键因素。虽然目前无大肠杆菌、铜绿假单胞菌和淋球菌 OMVs 通过线粒体凋亡影响心血管系统的直接证据,但线粒体凋亡与 AS、心肌梗死和心房颤动等 CVD 关系密切,在 CVD 发病机制研究方面有重大潜力。

3.5 古菌

古菌病毒也是肠道微生物区系中的重要组成部分,经检测共有 56 个古菌种存在于肠道,其中以产甲烷古菌属最为丰富^[35],古菌的存在与 AS 的加重呈正相关^[36]。Moreno 等^[29]在重症急性心肌梗死患者血清中检测到大量具有高负电荷的古菌微泡 (microvesicles, MVs)。古菌 MVs 数量与 AS 严重程度成正比,而在重症患者的不稳定斑块中,肺炎支原体和古菌的共生会加剧外周血中这两种病原体 MVs 的释放,引起血清基质金属蛋白酶 9 (matrix metalloproteinase 9, MMP9) 水平显著升高,MMP9 引起的氧化应激与斑块破裂和血栓形成密切相关。

3.6 牙龈卟啉单胞菌

牙龈卟啉单胞菌属于口腔菌群,但 CVD 与口腔菌群间的联系已得到证实,同时口腔菌群与肠道菌群存在相互作用,口腔细菌仍可定植于肠道^[37]。牙龈假单

孢菌及其 OMVs 可聚集血小板促使 AS 血栓形成^[38], 牙龈卟啉单胞菌 OMVs 还能直接损伤血管内皮细胞, 还可引起血管平滑肌细胞钙化^[30-31]。此外, 其 OMVs 能通过裂解血小板内皮细胞黏附分子-1 来破坏血管内皮通透性, 这有助于免疫细胞通过内皮向动脉内膜迁移来诱导血管炎症^[31]。

4 肠道来源的 BEVs 在 CVD 中的临床价值

4.1 药物载体与治疗靶点

EVs 具有独特的低免疫原性、高稳定性及高特异性等特点, 在 CVD 的治疗中有较大应用潜力^[39-40]。天然的或生物改造过的 BEVs 同样可作为药物载体, 利用其表面的配体-受体识别、基因和表面修饰与宿主细胞靶向结合^[13], 将药物精确地输送到细胞内, 起到特异性、高效的治疗作用。天然的 BEVs 在生物修饰后一定程度上能增强其稳定性、生物活性以及呈递、细胞内转运和靶向结合能力^[41]。如产酶溶杆菌 C3 的外膜 OMVs 可将抗生素输送到靶真菌生物体^[42]。此外, 由于 BEVs 高特异性靶向结合能力使其能成为治疗靶点。Roufaïel 等^[43]提出, 用 LPS 刺激模式识别受体后, 可在主动脉内皮细胞表面检测到 CD11c⁺ 活化蛋白 C, 能有效清除内膜中的衣原体而不会引起局部炎症反应。Xia 等^[21]证明中性鞘磷脂酶抑制剂 GW4869 抑制外切体分泌, 可有效保护幽门螺杆菌感染小鼠的内皮功能。

4.2 疫苗制备

由于 BEVs 外膜成分能诱导免疫反应, 且具有低免疫原性和稳定性, 因此还可制备疫苗来防治 CVD, 或许将健康人群肠道 BEVs 注射到患者体内将成为一种新方式^[44]。目前已有将 OMVs 疫苗运用到脑膜炎、淋病、肿瘤等疾病的研究报道^[45-46]。近年来有不少关于用细菌来源的疫苗治疗 AS 的报道, 如肺炎链球菌、牙龈卟啉单胞菌等^[47-48], 用牙龈卟啉单胞菌从鼻腔进行接种, 显著减少了 ApoE^{-/-} 小鼠的 AS 斑块大小, 治疗效果可达到他汀类药物组水平; 间隔 6 个月接受 2 次 13 价肺炎链球菌多糖疫苗接种, 可使患者抗氧化低密度脂蛋白 IgG 和 IgM 抗体显著增加, 有效缓解因氧化低密度脂蛋白导致的免疫反应。而 OMVs 能更有效地诱导体液免疫反应, OMVs 疫苗不仅能作为异种抗原载体, 还具有跨属保护的潜力^[49]。但 BEVs 来源的疫苗也有局限性, OMVs 能引起严重毒性反应^[46]; 由于目前技术的缺陷, BEVs 产量低, 不足以形成规模; 易被其他细胞蛋白质污染; 去污剂可能破坏其膜成分会影响其特异性或呈递功能; BEVs 在不同产生途径下所携带的物质不同, 激发的免疫反应是不同的, 如何进行 BEVs 筛选和剂量确定也是亟待解决的问题。

5 展望

目前肠道菌群与 CVD 的相关研究还局限于有限数量的病原体-宿主之间的相互作用, 胃肠道细菌 EVs 对 CVD、AS、心肌梗死等作用机制研究仍处于初级阶段。由于革兰氏阳性菌的研究相对缺乏, 本文主要聚焦于革兰氏阴性菌 EVs 对 CVD 的影响, 但革兰氏阳性菌 EVs 又会对 CVD 加重或缓解产生什么作用, 不同来源、种类和产生途径的 BEVs 如何参与 CVD 的发生和发展, 在不同的 CVD 中是否存在共同的致病 BEVs, 目前相关的研究与信息相对较少, 这将给基于肠道菌群探讨 CVD 的发病机制和治疗方案提供不一样的视角。

参考文献

- [1] Konkoth A, Saraswat R, Dubrou C, et al. Multifaceted role of extracellular vesicles in atherosclerosis[J]. *Atherosclerosis*, 2021, 319:121-131.
- [2] 浦冬青, 刘政, 周超, 等. 近 10 年动脉粥样硬化发病机制研究热点的可视化分析[J]. *世界科学技术: 中医药现代化*, 2021, 23(7):2276-2284.
- [3] Macia L, Nanan R, Hosseini-Beheshti E, et al. Host- and microbiota-derived extracellular vesicles, immune function, and disease development[J]. *Int Mol Sci*, 2019, 21(1):107.
- [4] Jonsson AL, Bäckhed F. Role of gut microbiota in atherosclerosis[J]. *Nat Rev Cardiol*, 2017, 14(2):79-87.
- [5] Peng M, Liu X, Xu G. Extracellular vesicles as messengers in atherosclerosis[J]. *J Cardiovasc Transl Res*, 2020, 13(2):121-130.
- [6] Kalluri R, Lebleu VS. The biology, function, and biomedical applications of exosomes[J]. *Science*, 2020, 367(6478):eaau6977.
- [7] Bishop DG, Work E. An extracellular glycolipid produced by *Escherichia coli* grown under lysine-limiting conditions[J]. *Biochem J*, 1965, 96(2):567-576.
- [8] Tulkens J, de Wever O, Hendrix A. Analyzing bacterial extracellular vesicles in human body fluids by orthogonal biophysical separation and biochemical characterization[J]. *Nat Protoc*, 2020, 15(1):40-67.
- [9] Toyofuku M, Nomura N, Eberl L. Types and origins of bacterial membrane vesicles[J]. *Nat Rev Microbiol*, 2019, 17(1):13-24.
- [10] Diaz-Garrido N, Badia J, Baldomà L. Microbiota-derived extracellular vesicles in interkingdom communication in the gut[J]. *J Extracell Vesicles*, 2021, 10(13):e12161.
- [11] Chelakkot C, Choi Y, Kim DK, et al. Akkermansia muciniphila-derived extracellular vesicles influence gut permeability through the regulation of tight junctions[J]. *Exp Mol Med*, 2018, 50(2):e450.
- [12] Costa TR, Felisberto-Rodrigues C, Meir A, et al. Secretion systems in Gram-negative bacteria: structural and mechanistic insights[J]. *Nat Rev Microbiol*, 2015, 13(6):343-359.
- [13] Huang W, Meng L, Chen Y, et al. Bacterial outer membrane vesicles as potential biological nanomaterials for antibacterial therapy[J]. *Acta Biomater*, 2022, 140:102-115.
- [14] Wang Y, Hoffmann JP, Baker SM, et al. Inhibition of *Streptococcus mutans* biofilms with bacterial-derived outer membrane vesicles[J]. *BMC Microbiol*, 2021, 21(1):234.
- [15] Bittel M, Reichert P, Sarfati I, et al. Visualizing transfer of microbial biomolecules by outer membrane vesicles in microbe-host-communication in vivo[J]. *J Extracell Vesicles*, 2021, 10(12):e12159.
- [16] Noval Rivas M, Wakita D, Franklin MK, et al. Intestinal permeability and IgA provoke immune vasculitis linked to cardiovascular inflammation[J]. *Immunity*, 2019, 51(3):508-521. e6.

- [17] Chakaroun RM, Massier L, Kovacs P. Gut microbiome, intestinal permeability, and tissue bacteria in metabolic disease: perpetrators or bystanders? [J]. *Nutrients*, 2020, 12(4):1082.
- [18] Saad MJ, Santos A, Prada PO. Linking gut microbiota and inflammation to obesity and insulin resistance [J]. *Physiology (Bethesda)*, 2016, 31(4):283-293.
- [19] Ziganshina EE, Sharifullina DM, Lozhkin AP, et al. Bacterial communities associated with atherosclerotic plaques from Russian individuals with atherosclerosis[J]. *PLoS One*, 2016, 11(10):e0164836.
- [20] Li N, Liu SF, Dong K, et al. Exosome-transmitted miR-25 induced by *H. pylori* promotes vascular endothelial cell injury by targeting KLF2[J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2019, 9:366.
- [21] Xia X, Zhang L, Chi J, et al. *Helicobacter pylori* infection impairs endothelial function through an exosome-mediated mechanism[J]. *J Am Heart Assoc*, 2020, 9(6):e014120.
- [22] Badi SA, Motahary A, Bahramali G, et al. The regulation of Niemann-Pick C1-Like 1 (NPC1L1) gene expression in opposite direction by *Bacteroides spp.* and related outer membrane vesicles in Caco-2 cell line [J]. *J Diabetes Metab Disord*, 2020, 19(1):415-422.
- [23] 孙常青, 郭丽蓉, 乔伟桐, 等. NPC1L1 抑制剂对冠心病患者血管内皮功能的影响[J]. *中国卫生标准管理*, 2021, 12(6):114-117.
- [24] Díez-Sainz E, Milagro FI, Riezu-Boj JJ, et al. Effects of gut microbiota-derived extracellular vesicles on obesity and diabetes and their potential modulation through diet[J]. *J Physiol Biochem*, 2022, 78(2):485-499.
- [25] Ashrafi F, Shahriari A, Behrouzi A, et al. *Akkermansia muciniphila*-Derived extracellular vesicles as a mucosal delivery vector for amelioration of obesity in mice[J]. *Front Microbiol*, 2019, 10:2155.
- [26] Moosavi SM, Akhavan Sepahi A, Mousavi SF, et al. The effect of *Faecalibacterium prausnitzii* and its extracellular vesicles on the permeability of intestinal epithelial cells and expression of PPARs and ANGPTL4 in the Caco-2 cell culture model[J]. *J Diabetes Metab Disord*, 2020, 19(2):1061-1069.
- [27] Svennerholm K, Park KS, Wikström J, et al. *Escherichia coli* outer membrane vesicles can contribute to sepsis induced cardiac dysfunction[J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1):17434.
- [28] Carnevale R, Nocella C, Petrozza V, et al. Localization of lipopolysaccharide from *Escherichia coli* into human atherosclerotic plaque [J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1):3598.
- [29] Moreno CR, Ramires JAF, Lotufo PA, et al. Morphomolecular characterization of serum nanovesicles from microbiomes differentiates stable and infarcted atherosclerotic patients[J]. *Front Cardiovasc Med*, 2021, 8:694851.
- [30] Yang WW, Guo B, Jia WY, et al. *Porphyromonas gingivalis*-derived outer membrane vesicles promote calcification of vascular smooth muscle cells through ERK1/2-RUNX2[J]. *FEBS Open Bio*, 2016, 6(12):1310-1319.
- [31] Farrugia C, Stafford GP, Murdoch C. *Porphyromonas gingivalis* outer membrane vesicles increase vascular permeability [J]. *J Dent Res*, 2020, 99(13):1494-1501.
- [32] Qiang L, Hu J, Tian M, et al. Extracellular vesicles from *helicobacter pylori*-infected cells and *helicobacter pylori* outer membrane vesicles in atherosclerosis [J]. *Helicobacter*, 2022, 27(2):e12877.
- [33] Wang N, Zhou F, Chen C, et al. Role of outer membrane vesicles from *helicobacter pylori* in atherosclerosis[J]. *Front Cell Dev Biol*, 2021, 9:673993.
- [34] Deo P, Chow SH, Han ML, et al. Mitochondrial dysfunction caused by outer membrane vesicles from Gram-negative bacteria activates intrinsic apoptosis and inflammation[J]. *Nat Microbiol*, 2020, 5(11):1418-1427.
- [35] 李冉. 基于宏基因组学的人体不同部位的古菌及古菌病毒研究[D]. 深圳: 中国科学院大学(中国科学院深圳先进技术研究院), 2022.
- [36] Rosenfeld ME. Inflammation and atherosclerosis: direct versus indirect mechanisms[J]. *Curr Opin Pharmacol*, 2013, 13(2):154-160.
- [37] Gao L, Xu T, Huang G, et al. Oral microbiomes: more and more importance in oral cavity and whole body[J]. *Protein Cell*, 2018, 9(5):488-500.
- [38] Sharma A, Novak EK, Sojar HT, et al. *Porphyromonas gingivalis* platelet aggregation activity; outer membrane vesicles are potent activators of murine platelets[J]. *Oral Microbiol Immunol*, 2000, 15(6):393-396.
- [39] 李旻俊, 彭泽琳, 张良清. 外泌体药物递送载体构建及治疗心血管疾病的进展[J]. *中华实用诊断与治疗杂志*, 2021, 35(7):746-749.
- [40] de Abreu RC, Fernandes H, da Costa Martins PA. Native and engineered extracellular vesicles for cardiovascular therapeutics[J]. *Nat Rev Cardiol*, 2020, 17(11):685-697.
- [41] Gao J, Wang S, Wang Z. High yield, scalable and remotely drug-loaded neutrophil-derived extracellular vesicles (EVs) for anti-inflammation therapy [J]. *Biomaterials*, 2017, 135:62-73.
- [42] Meers PR, Liu C, Chen R, et al. Vesicular delivery of the antifungal antibiotics of *Lysobacter enzymogenes* C3 [J]. *Appl Environ Microbiol*, 2018, 84(20):e01353-18.
- [43] Roufaei M, Gracey E, Siu A, et al. CCL19-CCR7-dependent reverse transendothelial migration of myeloid cells clears *Chlamydia muridarum* from the arterial intima[J]. *Nat Immunol*, 2016, 17(11):1263-1272.
- [44] McQuade JL, Daniel CR, Helmink BA, et al. Modulating the microbiome to improve therapeutic response in cancer [J]. *Lancet Oncol*, 2019, 20(2):e77-e91.
- [45] Micoli F, MacLennan CA. Outer membrane vesicle vaccines [J]. *Semin Immunol*, 2020, 50:101433.
- [46] Park KS, Svennerholm K, Crescitelli R, et al. Synthetic bacterial vesicles combined with tumour extracellular vesicles as cancer immunotherapy [J]. *J Extracell Vesicles*, 2021, 10(9):e12120.
- [47] Ha HS, Kim TY, Han SJ, et al. Anti-atherosclerotic vaccination against *Porphyromonas gingivalis* as a potential comparator of statin in mice[J]. *PeerJ*, 2021, 9:e11293.
- [48] Grievink HW, Gal P, Ozsvar Kozma M, et al. The effect of a 13-valent conjugate pneumococcal vaccine on circulating antibodies against oxidized LDL and phosphorylcholine in man, a randomized placebo-controlled clinical trial [J]. *Biology (Basel)*, 2020, 9(11):345.
- [49] Wolf D, Ley K. Immunity and inflammation in atherosclerosis [J]. *Circ Res*, 2019, 124(2):315-327.

收稿日期:2022-08-03