

# 间充质干细胞源性外泌体在心血管疾病中的研究进展

凌浩 刘威武 侯秀伟 毕莲茹 陈庆宇 宋春莉

**【摘要】** 间充质干细胞源性外泌体是间充质干细胞分泌的同质性膜囊泡,含有大量且种类繁多的蛋白质、细胞因子和微小 RNA 等生物活性物质,在心肌梗死、高血压、心力衰竭和心肌病等的防治方面有极高的应用前景。

**【关键词】** 间充质干细胞;外泌体;心血管疾病

doi:10.3969/j.issn.1673-6583.2018.05.005

间充质干细胞源性外泌体(mesenchymal stem cell exosomes, MSC-Exo)是间充质干细胞在生理或病理状态下分泌的直径在 40~100 nm 的同质性膜囊泡<sup>[1-2]</sup>。Arslan 等<sup>[3]</sup>研究证实,人间充质干细胞内存在有与外泌体非常接近的直径为 50~100 nm 的细微颗粒<sup>[4]</sup>。MSC-Exo 含有大量且种类繁多的生物活性物质,其通过与靶细胞膜融合或者内吞作用将生物活性物质转运至靶细胞,从而影响靶细胞的功能<sup>[1]</sup>。MSC-Exo 类似体内的信号载体储存池,发挥细胞间信息交换的作用。在心血管领域,MSC-Exo 与急性心肌梗死(AMI)、高血压、心力衰竭和心肌病密切相关。本文介绍 MSC-Exo 在心血管疾病中的研究进展。

## 1 MSC-Exo 与心血管疾病

目前,除了心脏移植以外,临床尚缺乏有效的治愈终末期心血管疾病的方法。但研究表明,干细胞移植可以有效减缓心力衰竭等心血管疾病的病情,恢复心脏功能<sup>[5]</sup>。成人骨髓间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSC)是治疗终末期心血管疾病最有希望的干细胞类型之一<sup>[6]</sup>。MSC 具有极强的分化潜能,在一定的微环境下,细胞因子可诱导体外或体内的 MSC 分化为成骨细胞<sup>[7]</sup>、脂肪细胞<sup>[8]</sup>、软骨细胞<sup>[9]</sup>、内皮细胞<sup>[10]</sup>和血管平滑肌

细胞<sup>[11]</sup>。

与单纯的 MSC 治疗相比,将与外泌体结合后的 MSC-Exo 进行移植,可减少 MSC 移植术造成的损伤,避免移植细胞意外分化成其他细胞如成骨细胞、脂肪细胞和软骨细胞,避免血管钙化的风险<sup>[3]</sup>;与心脏移植相比,MSC-Exo 移植不会受有限的心脏供体来源、潜在的免疫排斥反应风险及其他不良反应的限制;作为新型无细胞疗法,MSC-Exo 移植不存在干细胞疗法存活率和定植率低等问题。

Khan 等<sup>[12]</sup>将 MSC-Exo 与心脏干细胞共培养,发现 MSC-Exo 移植后能显著提高心肌细胞的存活率,并能抗心肌细胞损伤,促进新生血管形成,改善心脏功能。Huang 等<sup>[13]</sup>的研究也证实了 MSC-Exo 的抗炎、抗心肌细胞凋亡、促进心肌细胞再生的作用。Hutcheson 等<sup>[14]</sup>研究发现, MSC-Exo 对心血管系统的影响主要是由于外泌体中的功能性细胞因子和微小 RNA(miRNA),miRNA 能有效改变体细胞的转录。

## 2 MSC-Exo 与 AMI

### 2.1 减少 AMI 后心肌缺血/再灌注(ischemia/reperfusion, I/R)损伤

Timmers 等<sup>[15]</sup>利用 AMI 后 I/R 猪模型研究 MSC-Exo 的作用,结果表明 MSC-Exo 能够使猪的梗死面积减少 60%。Lai 等<sup>[4]</sup>采用 AMI 后 I/R 小鼠模型进行研究,发现添加 MSC-Exo 能够明显减少心肌损伤,使梗死面积下降 40%,但分泌物中的活性成分及 MSC-Exo 减少心肌损伤的机制尚未明确。Uemura 等<sup>[16]</sup>研究证实, MSC-Exo 可以有效协助减少 AMI 梗死面积。Lai 等<sup>[4]</sup>研究表明,

基金项目:吉林省新型冠状支架科技创新中心(2017250);2018 年度吉林省财政厅卫生专项

作者单位:130012 长春,吉林大学第二医院心血管内科,吉林大学研究生院(凌浩,毕莲茹,陈庆宇);130012 长春,吉林大学第二医院心血管内科(宋春莉,侯秀伟),放射科(刘威武)

通信作者:宋春莉,Email:2632494613@qq.com

MSC-Exo 可以把糖酵解酶、具备抗氧化作用的还原酶以及谷胱甘肽硫转移酶转移到 I/R 心肌,使心肌细胞生成较多的腺嘌呤核苷三磷酸(ATP),从而减缓心肌氧化应激反应,降低细胞的凋亡数量。MSC-Exo 还可以通过分泌旁分泌因子修复梗死心肌<sup>[16-17]</sup>,这一过程首先是腺嘌呤核糖核苷酸(AMP)被 MSC-Exo 表达的 CD73 分解成腺苷,腺苷与相关受体融合后又激活蛋白酪氨酸激酶信号通路,最后通过诱导包裹促凋亡蛋白,减少心肌细胞的凋亡<sup>[1]</sup>。但这些研究结论大多来自动物实验,尚需进一步临床验证。

## 2.2 促进 AMI 后血管的生成

Bian 等<sup>[18]</sup>研究表明,低氧条件下培养的 MSC-Exo,在与血管内皮细胞共培养时,能够明显提升血管内皮细胞的增生与迁移能力,其效果与加入血管内皮生长因子相似。Zhang 等<sup>[19]</sup>证实, MSC-Exo 可通过无翅型 MMTV 整合位点家族成员 4 (WNT4)/p-环烯内酯(p-catenin)通路促进血管的生成,具体机制可能是 MSC-Exo 内含的 WNT4 促进了  $\beta$ -连环蛋白( $\beta$ -catenin)的核转移,使增殖细胞核抗原、细胞周期素 D3、神经钙黏素等表达上调。

## 2.3 作为诊断的生物标志物

Wang 等<sup>[20]</sup>在一项随机对照试验中,纳入了 51 例 AMI 患者(实验组)和 28 例健康体检者(对照组)。该研究采用 RT-PCR 的方法检测 2 组外周血 MSC-Exo 中 miR-133 与 miR-328 的水平,发现实验组中 miR-133 水平较对照组升高了 4.4 倍,实验组中 miR-328 水平较对照组升高了 10.9 倍。在 AMI 后第 7 天,实验组的 miR-133 与 miR-328 恢复至与对照组相同的水平。该研究表明, MSC-Exo 中的 miR-133 和 miR-328 或许可以用于 AMI 的早期诊断。

## 2.4 减少 AMI 后的炎症反应

Arslan 等<sup>[3]</sup>采用中性粒细胞和巨噬细胞浸润法评估 AMI 后的炎症反应,发现经 MSC-Exo 治疗的小鼠与经生理盐水处理的小鼠相比,静脉血中中性粒细胞和巨噬细胞的数量明显减少,同时还发现 MSC-Exo 减少梗死面积和改善心功能的作用与体外培养动物的白细胞计数降低有关。Ti 等<sup>[21]</sup>发现, MSC-Exo 可促使 M2 型巨噬细胞活化,从而抑制 AMI 后炎症反应的发生。

## 3 MSC-Exo 与高血压

MSC-Exo 可通过功能性血管紧张素 II 1 型受

体(AT1R)调节血压<sup>[22]</sup>,也可通过自身含有并表达的 miRNA 调节血压<sup>[23]</sup>。Pironti 等<sup>[23]</sup>研究发现,当小鼠血压升高时, MSC-Exo 可激活并表达 AT1R、AT2R、血管紧张素原和肾素,从而抑制血管紧张素转化酶 2 的表达,降低血压。Kontaraki 等<sup>[24]</sup>发现, MSC-Exo 参与了肾素-血管紧张素系统引起的心室重构,主要机制可能是 MSC-Exo 分泌的 miR-9 在高血压左心室肥厚时反馈性高表达,对心室重构有抑制作用<sup>[25]</sup>。此外, Karolina 等<sup>[26]</sup>发现,高血压患者的 MSC-Exo 存在 miR-92a,而 miR-92a 可调控 AT1R。因此, MSC-Exo 中的 miR-9 及 miR-92a 可作为高血压诊断的新型标记物。

## 4 MSC-Exo 与心力衰竭

### 4.1 抑制心室重构和改善心功能

MSC-Exo 能够促进 AMI 后心功能的恢复,减少 AMI 后心力衰竭的发生。有研究将 MSC-Exo 输入 AMI 模型小鼠体内后,小鼠左心功能有明显改善,梗死面积明显减少<sup>[27]</sup>。Feng 等<sup>[28]</sup>研究证实, MSC-Exo 中的 miR-22 在促进 AMI 后心功能恢复中发挥核心作用,其通过结合甲基化 CpG 结合蛋白 2 抑制心肌细胞纤维化。Yu 等<sup>[29]</sup>研究也发现, MSC-Exo 通过高表达 miR-221,能够有效抑制 p53 上调引起的心肌细胞凋亡。外泌体中 miR-221 可抑制 p53 上调凋亡调控因子(PUMA)<sup>[30]</sup>, PUMA 可与 Bcl-xL 和 p53 相互作用,激活抗凋亡蛋白。此外, MSC-Exo 对心力衰竭有治疗作用, Arslan 等<sup>[4]</sup>对心力衰竭小鼠连续静滴 MSC-Exo,至第 28 天时,小鼠左心功能恢复到基线水平,左室舒张末期容积和收缩末期容积恢复正常,左室射血分数也有明显提升。

### 4.2 抑制促炎性因子的分泌

Ye 等<sup>[3]</sup>研究表明,慢性心力衰竭的进展和预后与促炎性因子有关。炎症反应可促进 MSC-Exo 的释放,而外泌体线粒体 DNA(mtDNA)又可通过 Toll 样受体 9(TLR9)/核因子  $\kappa$ B(NF- $\kappa$ B)信号通路诱发炎症反应,通过抑制 TLR9/NF- $\kappa$ B 信号通路使促炎性因子如白细胞介素(IL)-1、IL-8 分泌减少<sup>[31]</sup>。

## 5 MSC-Exo 与心肌病

Vandergriff 等<sup>[30]</sup>对阿霉素诱导的扩张性心肌病小鼠模型注射 MSC-Exo,发现治疗组小鼠心肌细胞凋亡数量较对照组显著减少,心输出量明显提高。Salem 等<sup>[32]</sup>对糖尿病性心肌病动物模型的研究

究证实, MSC-Exo 能够产生并分泌 miR-22、miR-24、miR-146、miR-210 等,阻断转化生长因子- $\beta$  (TGF- $\beta$ )信号通路,从而减少心肌细胞凋亡及心肌纤维化。这些研究提示 MSC-Exo 具有改善心肌病理性重构及心功能的作用,在心肌病治疗中具有较大潜力。

## 6 展望

MSC-Exo 具有分化潜能高、移植后存活率高、无明显不良反应等优点<sup>[33]</sup>。MSC-Exo 含有大量且种类繁多的蛋白质、细胞因子和 miRNA 等生物活性物质,在抗心肌细胞凋亡、抗心肌细胞损伤、促进新生血管形成和抗炎等方面具有重要作用,在防治 AMI、高血压、心力衰竭和心肌病等方面具有一定的应用前景。

然而,外泌体提取方法的复杂性限制了其临床应用,如何更加高效和规范地提存 MSC-Exo,获得性状更加稳定的 MSC-Exo,成为迫切需要解决的问题。此外, MSC-Exo 对心血管系统的影响主要是由于外泌体中的功能性细胞因子、miRNA 和脯氨酸等<sup>[4]</sup>,如何保持它们在外泌体中的生物学活性并将它们传递到靶位点,是 MSC-Exo 临床应用的另一难点<sup>[34]</sup>。

## 参 考 文 献

- [1] 张娟,史晋叔,李剑. 间充质干细胞源性外泌体——未来生物疗法的理想载体[J]. 中国实验血液学杂志, 2015, 23(4): 1179-1183.
- [2] Cheng X, Zhang G, Zhang L, et al. Mesenchymal stem cells deliver exogenous miR-21 via exosomes to inhibit nucleus pulposus cell apoptosis and reduce intervertebral disc degeneration[J]. J Cell Mol Med, 2018, 22(1):261-276.
- [3] Arslan F, Lai RC, Smeets MB, et al. Mesenchymal stem cell-derived exosomes increase ATP levels, decrease oxidative stress and activate PI3K/Akt pathway to enhance myocardial viability and prevent adverse remodeling after myocardial ischemia/reperfusion injury[J]. Stem Cell Res, 2013, 10(3):301-312.
- [4] Lai RC, Chen TS, Lim SK. Mesenchymal stem cell exosome: a novel stem cell-based therapy for cardiovascular disease[J]. Regen Med, 2011, 6(4):481-492.
- [5] Smits AM, Van Vliet P, Hassink RJ, et al. The role of stem cells in cardiac regeneration[J]. J Cell Mol Med, 2005, 9(1):25-36.
- [6] Pittenger MF, Martin BJ. Mesenchymal stem cells and their potential as cardiac therapeutics[J]. Circ Res, 2004, 95(1): 9-20.
- [7] Rust PA, Kalsi P, Briggs TW, et al. Will mesenchymal stem cells differentiate into osteoblasts on allograft?[J]. Clin Orthop Relat Res, 2007, 457: 220-226.
- [8] Morganstein DL, Wu P, Mane MR, et al. Human fetal mesenchymal stem cells differentiate into brown and white adipocytes: a role for ERRalpha in human UCP1 expression[J]. Cell Res, 2010, 20(4):434-444.
- [9] Zhang XH, Hirai M, Cantero S, et al. Isolation and characterization of mesenchymal stem cells from human umbilical cord blood: reevaluation of critical factors for successful isolation and high ability to proliferate and differentiate to chondrocytes as compared to mesenchymal stem cells from[J]. J Cell Biochem, 2011, 112(4):1206-1218.
- [10] Xu Y, Meng H, Li C, et al. Umbilical cord-derived mesenchymal stem cells isolated by a novel explantation technique can differentiate into functional endothelial cells and promote revascularization[J]. Stem Cells Dev, 2010, 19(10):1511-1522.
- [11] Silva GV, Litovsky S, Assad JA, et al. Mesenchymal stem cells differentiate into an endothelial phenotype, enhance vascular density, and improve heart function in a canine chronic ischemia model[J]. Circulation, 2005, 111(2): 150-156.
- [12] Khan M, Nickoloff E, Abramova T, et al. Embryonic stem cell-derived exosomes promote endogenous repair mechanisms and enhance cardiac function following myocardial infarction[J]. Circ Res, 2015, 117(1):52-64.
- [13] Huang L, Ma W, Ma Y, et al. Exosomes in mesenchymal stem cells, a new therapeutic strategy for cardiovascular diseases?[J]. Int J Biol Sci, 2015, 11(2):238-245.
- [14] Hutcheson JD, Goettsch C, Bertazzo S, et al. Genesis and growth of extracellular-vesicle-derived microcalcification in atherosclerotic plaques[J]. Nat Mater, 2016, 15(3): 335-343.
- [15] Timmers L, Lim SK, Arslan F, et al. Reduction of myocardial infarct size by human mesenchymal stem cell conditioned medium[J]. Stem Cell Res, 2007, 1(2): 129-137.
- [16] Uemura R, Xu M, Ahmad N, et al. Bone marrow stem cells prevent left ventricular remodeling of ischemic heart through paracrine signaling[J]. Circ Res, 2006, 98(11):1414-1421.
- [17] Takaku M, Tomita S, Kurobe H, et al. Systemic preconditioning by a prolyl hydroxylase inhibitor promotes prevention of skin flap necrosis via HIF-1-induced bone marrow-derived cells[J]. PLoS ONE, 2012, 7(8):e42964.
- [18] Bian S, Zhang L, Duan L, et al. Extracellular vesicles derived from human bone marrow mesenchymal stem cells promote angiogenesis in a rat myocardial infarction model[J]. J Mol Med (Berl), 2014, 92(4):387-397.
- [19] Zhang B, Wu X, Zhang X, et al. Human umbilical cord mesenchymal stem cell exosomes enhance angiogenesis through the Wnt4/ $\beta$ -catenin pathway[J]. Stem Cells Transl Med, 2015, 4(5):513-522.
- [20] Wang R, Li N, Zhang Y, et al. Circulating microRNAs are

- promising novel biomarkers of acute myocardial infarction [J]. *Internal Medicine*, 2011, 50(17):1789-1795.
- [21] Ti D, Hao H, Tong C, et al. LPS-preconditioned mesenchymal stromal cells modify macrophage polarization for resolution of chronic inflammation via exosome-shuttled let-7b[J]. *J Transl Med*, 2015, 13:308.
- [22] Aliotta JM, Pereira M, Wen SC, et al. Exosomes induce and reverse monocrotaline-induced pulmonary hypertension in mice[J]. *Cardiovasc Res*, 2016, 110(3):319-330.
- [23] 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.
- [24] Kontaraki JE, Marketou ME, Zacharis EA, et al. Differential expression of vascular smooth muscle-modulating microRNAs in human peripheral blood mononuclear cells; novel targets in essential hypertension [J]. *J Hum Hypertens*, 2014, 28(8):510-516.
- [25] Romaine SP, Charchar FJ, Samani NJ, et al. Circulating microRNAs and hypertension—from new insights into blood pressure regulation to biomarkers of cardiovascular risk[J]. *Curr Opin Pharmacol*, 2016, 27:1-7.
- [26] Karolina DS, Tavintharan S, Armugam A, et al. Circulating miRNA profiles in patients with metabolic syndrome[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2012, 97(12):e2271-e2276.
- [27] Rosenberg M, Lutz M, Kühl C, et al. Coculture with hematopoietic stem cells protects cardiomyocytes against apoptosis via paracrine activation of AKT[J]. *J Transl Med*, 2012, 10:115.
- [28] 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.
- [29] Yu B, Gong M, Wang Y, et al. Cardiomyocyte protection by GATA-4 gene engineered mesenchymal stem cells is partially mediated by translocation of miR-221 in microvesicles[J]. *PLoS One*, 2013, 8(8):e73304.
- [30] Vandergriff AC, De Andrade JB, Tang J, et al. Intravenous cardiac stem cell-derived exosomes ameliorate cardiac dysfunction in doxorubicin induced dilated cardiomyopathy [J]. *Stem Cells Int*, 2015, 2015:960926.
- [31] Waldenström A, Ronquist G. Role of exosomes in myocardial remodeling[J]. *Circ Res*, 2014, 114(2):315-324.
- [32] Salem ESB, Fan GC. Pathological effects of exosomes in mediating diabetic cardiomyopathy[J]. *Adv Exp Med Biol*, 2017, 998:113-138.
- [33] Zhang Y, Mignone J, MacLellan WR. Cardiac regeneration and stem cells[J]. *Physiol Rev*, 2015, 95(4):1189-1204.
- [34] Konala VB, Mamidi MK, Bhonde R, et al. The current landscape of the mesenchymal stromal cell secretome; a new paradigm for cell-free regeneration[J]. *Cytotherapy*, 2016, 18(1):13-24.

(收稿:2018-04-30 修回:2018-07-25)

(本文编辑:胡晓静)

**NONSOMKING**  
THE LIFE WILL BE MORE BEAUTIFUL

不吸烟，生活更美好

