

工程化外泌体靶向治疗心血管疾病的研究进展

马雯 张昕

【摘要】 外泌体是具有双层膜结构的小囊泡,可以发挥细胞间通讯的作用,对高血压、冠状动脉粥样硬化性心脏病、心力衰竭等心血管疾病治疗起重要作用。近年来纳米囊泡工程技术实现了通过外泌体传递基因信息、药物、核酸,能够提高稳定性,减少不良反应,以达到心血管疾病靶向治疗的目的。

【关键词】 外泌体;载体;靶向;心血管疾病

doi: 10.3969/j.issn.1673-6583.2022.05.010

1 概述

随着人口老龄化加剧,中国心血管病患率及死亡率逐年上升^[1],精准医疗和个体化治疗成为未来发展的必然方向^[2]。外泌体是1983年由Pan等^[3]在绵羊网织红细胞中发现,以胞吐的方式被分泌到细胞外基质中的40~100 nm的盘状囊泡。多种细胞在正常和病理状态下均可以分泌外泌体,其可以与靶细胞膜特异性融合,有助于细胞间的交流。近年来研究发现工程化外泌体可以保护它的内容物不被降解,使内容物能以功能活性状态经结合、融合或内吞作用传递给靶细胞^[4],从而靶向治疗心血管疾病。

2 外泌体生物学特性

外泌体具有低免疫原性、低毒性、高生物兼容性等特点,可自由穿越生物屏障、逃逸溶酶体介导的降解、进行人工修饰等,能克服现有的脂质体和聚合物纳米颗粒药物递送系统的免疫原性强、稳定性差、毒性高、生物相容性低和安全性低的缺点,用于抗炎和抗癌治疗^[5]。研究发现阿霉素(DOX)经过超声处理可被装载到中性粒细胞来源的外泌体(NEs-Exo)中,成为NEs-Exo和DOX的复合物(NEs-Exos/DOX),它不仅能够穿过血脑屏障,而且具有很强的趋化作用,能够实现治疗位点的DOX靶向运输,突破了常规化疗的局限性^[6]。此外,外泌体还有天然的归巢特性,脐静脉内皮细胞来源的外泌体能更高效地靶向到血管内皮细胞,

如治疗增生性视网膜病的单个融合分子肽KV11,可以与作为锚连蛋白的小分子蛋白CPO5和外泌体装载到一起,穿过血视网膜屏障,修护由血管内皮生长因子异常分泌引起的血管炎性反应,从而减少渗漏^[7]。

另有研究显示,烟酰胺磷酸核糖转移酶基因工程化外泌体可用于抗衰老, α -半乳糖苷酶工程化肿瘤细胞外泌体可诱导免疫细胞治疗结直肠癌。红细胞来源的胞外囊泡外泌体不含核及线粒体DNA,不影响受者基因组,红细胞数量庞大,可较为方便地实现临床级别胞外囊泡外泌体的制备^[8]。微小RNA(miRNA)-126等有促进血管增殖的作用,经过外泌体装载的miR-320等具有抑制血管生成的作用^[9]。因此,不同细胞来源的外泌体可以发挥不同的载体优势,各种类型的治疗剂如重组蛋白、药物、小干扰RNA等,都可以被包裹在外泌体中用于靶向给药,从而实现精准治疗^[10]。

外泌体工程化的方法主要有机械改造,如电穿孔、声波降解法、均化作用等,以及化学处理,如氯化钙转染、基因修饰、被动孵化等^[11]。每种方法各有优缺点,应根据外泌体的来源、特性以及实际应用情况选择合适的方法,将药物或基因装载到外泌体中,以利于靶向运输,稳定发挥疗效。

3 外泌体在心血管疾病治疗中的应用

3.1 外泌体为药物载体治疗高血压

高血压是心血管疾病主要风险因素之一。交感-肾素-血管紧张素-醛固酮系统(RAAS)、内皮和血管功能障碍、炎症反应等发病机制间的相互作用参与了高血压的发生发展。抑制血管成纤维细胞来源的外泌体可降低血管平滑肌细胞(VSMC)

基金项目:研究生科研创新项目(201-202140103);包头市卫生健康科技计划项目(wsjskj001)

作者单位:014040 包头医学院研究生院(马雯);014017 内蒙古科技大学包头医学院第一附属医院(张昕)

通信作者:张昕, E-mail: zhangxinwdq@sina.com

的迁移,抑制血管重构^[12]。动物实验发现,原发性高血压大鼠的血管成纤维细胞分泌的外泌体可介导 miR-135a-5p 的细胞外转移,从而下调Ⅲ型纤连蛋白域蛋白 5^[13],进而促进 VSMC 增殖。另有研究发现,miR-155-5p 可通过抑制血管紧张素转化酶基因降低血管紧张素Ⅱ(AngⅡ)水平,降低血压,减少血管重构^[14],向外泌体内装载 miR-155-5p 可治疗高血压。一氧化氮合成酶(NOS)对于血管内皮细胞有保护作用,而 FXYP1 蛋白具有抑制 NOS 参与氧化还原反应导致的信号失调的作用。Bubb 等^[15]将 FXYP1 蛋白包装到 HEK293T 细胞分泌的外泌体中,能高效稳定地将 FXYP1 蛋白递送到动脉系统中,使其不被降解清除,高效保护血管。Tong 等^[16]从先兆子痫妇女的血浆中分离出装载可溶性 fms 样酪氨酸激酶-1 和可溶性内凝血素的外泌体,其能损害内皮细胞的增殖和迁移,阻碍血管新生,影响损伤血管修复,将上述外泌体注射到怀孕小鼠体内时,内皮相关的炎症反应会导致孕鼠血压升高^[17]。

外泌体治疗高血压性肾损伤的研究也取得了一定的成果。对尿蛋白阳性的高血压肾损伤患者进行血和尿的外泌体 miRNA 检测,发现 miR-26a 和 miR-126 均降低。体外实验证实,转化生长因子-β1(TGF-β1)可以刺激足细胞,使足细胞来源的外泌体内介质发生改变,下调 miR-26a 表达,而 miR-26a 可以靶向结缔组织生长因子,抑制足细胞细胞外基质合成,抑制肾纤维化的进展^[18]。因此,推测外泌体在高血压靶向治疗领域具有发展潜力。

3.2 外泌体为载体治疗冠状动脉粥样硬化性心脏病

高脂血症是冠状动脉粥样硬化的主要危险因素之一。外泌体可以在巨噬细胞、泡沫细胞和 VSMC 间起通讯作用。冠状动脉粥样硬化性心脏病(冠心病)患者血浆中外泌体内 miR-4498 可调节 *Ctss* 基因和 *Trem2* 基因的表达水平,抑制炎症因子的表达^[19]。干预外泌体中的 miR-4498 或在转录水平干预 *Ctss* 基因和 *Term* 基因可影响疾病的发展。此外,泡沫细胞衍生的内皮祖细胞可以进入 VSMC,并将整合素转移到 VSMC 的表面^[20]。向高脂肪饮食的小鼠注射间充质干细胞来源的外泌体,12 周后发现外泌体迁移到动脉粥样硬化斑块中,减少了巨噬细胞对斑块的浸润,缩小了小鼠粥样斑块的面积,小鼠内源性 miR-let7 升高。而另一项研究

显示,间充质干细胞分泌的 miR-let7 通过磷酸酶基因(*PTEN*)途径抑制巨噬细胞浸润,并通过高迁移率族蛋白 A2/核因子激活的 B 细胞的 κ-轻链增强(HMGA2/NF-κB)途径促进 M2 巨噬细胞极化,而 M2 的极化可以限制炎症反应和 I 型免疫反应,在调节斑块面积方面发挥了关键作用^[21]。外泌体具有延缓和促进动脉粥样硬化的双重作用,如来源于脂肪间充质干细胞的外泌体装载 miR-342-5p 可作用于血管内皮细胞^[22],还可以作为糖尿病并发冠心病的治疗靶点^[23]。氧化型低密度脂蛋白刺激巨噬细胞释放外泌体 miR-106a3,促进细胞增殖,抑制细胞凋亡^[24],减缓冠心病进展。尼古丁刺激巨噬细胞释放装载 miR-21-3p 的外泌体,可作用于 VSMC,靶向调节 *PTEN*,促进 VSMC 的增殖和迁移,导致动脉粥样硬化的发展^[25]。动物实验证实,卡维地洛通过抑制高胆固醇血症小鼠中脂质和巨噬细胞积聚,增强血清外泌体 *ABCA1* 基因表达, NF-κB/蛋白激酶 B(Akt) 信号通路从而抑制动脉粥样硬化^[26]。用外泌体包被卡维地洛可以避免首关消除,更好地发挥其靶向性的作用。

装载 miR-181 家族成员的外泌体通过靶向 NF-κB 途径抑制内皮细胞的炎症反应,抑制冠状动脉粥样硬化的进展。相反,由肿瘤坏死因子诱导装载 miR-31 和 miR-17-3p 的外泌体在动脉粥样硬化开始时就激活内皮细胞炎症反应,促进疾病的进展;而 miR-199a-3p 和 miR-199a-5p 通过上调磷脂酰肌醇 3-激酶/蛋白激酶 B(PI3K/Akt)途径和钙调神经磷酸酶途径,靶向超氧化物歧化酶 1 和过氧化物酶,独立地控制一氧化氮的生物利用度,进而对内皮功能产生影响^[27]。工程化外泌体作为载体在冠心病的精准治疗中发挥着重要作用。

3.3 外泌体为药物载体治疗心力衰竭

心力衰竭是各种心脏疾病的终末阶段。心力衰竭重要的病理生理过程包括心肌缺血、缺氧和纤维化。纤维化与缺血性心肌重构相关。反应性间质纤维化的特征是胶原合成增加和胶原扩散沉积,导致间质体积增加而心肌细胞数量不减少。常见于高血压、主动脉狭窄、衰老和糖尿病。心肌细胞死亡后出现弥漫性或局灶替代性纤维化,如心肌梗死。心肌纤维化的途径有典型 TGF-β 途径、白细胞介素-11 信号通路、AngⅡ通路和 NF-κB 通路、Wnt 通路等^[4]。有研究报道装载 miR-425 和 miR-744 的外泌体可通过靶向 TGF-β 抑制血管紧张素

诱导的胶原和纤维素合成,从而抑制心肌重构^[28]。外泌体可直接或间接地抑制或者促进相应的分子通路,改变纤维化发展的方向,进而改善心功能。含有 miR-125b-5p 的骨髓间充质干细胞外泌体对缺血再灌注损伤起到了保护作用。内皮祖细胞来源的外泌体通过传递 PI3K/AKT 途径相关的 mRNA 促进内皮细胞血管生成^[11]。同时,外泌体来源的 miR-21 可以延缓注射 Ang II 的小鼠心脏肥大的发展,说明外泌体内的 miR-21 是心肌细胞肥大的关键旁分泌信号介质,是心力衰竭的潜在治疗靶点^[29]。

4 小结

外泌体作为安全的治疗性药物递送系统仍存在许多挑战,如异体外泌体可能会引起不必要的免疫反应,在全身给药时会经过胆汁排泄、肾脏过滤或网状内皮系统吞噬而被快速清除,使靶器官中存留的剂量过低,但外泌体在心血管疾病靶向治疗中有广阔的应用前景。

参 考 文 献

- [1] 高润霖, 张澍, 王增武, 等. 新中国成立七十年来我国心血管病学的发展[J]. 中国循环杂志, 2019, 34(9):833-843.
- [2] 高鸿敏, 施冰. 精准医疗在心血管疾病的临床实践[J]. 中国循证心血管医学杂志, 2017, 9(9):1151-1152.
- [3] Pan BT, Johnstone RM. Fate of the transferrin receptor during maturation of sheep reticulocytes in vitro: selective externalization of the receptor[J]. Cell, 1983, 33(3):967-978.
- [4] 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.
- [5] Barani B, Rajasingh S, Rajasingh J. Exosomes: outlook for future cell-free cardiovascular disease therapy[J]. Adv Exp Med Biol, 2017, 998(47):285-307.
- [6] Wang J, Tang W, Yang M, et al. Inflammatory tumor microenvironment responsive neutrophil exosomes-based drug delivery system for targeted glioma therapy[J]. Biomaterials, 2021, 273:120784.
- [7] Dong X, Lei Y, Yu Z, et al. Exosome-mediated delivery of an anti-angiogenic peptide inhibits pathological retinal angiogenesis[J]. Theranostics, 2021, 11(11):5107-5126.
- [8] Usman WM, Pham TC, Kwok YY, et al. Efficient RNA drug delivery using red blood cell extracellular vesicles[J]. Nat Commun, 2018, 9(1):2359.
- [9] Zhang TR, Huang WQ. Angiogenic exosome-derived microRNAs: emerging roles in cardiovascular disease[J]. J Cardiovasc Transl Res, 2021, 14(5):824-840.
- [10] Guo D, Xu Y, Ding J, et al. Roles and clinical applications of exosomes in cardiovascular disease[J]. Biomed Res Int, 2020, 2020:5424281.
- [11] Bheri S, Hoffman JR, Park HJ, et al. Biomimetic nanovesicle design for cardiac tissue repair[J]. Nanomedicine (Lond), 2020, 15(19):1873-1896.
- [12] Tong Y, Ye C, Ren XS, et al. Exosome-mediated transfer of ACE (angiotensin-converting enzyme) from adventitial fibroblasts of spontaneously hypertensive rats promotes vascular smooth muscle cell migration[J]. Hypertension, 2018, 72(4):881-888.
- [13] Tong Y, Ye C, Zheng F, et al. Extracellular vesicle-mediated miR135a-5p transfer in hypertensive rat contributes to vascular smooth muscle cell proliferation via targeting FNDC5[J]. Vascul Pharmacol, 2021, 140:106864.
- [14] Ren XS, Tong Y, Qiu Y, et al. MiR155-5p in adventitial fibroblasts-derived extracellular vesicles inhibits vascular smooth muscle cell proliferation via suppressing angiotensin-converting enzyme expression[J]. J Extracell Vesicles, 2019, 9(1):1698795.
- [15] Bubbs KJ, Tang O, Gentile C, et al. FXYD1 is protective against vascular dysfunction[J]. Hypertension, 2021, 77(6):2104-2116.
- [16] Tong M, Chen Q, James JL, et al. Micro- and nano-vesicles from first trimester human placenta carry Flt-1 and levels are increased in severe preeclampsia[J]. Front Endocrinol (Lausanne), 2017, 8:174.
- [17] Chang X, Yao J, He Q, et al. Exosomes from women with preeclampsia induced vascular dysfunction by delivering sFlt (soluble Fms-Like tyrosine kinase)-1 and sEng (soluble endoglin) to endothelial cells[J]. Hypertension, 2018, 72(6):1381-1390.
- [18] Perez-Hernandez J, Riffó-Campos AL, Ortega A, et al. Urinary- and plasma-derived exosomes reveal a distinct microRNA signature associated with albuminuria in hypertension[J]. Hypertension, 2021, 77(3):960-971.
- [19] Li X, He X, Wang J, et al. The regulation of exosome-derived miRNA on heterogeneity of macrophages in atherosclerotic plaques[J]. Front Immunol, 2020, 11:2175.
- [20] Niu C, Wang X, Zhao M, et al. Macrophage foam cell-derived extracellular vesicles promote vascular smooth muscle cell migration and adhesion[J]. J Am Heart Assoc, 2016, 5(10):e004099.
- [21] Zheng D, Huo M, Li B, et al. The role of exosomes and exosomal microRNA in cardiovascular disease[J]. Front Cell Dev Biol, 2020, 8:616161.
- [22] Xing X, Li Z, Yang X, et al. Adipose-derived mesenchymal stem cells-derived exosome-mediated microRNA-342-5p protects endothelial cells against atherosclerosis[J]. Aging (Albany NY), 2020, 12(4):3880-3898.
- [23] Shiue SJ, Rau RH, Shiue HS, et al. Mesenchymal stem cell exosomes as a cell-free therapy for nerve injury-induced pain in rats[J]. Pain, 2019, 160(1):210-223.
- [24] Liu Y, Zhang WL, Gu JJ, et al. Exosome-mediated miR-106a-3p derived from ox-LDL exposed macrophages accelerated cell proliferation and repressed cell apoptosis of human

- vascular smooth muscle cells[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2020, 24(12):7039-7050.
- [25] Zhu J, Liu B, Wang Z, et al. Exosomes from nicotine-stimulated macrophages accelerate atherosclerosis through miR-21-3p/PTEN-mediated VSMC migration and proliferation[J]. Theranostics, 2019, 9(23):6901-6919.
- [26] Chen SJ, Tsui PF, Chuang YP, et al. Carvedilol ameliorates experimental atherosclerosis by regulating cholesterol efflux and exosome functions[J]. Int J Mol Sci, 2019, 20(20):5202.
- [27] Hosen MR, Goody PR, Zietzer A, et al. MicroRNAs as master regulators of atherosclerosis: from pathogenesis to novel therapeutic options[J]. Antioxid Redox Signal, 2020, 33(9):621-644.
- [28] 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.
- [29] Zhang Y, Hu YW, Zheng L, et al. Characteristics and roles of exosomes in cardiovascular disease[J]. DNA Cell Biol, 2017, 36(3):202-211.
- (收稿:2021-11-26 修回:2022-08-01)
(本文编辑:王雨婷)

**To cure sometimes,
to relieve often,
to comfort always.**

—Edward Livingston Trudeau

有时，去治愈，
常常，去帮助，
总是，去安慰。

——爱德华·利文斯顿·特鲁多

