

不同细胞来源外泌体参与心血管疾病发生的研究进展

余华灵 王俊程 高丹忱 朱建华

【摘要】 外泌体是一种细胞外囊泡,可通过内溶酶体途径被细胞释放,作为信息载体参与细胞间通讯。不同细胞可分泌不同外泌体,后者携带的物质包括微小 RNA、蛋白质、脂质等。有研究发现不同来源外泌体所携带的内容物也不尽相同,在细胞间通讯中起到重要作用。该文介绍外泌体在心血管各细胞间的通讯作用,为临床进一步探索相关靶向治疗提供新思路。

【关键词】 外泌体;心血管疾病;微小 RNA;细胞间通讯

doi: 10.3969/j.issn.1673-6583.2022.03.006

21 世纪以来,全球心血管疾病发病率较前明显上升,已成为严重威胁人类健康的重要因素^[1]。

外泌体是近年来发现一类细胞外囊泡,其广泛存在于人体组织,几乎可被人体所有细胞分泌^[2]。外泌体直径约 30~100 nm,具有脂质双分子层膜结构,最初被发现于羊网织红细胞^[3],主要通过内溶酶体途径从细胞中释放^[4],作为细胞间通讯的载体。越来越多的证据表明,外泌体在免疫应答、凋亡、血管生成和炎症反应中发挥着重要作用。外泌体对靶细胞的作用主要依赖于微小 RNA (miRNA),也可携带如蛋白质、脂质、Piwi 蛋白相作用 RNA (piRNA) 等物质^[5],但其在细胞间通讯中起到的作用目前尚未明确。

1 外泌体与心血管疾病

Ye 等^[6]对 20 例慢性心力衰竭(心衰)患者和健康对照组进行了血浆外泌体的提取,通过 DNA 测序和数字聚合酶链式反应(dPCR)对血浆源外泌体的线粒体 DNA(mtDNA)进行定性和定量分析,发现慢性心衰患者血浆外泌体颗粒数量和外泌体 mtDNA 拷贝数均升高。Zheng 等^[7]比较了急性心肌梗死(AMI)患者($n=15$)与对照组($n=15$)循环外泌体长链非编码 RNA(lncRNA)的测序谱,发现 AMI 患者循环外泌体中 lncRNAs ENST00000556899.1 和 ENST00000575985.1 升高,提示其可能作为预测 AMI 预后的潜在生物标志物。

PiRNA 是长度为 24~32 个核苷酸的非编码 RNA(ncRNA)^[8]。Yang 等^[9]对心血管疾病患者外泌体中 piRNA 的测序发现,585 个 piRNA 在心衰患者中表达上调,4 623 个 piRNA 表达下调。其中,has-piR-020009 和 has-piR-006426 2 种外泌体的差异最为显著,提示部分 piRNA 很可能参与心衰进展。

外泌体内容物的相对表达水平在很大程度上取决于来源的细胞类型,并可能在不同的环境条件下发生变化^[10]。

2 不同细胞来源外泌体与心血管疾病

2.1 心肌成纤维细胞来源外泌体与心血管疾病

心肌成纤维细胞(CF)是细胞外基质沉积和瘢痕形成的主要效应细胞^[11]。Bang 等^[12]使用电子显微镜发现纯心肌成纤维细胞培养的细胞质中存在典型的多泡体(MVBs),这些多泡体质膜向内凹陷,形成腔内小泡,随后与成纤维细胞的质膜融合,将小泡释放至胞外,形成外泌体,该过程也受到中性鞘磷脂酶 2(SMPD2)的调控。此外,miR-21 主要在心脏成纤维细胞中表达,而它的客链——miR-21* 则富集于成纤维细胞分泌的外泌体中。miR-21* 可通过降低 SORBS2 和 PDLIM5 蛋白的表达诱导心肌肥大。

Lyu 等^[13]通过对新生大鼠的成纤维细胞和心肌细胞进行分离培养发现,血管紧张素 II(Ang II)可刺激心肌成纤维细胞释放外泌体,后者可通过激活丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)和蛋白激酶 B(Akt)上调心肌细胞中的肾素-血管紧张素系统(RAS),从而诱导心肌细胞肥大,但其在心肌细胞

中上调和激活 RAS 的确切机制尚未明确。

2.2 心肌细胞来源外泌体与心血管疾病

心肌细胞来源外泌体可通过介导心肌细胞中热休克蛋白 (HSP) 的释放激活免疫。HSP 是人体内广泛存在的一类热应激蛋白, 按照大小分为 HSP60、HSP70、HSP90、HSP110 及小分子热休克蛋白, 其中大部分 HSP 具有分子伴侣活性, 在蛋白质折叠、转运和细胞信号转导中有重要功能^[14]。Gupta 等^[15]对心肌细胞来源外泌体进行了研究, 并强调具有强免疫原性的热休克蛋白 HSP60 在成人心肌细胞运输中发挥作用, 而其他类型细胞来源外泌体并未发现该类蛋白发挥作用。

此外, 心肌细胞来源外泌体也是心脏 - 内皮通信系统的关键组成部分^[16]。葡萄糖缺乏会驱动该类外泌体的合成和分泌。这些外泌体装载有葡萄糖转运体和糖酵解酶, 可被内皮细胞吸收, 并提高内皮细胞摄取葡萄糖和产生丙酮酸的能力, 进一步提高了糖酵解活性。

2.3 内皮细胞来源外泌体与心血管疾病

Halkein 等^[17]发现, 外泌体 miRNA 能介导心肌细胞和内皮细胞之间的信号转导。例如, 催乳素水解片段能通过刺激内皮细胞释放载有 miR-146a 的外泌体。这些外泌体被心肌细胞获取后, 可导致其代谢活性降低。

Van Balkom 等^[18]研究了内皮细胞来源外泌体携带的 hsa-miR-214 在细胞通讯间的作用, 发现其可导致受体细胞中毛细血管扩张性共济失调突变基因 (ATM) 的下调, 从而抑制细胞衰老, 诱导血管生成。

Kruppel 样因子 2 (KLF2) 在介导动脉粥样硬化保护诱导内皮细胞基因型中起重要作用, Hergenreider 等^[19]发现 KLF2 可与启动子结合, 诱导 miR-143/145 表达上调, 以调控平滑肌细胞的表型。以上途径可通过外泌体在内皮细胞与平滑肌细胞之间的转运完成。

2.4 脂肪细胞来源外泌体与心血管疾病

脂联素是脂肪细胞分泌的一种内源性生物活性多肽, 它是一种胰岛素增敏物质, 具有改善胰岛素抵抗和动脉硬化的作用^[20]。Flaherty 等^[21]发现脂肪细胞除了脂解反应 (通过中性脂肪酶的作用释放脂肪酸和甘油) 外, 还可以通过外泌体直接释放中性脂质。也有研究表明, 脂联素可通过与 T-钙黏蛋白结合被内吞到核内体, 从而刺激外泌体的

生成^[22]。

研究发现, 肥厚性脂肪细胞来源外泌体高表达 miR-802-5p, 而 HSP60 则是 miR-802-5p 的直接靶标, 其沉默可诱导胰岛素抵抗, 并抵抗脂联素的胰岛素有增敏作用^[23]。由此可知, 心肌细胞的胰岛素敏感性也通过 HSP60 受 miR-802-5p 的负调控影响。

2.5 红细胞和血小板来源外泌体与心血管疾病

红细胞可通过包括与内皮细胞的相互作用在内的机制参与心血管系统的调节^[24]。Huang 等^[25]提取了成熟红细胞内存在的外泌体, 发现 miR-125b-5p, miR-4454 和 miR-451a 3 种 miRNA 较为丰富, 但具体作用还需进一步探索。

Davidson 等^[26]探讨了血小板在心肌损伤中的作用。冠状动脉主要为心脏供血, 前者形成斑块, 斑块破裂后释放组织因子和血小板活化因子, 可使血小板迅速黏附聚集成血栓, 易致血管急性闭塞从而导致心肌缺血缺氧。有研究发现, 血小板还可通过释放外泌体影响心脏代谢^[27]。Sun 等^[28]比较了急性冠脉综合征 (ACS) 患者与健康人群血清中血小板来源外泌体携带 miR-126 和血管生成因子的水平, 发现 ACS 组含量均高于对照组, 进一步表明激活血小板来源外泌体可导致 miR-126 和血管生成因子过表达, 这可为斑块内血管生成的治疗提供新思路。

2.6 免疫细胞来源外泌体与心血管疾病

免疫细胞包括树突状细胞、单核 / 巨噬细胞、B/T 淋巴细胞、肥大细胞等, 它们介导的免疫应答在多种心血管疾病进展过程中起着重要作用, 但具体机制尚未完全阐明^[29]。Cai 等^[30]发现 CD4⁺T 细胞在心肌梗死的心肌细胞中明显浸润, 活化的 CD4⁺T 细胞来源外泌体是成纤维细胞激活的重要载体, 而成纤维细胞是心脏纤维化重构的核心要素。其中, 此类外泌体中的 miR-142-3p 可充当信号转导体。

有研究利用脓毒症诱导小鼠心肌炎发现, 使用 GW4869 抑制巨噬细胞源性外泌体释放, 可以减少炎症反应, 对抗心功能不全, 从而延长小鼠生存时间^[31]。另外有研究表明, 这类外泌体可能通过将其内携带的 miR-155 转移至成纤维细胞, 抑制成纤维细胞增殖, 从而增强炎症反应^[32]。见表 1。

3 小结

外泌体是心血管疾病中新兴的研究领域, 目前对外泌体的研究高度依赖于所使用的分离和纯化

方法,这对分离提取的步骤和实验室仪器提出了更高的要求^[33]。不同来源外泌体携带的不同小分子

物质也有望成为未来心血管疾病的潜在治疗靶点,为精准医疗提供依据,但仍需进一步研究探索。

表1 不同细胞来源外泌体作用

外泌体来源	作用途径	效果
心肌成纤维细胞	(1)降低SORBS2和PDLIM5蛋白的表达 (2)激活丝裂原活化蛋白激酶(MAPKs)和蛋白激酶B(Akt)上调心肌细胞中的肾素血管紧张素系统(RAS)	诱导心肌细胞肥大
心肌细胞	(1)介导释放心肌细胞中的热休克蛋白 (2)载有葡萄糖转运体和糖酵解酶,可提升内皮细胞葡萄糖摄取和生存丙酮酸的能力	(1)激活免疫反应 (2)提高糖酵解活性
内皮细胞	(1)载有miR-146a,被心肌细胞吸收 (2)载有hsa-miR-214,导致受体细胞中毛细血管扩张性共济失调突变基因(ATM)下调 (3)krüppel样因子2(KLF2)与启动子结合,诱导miR-143/145表达上调	(1)降低心肌细胞代谢活性 (2)抑制细胞衰老,诱导血管生成 (3)调控平滑肌细胞表型
脂肪细胞	(1)直接释放中性脂质 (2)高表达miR-802-5p,抑制热休克蛋白(HSP60)	(1)诱导心室肌细胞胰岛素抵抗 (2)增强氧化应激
红细胞或血小板	(1)成数红细胞来源外泌体高表达miR-125b-5p、miR-4454和miR-451a (2)血小板来源外泌体高表达miR-126和血管生成因子	(1)影响心脏代谢 (2)诱导斑块内血管生成
免疫细胞	高表达miR-142-3p、miR-155等	(1)诱导心肌纤维重塑 (2)增强炎症反应

参 考 文 献

[1] Jia X, Al Rifai M, Hussain A, et al. Highlights from studies in cardiovascular disease prevention presented at the digital 2020 European Society of Cardiology Congress: prevention is alive and well[J]. *Curr Atheroscler Rep*, 2020, 22(12):72.

[2] Yuan MJ, Maghsoudi T, Wang T. Exosomes mediate the intercellular communication after myocardial infarction[J]. *Int J Med Sci*, 2016, 13(2):113-116.

[3] Johnstone RM, Adam M, Hammond JR, et al. Vesicle formation during reticulocyte maturation. Association of plasma membrane activities with released vesicles (exosomes) [J]. *J Biol Chem*, 1987, 262(19):9412-9420.

[4] Pfeifer P, Werner N, Jansen F. Role and function of microRNAs in extracellular vesicles in cardiovascular biology[J]. *BioMed Res Int*, 2015, 2015:161393.

[5] Sahoo S, Losordo DW. Exosomes and cardiac repair after myocardial infarction[J]. *Circ Res*, 2014, 114(2):333-344.

[6] Ye W, Tang X, Yang Z, et al. Plasma-derived exosomes contribute to inflammation via the TLR9-NF-κB pathway in chronic heart failure patients[J]. *Mol Immunol*, 2017, 87:114-121.

[7] Zheng ML, Liu XY, Han RJ, et al. Circulating exosomal long non-coding RNAs in patients with acute myocardial infarction[J]. *J Cell Mol Med*, 2020, 24(16):9388-9396.

[8] Weick EM, Miska EA. piRNAs: from biogenesis to function[J]. *Development* 2014, 141(18):3458-3471.

[9] Yang J, Xue FT, Li YY, et al. Exosomal piRNA sequencing reveals differences between heart failure and healthy patients[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2018, 22(22):7952-7961.

[10] Ibrahim A, Marbán E. Exosomes: fundamental biology and roles in cardiovascular physiology[J]. *Annu Rev Physiol*, 2016, 78:67-83.

[11] Tikhomirov R, Donnell BR, Catapano F, et al. Exosomes: from potential culprits to new therapeutic promise in the setting of cardiac fibrosis[J]. *Cells*, 2020, 9(3):592.

[12] Bang C, Batkai S, Dangwal S, et al. Cardiac fibroblast-derived microRNA passenger strand-enriched exosomes mediate cardiomyocyte hypertrophy[J]. *J Clin Invest*, 2014, 124(5):2136-2146.

[13] Lyu L, Wang H, Li B, et al. A critical role of cardiac fibroblast-derived exosomes in activating renin angiotensin system in cardiomyocytes[J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2015, 89(Pt B):268-279.

[14] Milani A, Basirnejad M, Bolhassani A. Heat-shock proteins in diagnosis and treatment: an overview of different biochemical and immunological functions[J]. *Immunotherapy*, 2019, 11(3):215-239.

[15] 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-H3056.

[16] Garcia NA, Moncayo-Arlandi J, Sepulveda P, et al. Cardiomyocyte exosomes regulate glycolytic flux in endothelium by direct transfer of GLUT transporters and glycolytic enzymes[J]. *Cardiovasc Res*, 2016, 109(3):397-408.

[17] Halkein J, Tabruyn SP, Ricke-Hoch M, et al. MicroRNA-

- 146a is a therapeutic target and biomarker for peripartum cardiomyopathy[J]. *J Clin Invest*, 2013, 123(5):2143-2154.
- [18] Van Balkom BW, De Jong OG, Smits M, et al. Endothelial cells require miR-214 to secrete exosomes that suppress senescence and induce angiogenesis in human and mouse endothelial cells[J]. *Blood*, 2013, 121(19):3997-4006.
- [19] Hergenreider E, Heydt S, Tréguer K, et al. Atheroprotective communication between endothelial cells and smooth muscle cells through miRNAs[J]. *Nat Cell Biol*, 2012, 14(3):249-256.
- [20] Fang H, Judd RL. Adiponectin regulation and function[J]. *Compr Physiol*, 2018, 8(3):1031-1063.
- [21] Flaherty SE, Grijalva A, Xu X, et al. A lipase-independent pathway of lipid release and immune modulation by adipocytes[J]. *Science*, 2019, 363(6430):989-993.
- [22] Obata Y, Kita S, Koyama Y, Fet al. Adiponectin/T-cadherin system enhances exosome biogenesis and decreases cellular ceramides by exosomal release[J]. *JCI insight*, 2018, 3(8):e99680.
- [23] Wen Z, Li J, Fu Y, et al. Hypertrophic adipocyte-derived exosomal miR-802-5p contributes to insulin resistance in cardiac myocytes through targeting HSP60[J]. *Obesity (Silver Spring)*, 2020, 28(10):1932-1940.
- [24] Remy KE, Hall MW, Cholette J, et al. Mechanisms of red blood cell transfusion-related immunomodulation[J]. *Transfusion*, 2018, 58(3):804-815.
- [25] Huang H, Zhu J, Fan L, et al. MicroRNA profiling of exosomes derived from red blood cell units: implications in transfusion-related immunomodulation[J]. *Biomed Res Int*, 2019, 2019:2045915.
- [26] Davidson SM, Andreadou I, Barile L, et al. Circulating blood cells and extracellular vesicles in acute cardioprotection[J]. *Cardiovasc Res*, 2019, 115(7):1156-1166.
- [27] Akbar N, Azzimato V, Choudhury RP, et al. Extracellular vesicles in metabolic disease[J]. *Diabetologia*, 2019, 62(12):2179-2187.
- [28] Sun Y, Liu XL, Zhang D, et al. Platelet-derived exosomes affect the proliferation and migration of human umbilical vein endothelial cells via miR-126[J]. *Curr Vasc Pharmacol*, 2019, 17(4):379-387.
- [29] Ma L, Shi W, Ma X, et al. Comprehensive analysis of differential immunocyte infiltration and the potential ceRNA networks during epicardial adipose tissue development in congenital heart disease[J]. *J Transl Med*, 2020, 18(1):111.
- [30] Cai L, Chao G, Li W, et al. Activated CD⁴⁺ T cells-derived exosomal miR-142-3p boosts post-ischemic ventricular remodeling by activating myofibroblast[J]. *Aging*, 2020, 12(8):7380-7396.
- [31] Essandoh K, Yang L, Wang X, et al. Blockade of exosome generation with GW4869 dampens the sepsis-induced inflammation and cardiac dysfunction[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2015, 1852(11):2362-2371.
- [32] Wang C, Zhang C, Liu L, et al. Macrophage-derived mir-155-containing exosomes suppress fibroblast proliferation and promote fibroblast inflammation during cardiac injury[J]. *Mol Ther*, 2017, 25(1):192-204.
- [33] Ludwig N, Whiteside TL, Reichert TE. Challenges in exosome isolation and analysis in health and disease[J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(19):4684.

(收稿:2021-07-05 修回:2021-11-26)

(本文编辑:程雪艳)