

外泌体 miRNA 在缺血性心脏病中的作用机制及靶向治疗前景

于晓朴^{1,2}, 边云飞², 庞有成², 郭旭男², 王东英²

(1. 山西医科大学, 2. 山西医科大学第二医院心内科, 山西省太原市 030001)

[关键词] 外泌体 miRNA; 缺血性心脏病; 作用机制; 治疗靶点

[摘要] 缺血性心脏病(IHD)的发生是从多种潜在危险因素到临床显性疾病的多步骤链式进程。利用外泌体作为 IHD 的治疗靶点,已成为基础和临床研究的热点。大量证据表明外泌体在很大程度上参与 IHD 的演变,包括内皮功能障碍、脂质沉积、动脉粥样硬化斑块的形成和破裂、心肌缺血再灌注损伤和心力衰竭。本篇综述将系统地描述在 IHD 发展的各个阶段中多种外泌体及其活性分子 miRNA 的相关作用及机制,同时也揭示了外泌体 miRNA 作为治疗靶点的潜力和挑战,希望为后续研究提供支持背景。

[中图分类号] R541.4

[文献标识码] A

The mechanism of exosome miRNA in ischemic heart disease and the prospect of targeted therapy

YU Xiaopu^{1,2}, BIAN Yunfei², PANG Youcheng², GUO Xunan², WANG Dongying²

(1. Shanxi Medical University, 2. Department of Cardiology, Second Hospital of Shanxi Medical University, Taiyuan, Shanxi 030001, China)

[KEY WORDS] exosome miRNA; ischemic heart disease; mechanism of action; therapeutic target

[ABSTRACT] The occurrence of ischemic heart disease (ISH) is a multi-step chain process from a variety of potential risk factors to dominant clinical diseases. Using exosomes as a therapeutic target of ISH has become a hot spot in basic and clinical research. A large number of evidences show that exosomes are involved in the evolution of IHD to a great extent, including endothelial dysfunction, lipid deposition, atherosclerotic plaque formation and rupture, myocardial ischemia-reperfusion injury and heart failure. This review will systematically describe the related roles and mechanisms of various exosomes and their active molecules miRNAs in various stages of IHD development, and also reveal the potential and challenges of exosome miRNAs as therapeutic targets, hoping to provide support for future research.

随着对冠心病诊治手段的日新月异,对于缺血性心脏病(ischemic heart disease, IHD)的治疗已取得可观成效,但动脉粥样硬化(atherosclerosis, As)的进展仍难以阻断,心肌缺血再灌注损伤和微循环障碍等可导致难逆性心室重构和心力衰竭,因此,探索更高效的干预靶点具有重要的临床价值^[1]。外泌体及其活性分子微小 RNA(microRNA, miRNA, miR)作为 IHD 发展过程中的重要调节因子,越来越引起关注,因此对其在 IHD 发生发展过程中作用机制、临床转化的探索显得尤为重要。本文将对 IHD 进展过程中多种有治疗靶点希望的外泌体 miRNA 进行综述,为进一步探索治疗靶点提供支持背景。

1 基础概述

缺血性心脏病,是指在冠状动脉内膜脂质沉积、粥样斑块形成的基础上继发斑块内出血、破裂及局部血栓形成,从而导致冠状动脉急性闭塞、局部心肌缺血梗死,甚至危及生命的一系列临床综合征,具有高发病率、高死亡率、日趋年轻化等特点,已经成为严重威胁人类健康的重要因素,因此对于 IHD 诊断及治疗新靶点的探索显得极为重要。

外泌体,直径约 30~100 nm,内含 DNA、mRNA、miRNA、蛋白质、脂质等成分,是一种起源于多泡体的纳米膜囊泡,曾被誉为细胞碎片的“垃圾袋”,但

[收稿日期] 2020-03-27

[修回日期] 2020-05-29

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目(82070472)

[作者简介] 于晓朴,硕士研究生,住院医师,研究方向为冠心病的基础与临床,E-mail 为 drxiaopuy@163.com。通信作者边云飞,博士,教授,研究方向为冠心病的基础与临床,E-mail 为 yunfeibian@sina.com。

由于其强大的信息传递潜力而受到广泛的关注。几乎所有类型的细胞(如心肌细胞、血管内皮细胞、淋巴细胞、血小板、脂肪细胞、肿瘤细胞、干细胞等)都能释放它们,形成广泛的“通讯网络”^[2]并通过其活性 miRNA 分子和蛋白质水平横向转移到靶细胞从而起到调控作用。近年来,基于其密度、尺寸及免疫表型的异同衍生出多种外泌体分离、提取技术,如超速离心法、聚合沉淀法、免疫亲和法、超滤法、密度梯度离心法等;同时根据其浓度、形态、蛋白质组成等特点,通过蛋白质免疫印迹、流式细胞仪、电镜、动态光散射等手段进一步实现了对其组学分析和功能探究^[3]。

miRNA,是由 21 ~ 25 个核苷酸组成的非编码 RNA,由具有发夹结构的单链 RNA 经内切酶加工后生成的基因表达的调节因子,广泛富集于外泌体之中,在血液、尿液、胸腔积液、唾液等体液中均可检测到外泌体 miRNA 的存在,其滴度检测广泛应用于多种疾病的诊断,具有特异、快速、准确等特点。近年来研究发现,外泌体中的多种 miRNA 通过调节心肌细胞凋亡、自噬、纤维化及血管新生等发挥其生物学功能^[4]。

大量研究表明,外泌体及其活性 miRNA 分子在 IHD 的几个环节(如内皮功能障碍、脂质沉积、粥样

斑块的形成和破裂、心肌缺血再灌注损伤和心室重构)中起着重要的调控作用。在外周血、离体冠状动脉斑块组织、缺血坏死心脏心肌细胞中可检测到大量的分泌型外泌体,其含量可作为心血管疾病早期诊断和预后评估的重要依据^[5]。同时,越来越多证据表明,IHD 进展过程中,机体通过对外泌体 miRNA 表达的调控而起到相应作用。有的通过促进其表达而起到正向保护作用,例如,上调 miR-146b 表达起到抗心肌细胞凋亡作用^[6];也有通过抑制其表达而起到正向保护作用,例如,下调 miR-181b 表达起到抗心肌细胞凋亡作用^[7];相反,也有通过调控相关外泌体 miRNA 表达从而起到负向伤害作用,例如,上调 miR-34 表达促心肌细胞凋亡^[8]。不同类型外泌体 miRNA 作用于靶细胞起到的作用不甚相同。

2 外泌体 miRNA 在缺血性心脏病发展过程中的作用机制

外泌体及其活性分子 miRNA 在 IHD 发生发展的病理生理过程中所起的作用至关重要,图 1 简要阐明了外泌体在此过程各个阶段中的参与机制。

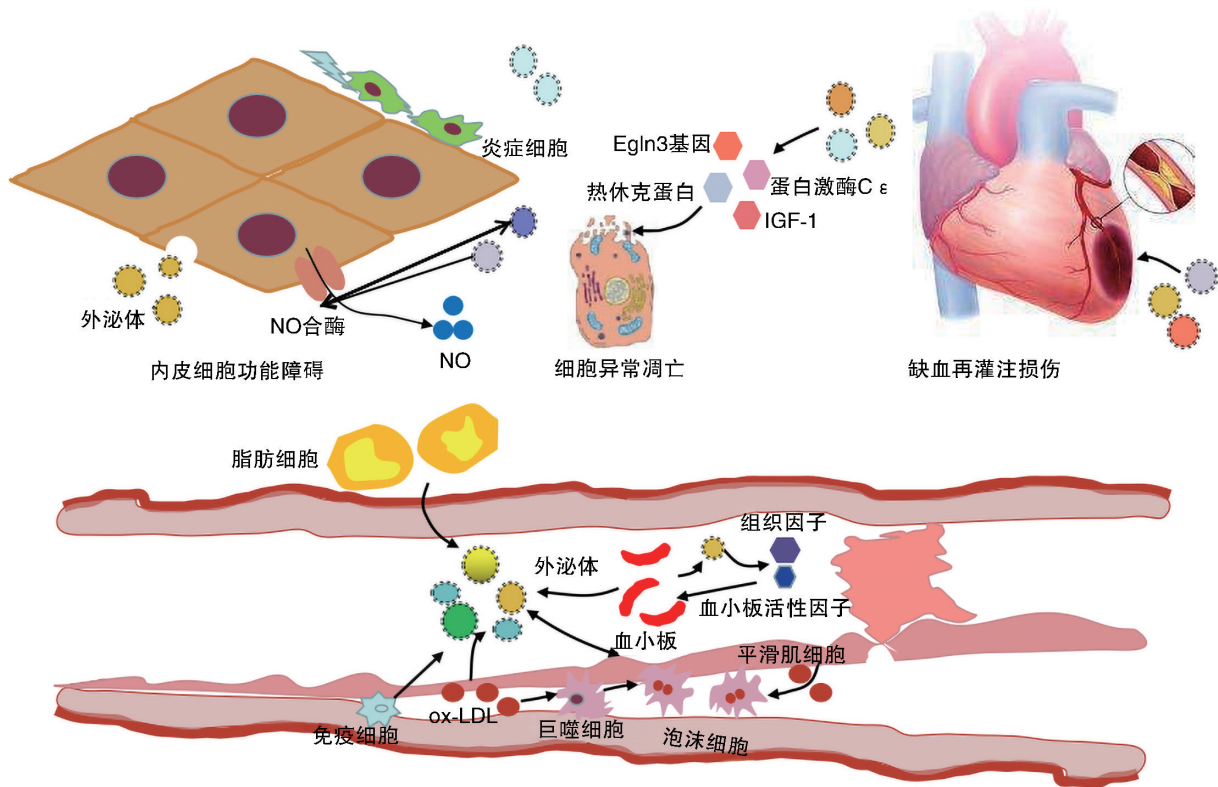


图 1. 外泌体 miRNA 在 IHD 发生过程中的作用机制
Figure 1. Mechanism of exosome miRNA in the development of IHD

2.1 外泌体 miRNA 在血管内皮细胞功能障碍中的作用机制

血管内皮细胞可通过自分泌、内分泌、旁分泌 3 种途径分泌一氧化氮(nitric oxide, NO)、前列环素、内皮素 1 等发挥调节血管活性、抑制平滑肌细胞增殖、调控炎症反应及抗血栓形成等功能。血管内皮功能紊乱、血管内皮细胞结构和功能的改变是 IHD 的病理基础,外泌体及其活性分子很大程度上参与了这些病理过程^[9]。罗雪兰等^[10]发现 miR-24 能明显抑制内皮型一氧化氮合酶(endothelial nitric oxide synthase, eNOS)的活性,减少 NO 的合成,进而加重内皮细胞功能紊乱。此外,内含 miR-146b、miR-155、miR-182、miR-217、miR-221/222 等的外泌体均会影响 eNOS 活性从而调控 NO 的合成^[11-15]。

通过对冠心病患者内皮微泡(endothelial microvesicle, EMV)的研究,Liu 等^[16]发现,冠心病患者体内含有 miR-92a-3p 的外泌体表达上调,起到保护内膜完整性和血管功能的作用;在体外,如氧化低密度脂蛋白(oxidized low density lipoprotein, ox-LDL)、白细胞介素 6(interleukin-6, IL-6)这样的 As 刺激因子可以特异性促进 miR-92a-3p 构成 EMV,并且通过血栓素 1 依赖的机制促使其靶向内皮细胞产生区域性应答。

有研究表明,内含 miR-126、miR-155、miR-17-3p、miR-181b 等的外泌体通过影响血管黏附分子 1、E 选择素、细胞间黏附分子的合成增加白细胞的黏附功能,从而介导内皮细胞炎症^[11,17-19]。此外,有报道称载有 miR-221/222 的平滑肌细胞源性外泌体通过 PTEN/Akt 通路干扰内皮细胞自噬,使内皮细胞更易受损^[20];miR-27a 和 miR-200c 分别通过激活核转录因子 κ B(nuclear factor- κ B, NF- κ B)和 p38 丝裂原活化蛋白激酶信号通路促进活性氧生成,引起内皮细胞氧化应激^[21-22]。

血管内皮功能紊乱是 IHD 发生、发展的病理基础,目前研究发现外泌体 miRNA 主要通过调节 NO 合成、抑制内皮细胞凋亡、自噬、调控炎症反应、激活氧化应激等多种机制参与对血管内皮功能障碍的调控。近年来兴起的 miR-126 纳米支架研究、外泌体 miRNA 基因靶点治疗技术也体现出临床实用性。

2.2 外泌体 miRNA 在脂质沉积和粥样斑块形成中的作用机制

巨噬细胞、平滑肌细胞吞噬 ox-LDL 转变为泡沫细胞形成最早的脂质条纹是 As 的重要特征,机体通过各种机制维持体内胆固醇平衡,多种原因导致的

血清胆固醇含量失衡,都会促进斑块形成及进展。脂肪组织(adipose tissue, AT)尤其是内脏 AT 与 As 进展有因果关系,Barberio 等^[23]研究表明内脏 AT 源性外泌体及其活性 miRNA(miR-9-5p、miR-20b、miR-155-5p、miR-301a-5p、miR-3129-5p 和 miR-320d)通过靶向抑制 ATP 结合盒转运体 A1 介导的胆固醇外流,促进泡沫细胞的产生,介导斑块形成。

张晓亮等^[24]进行的一系列实验表明,ox-LDL 诱导含 miR-155 的外泌体分泌,可上调过氧化物酶体增殖物激活受体 γ 蛋白含量,激活 NF- κ B 通路和促进 CD36 表达,促进巨噬细胞生成炎症因子及提高摄取胆固醇的能力。有研究表明,miR-33a 和 miR-33b 作为脂质代谢的关键转录调节因子,分别通过靶向调控 ATP 结合盒转运体 A1、G1 的活性,减少胆固醇向载脂蛋白 A1 的流出,从而提高血浆高密度脂蛋白水平,进而起到逆转 As 进展的作用^[25-26]。此外,还有研究表明,miR-122 可升高血清总胆固醇、甘油三酯水平,而抗 miR-122 治疗可显著降低血清总胆固醇水平^[27];miR-27 通过靶向调节维甲酸 X 因子受体 α 活性,从而抑制脂质合成和增加细胞的脂质分泌^[28];miR-34a 通过沉默信息调节因子 2 相关酶 1、成纤维细胞生长因子受体 1 等靶点促进脂肪细胞凋亡、迁移和分化^[29];miR-21 通过脂多糖刺激的巨噬细胞中的 Toll 样受体 4 和 NF- κ B 途径,促进脂质沉积^[30]。除此之外 miR-24、miR-106、miR-168、miR-302A、miR-370、miR-467b、miR-613 和 miR-663 等均参与调控脂质代谢^[31]。

有趣的是,浸润于斑块中的免疫细胞、趋化而来的血小板,也参与了胆固醇的调节。李亚丽等^[5]报道,CD4⁺T 细胞源性外泌体经脂酰丝氨酸受体介导将 CD4⁺T 细胞转化为单核细胞,从而促进中性脂质的沉积;血小板源性外泌体也参与抑制泡沫细胞形成,其机制可能是降解位于巨噬细胞表面的 CD36 分子和清除 ox-LDL^[32]。

2.3 外泌体 miRNA 在粥样斑块破裂中的作用机制

As 斑块临床上主要分为稳定性(纤维帽较厚而脂质池较小)和不稳定性(纤维帽较薄,脂质池较大,易破裂)两类,造成急性 IHD 事件的主要原因是稳定性斑块的破裂、血栓形成,从而导致心肌细胞持续缺血、异常凋亡及自噬。

导致斑块不稳定的因素主要包括血流动力学变化、炎症反应、机体应激状态等,其中炎症反应不可忽视。

2.3.1 外泌体 miRNA 在炎症反应中的作用机制
研究证实巨噬细胞作为炎症反应链上的重要参与

者也可以分泌含 miRNA 的外泌体参与持续性炎症反应的调控,Nguyen 等^[33]认为 As 致病性巨噬细胞可分泌一系列内含多种 miRNA (如 miR-146a、miR-128、miR-185、miR-365) 的外泌体,作用于单核巨噬细胞,抑制幼稚巨噬细胞的迁移和促进其诱导,从而放大炎症级联反应。

Wang 等^[34]通过对脓毒血症小鼠模型的研究发现炎症作用下巨噬细胞源性外泌体释放 miR-146b,抑制 Notch 受体 1 在脓毒血症中的表达,可以减少炎症因子 IL-1 β 、IL-6 等的产生,起到减轻炎症作用。Li 等^[35]研究证实,将内皮祖细胞源性外泌体移植于冠状动脉结扎的小鼠体内,释放活性因子 miR-126-3p,导致粒细胞集落刺激因子、血管内皮生长因子 A、IL-3 等上调,IL-8、单核细胞趋化蛋白 1、肿瘤坏死因子 α 等下调,炎症反应明显减轻,梗死区域减少。

前文已述,ox-LDL 诱导含 miR-155 的外泌体分泌可促进巨噬细胞生成炎症因子。此外,Zhang 等^[36]通过对小鼠的脂肪细胞源性外泌体的研究也发现含 miR-155 的外泌体促炎症反应的证据,其机制是通过激活信号传导及转录激活蛋白 1 信号途径和抑制细胞因子信号传导抑制分子 1 级联反应起到促进巨噬细胞活化的作用。有研究表明,在 ox-LDL 诱导下,小鼠 RAW364.7 巨噬细胞 miR-92a 表达上调,拮抗此过程可靶向上调转录激活子 3 蛋白抑制因子的表达,从而激活下游信号传导及转录激活蛋白 3 活性,抑制炎症介质(IL-6、IL-1 β 和诱导型一氧化氮合酶)分泌和脂质沉积^[37];Hinkel 等^[38]研究发现,核酸特异性抑制剂锁核酸 92a (locked nucleic acid, LNA-92a) 可特异性拮抗 miR-92a 的表达,从而起到抗炎及细胞保护效果,因此,LNA-92a 有望成为 IHD 的治疗新手段。

2.3.2 外泌体 miRNA 在血栓形成中的作用机制

不稳定性斑块破裂,大量组织因子和血小板活性因子释放,驱使血小板聚集,形成白血栓,同时多种原因所致的炎症因子上调和促凝物质表达,促进了纤溶酶原激活剂抑制物 1 的合成,进一步形成红色血栓,导致急性血管闭塞,在此链式反应中血小板的作用不可忽视,同样血小板源性外泌体也参与此过程的调控。

在血栓形成过程中,血小板源性外泌体释放 miR-223,通过结合内皮细胞转铁蛋白基因,靶向抑制其组织因子的释放,控制血液凝固级联反应的触发,抑制血栓形成^[39];也有研究表明,其通过抑制血管壁胰岛素样生长因子 1 受体减少内皮损伤后的动

脉血栓形成^[40]。此外,血小板的活化对于血栓形成起着重要作用,同时血小板源性外泌体在抑制平滑肌细胞凋亡及 IHD 发生过程中起着重要作用^[41]。然而,现阶段对于血小板源性外泌体在血栓形成过程中的调节作用尚不明朗,血小板源性外泌体及其活性因子 miRNA 的作用机制以及其临床靶向治疗的潜在价值还须进一步探究。

2.3.3 外泌体 miRNA 在心肌细胞异常凋亡中的作用机制

细胞凋亡是多基因靶点调控的细胞程序性死亡,大量研究表明,外泌体 miRNA 通过多靶点参与细胞凋亡的调控。一方面,斑块细胞的异常凋亡可能消耗纤维帽并增加破裂风险^[42];另一方面,冠状动脉的急性闭塞往往伴随着痉挛收缩、微血管堵塞,心肌细胞的异常凋亡便不可避免,多种外泌体 miRNA 参与其中。Yu 等^[43]通过实验发现结扎小鼠冠状动脉左前降支后,心肌细胞源性外泌体 miR-19a 表达上调,进一步试验发现其通过靶向调控 PTEN 基因的表达,激活磷酸化蛋白激酶 B/胞外调节蛋白激酶信号转导途径而减轻心肌细胞凋亡。Frank 等^[44]研究发现,miR-20a 显著抑制缺氧所致的心肌细胞凋亡,其机制是靶向抑制促凋亡基因 Egl3 的表达;此外,miR-1 被证实通过抑制心肌细胞中具有保护作用的分子,如蛋白激酶 C ϵ 、Bcl-2、热休克蛋白 60 和胰岛素样生长因子 1 的表达促进凋亡^[45]。Hao 等^[46]进一步研究表明,miR-1 通过沉默丝裂素活化蛋白激酶 3 基因从而促进心肌细胞在缺氧状态下的异常凋亡。除上述外,还有多种外泌体 miRNA 进入人们视野,其中起抗凋亡作用的主要有:miR-214、miR-133、miR-23a、miR-125b、miR-146b、miR-214、miR-320、miR-20a 等,起促凋亡作用的有:miR-98、miR-34、miR-20、miR-195 等^[3,47-48]。

2.3.4 外泌体 miRNA 在心肌细胞自噬中的作用机制

细胞自噬是吞噬自身细胞质或细胞器并自我分解代谢的过程,轻度缺血的心肌细胞可以通过自噬产生 ATP 保持其余细胞活力,持续血管闭塞所导致的严重心肌细胞缺血诱发缺血组织过度自噬,进一步加重心肌细胞的不可逆坏死。

在此过程中,心肌细胞源性外泌体 miR-221 通过抑制 DNA 损伤诱导转录因子 4 表达,从而抑制自噬体形成,减轻持续缺血状态下的心肌细胞自噬^[49]。Liu 等^[50]研究表明,脂肪基质细胞源性外泌体 miR-93-5p 通过靶向调控 Toll 样受体 4 和自噬相关基因 Atg7 显著抑制缺氧诱导的细胞自噬。Wu 等^[51]发现,在轻度缺氧条件下 miR-101 靶向调控自噬基因 RAB5A、Bec-Lin1 抑制心肌细胞自噬,进一

步实验表明,miR-101 特异性抑制剂可诱导心肌细胞自噬,减轻其缺氧损伤。此外,间充质干细胞源性外泌体 miR-301 通过下调自噬相关蛋白 LC3-II/LC3-I 的比率抑制自噬。miR-92a-3p 通过下调自噬相关基因 4a 从而抑制心肌细胞自噬,而 miR-92a-3p 的过度表达则有相反的作用^[52]。心肌细胞源性外泌体 miR-199a 通过抑制自噬相关基因 Atg5 从而起到抑制自噬作用^[53]。

2.4 外泌体 miRNA 在缺血再灌注损伤中的作用机制

充足的血液灌注保障了组织、细胞活性,由于各种原因导致组织血液灌注减少而使细胞发生的损伤,称为缺血性损伤。大量研究及临床证据表明,缺血组织及器官恢复血液灌注及氧供反而会加重组织损伤,即缺血再灌注损伤,其机制可能是氧化应激、钙超载、炎症反应的异常激活等。

2.4.1 外泌体 miRNA 在氧化应激中的作用机制

缺血再灌注会使自由基生成增多(特别是氧自由基和活性氧),从而加重细胞损伤,这种氧化物质增多而抗氧化物质减少的不平衡现象,又称“氧化应激”。

Chen 等^[54]研究发现心脏祖细胞源性外泌体及其活性分子 miR-44、miR-451 可通过抑制半胱氨酸蛋白酶 3(Caspase-3)、Caspase-7 的活化起到抑制氧化应激损伤作用;同时,诱导多能干细胞源性外泌体及其活性分子 miR-21、miR-210 亦可通过抑制 Caspase-3、Caspase-7 的活化,减轻氧化应激对心肌细胞的损伤^[55]。Wang^[56]行小鼠缺血预适应实验证实 miR-144、miR-451 参与缺血预适应对心肌缺血再灌注损伤的保护,其机制可能是通过 Rac-1 基因靶向影响氧自由基的水平。

2.4.2 外泌体 miRNA 在钙超载中的作用机制

正常情况下机体通过复杂的转运机制维持细胞内外 Ca^{2+} 的巨大浓度梯度及细胞内低钙状态,又称“钙稳态”;各种原因引起胞内 Ca^{2+} 含量增多,从而造成细胞结构损伤、功能障碍,我们称这种现象叫“钙超载”。 Na^+ - Ca^{2+} 交换异常、蛋白激酶 C 的激活、各种生物膜(细胞膜、线粒体膜、内质网膜)损伤等均会造成“钙超载”,从而导致缺血再灌注损伤。

大量研究表明 miR-214、miR-145 均可靶向作用于 Na^+ - Ca^{2+} 转运体,通过下调下游分子钙调素依赖蛋白激酶 II、Bcl-2 样蛋白 11 和亲环蛋白 D 减少钙超载,从而减少心肌细胞损伤^[48,57-58]。

2.5 外泌体 miRNA 在心室重构、心力衰竭中的作用机制

心室重构、慢性心力衰竭是 IHD 的终末期表

现,与神经体液激活、氧化应激、内皮功能障碍、炎症、血管新生和纤维化等密切相关,多种细胞源性外泌体及其活性分子参与其中。

2.5.1 外泌体 miRNA 在肾素-血管紧张素系统过度激活中的作用机制 心肌细胞持续缺氧导致不可逆损伤,IHD 进入终末期,肾素-血管紧张素系统(renin-angiotensin system, RAS)的慢性激活导致血管紧张素 II(angiotensin II, Ang II)的产生增加,进而对心室肥厚和重塑产生正反馈作用。有研究表明,在此过程中,Ang II 的增加促进了成纤维细胞源性外泌体释放,一方面通过上调肾素、血管紧张素原、血管紧张素 I 受体、Ang II 受体的表达,下调心肌细胞中血管紧张素转换酶 2 的表达,从而促进心肌细胞肥大;另一方面,心肌成纤维细胞源性外泌体中的一种 miRNA 可以通过磷酸化蛋白激酶 B/磷脂酰肌醇-3-激酶通路和丝裂原活化蛋白激酶通路介导 RAS 上调,从而促进心肌细胞肥大^[59]。有研究表明 Ang II 诱导的心脏成纤维细胞源性外泌体 miR-21 通过靶向促进 Sorbin-SH3 结构域蛋白 2 和 PDZ-LIM 结构域蛋白 5 的表达,促进心肌细胞肥大^[60]。因此,减少 Ang II 介导的心肌成纤维细胞外泌体释放是 Ang II 持续刺激而继发的室室重构的一种潜在的治疗方法。此外,Izarrar 等^[61]通过实验发现,心脏祖细胞源性外泌体及其活性分子 miR-133a 通过抑制 Caspase-9 活性减轻心肌纤维化及心肌细胞肥大,起到预防急性 IHD 事件后心室重构及心力衰竭的作用。

2.5.2 外泌体 miRNA 在血管新生中的作用机制

急性 IHD 事件发生后,血管的快速新生是减少心肌坏死、降低终末事件发生率的关键,无论干细胞还是内皮细胞在血管生成中的主要作用都离不开外泌体 miRNA 的参与。Ma 等^[62]发现内皮细胞源性外泌体 miR-132 通过调控其靶基因 RASA1,抑制蛋白激酶信号通路,促进内皮细胞在血管生成过程中的正向作用,反之,抑制 miR-132 的表达则会抑制血管新生。Youn 等^[63]研究表明心脏祖细胞源性外泌体 miR-322 通过增加 NADPH 氧化酶 2 衍生活性氧促进内皮细胞的血管新生。

此外,合并糖尿病常常导致心脏侧支循环不良、血管新生能力不足,已有大量研究表明,糖尿病心肌细胞中抗血管生成的外泌体表达较正常人增多,导致新生血管缺乏。Wang 等^[64]研究表明 GK(常用的 2 型糖尿病小鼠模型)心肌细胞源性外泌体与野生型外泌体相比具有较高的 miR-320 和较低的 miR-126 水平,miR-320 可拮抗 miR-126 的促血

管生成作用(miR-126通过抑制出芽相关蛋白1的表达来增强生长因子介导的促血管生成作用),并下调内皮细胞中的热休克蛋白20。

3 总结与展望

迄今为止,外泌体的诊断和治疗潜力受到越来越多的关注,特别是在癌症和IHD领域。在对大量文献的研读中我们发现,外泌体miRNA参与调控IHD发生发展的各个病理过程,体现了外泌体及其活性分子miRNA作为信号转导媒介的强大调节功能。外泌体miRNA的调节作用具有两面性,在同一病理过程中,不同种类外泌体miRNA扮演不同甚至相反的角色,例如,脂肪细胞源性外泌体miR-155促进巨噬细胞生成炎症因子,而巨噬细胞源性外泌体miR-146b却可减少炎症因子IL-1 β 、IL-6等的产生。由此,我们期望通过精确干预,促益止弊,促进IHD过程中起正性作用的外泌体miRNA表达,减少起负性作用的外泌体miRNA表达。体外实验中多种外泌体抑制剂被证明有效。可喜的是,除了通过基因工程技术靶向调控外泌体miRNA在体外的表达,一种新的以外泌体为载体的蛋白质靶向传递工具——EXPLORs(通过光学可逆的蛋白质-蛋白质相互作用装载蛋白质的外泌体)也被有效地应用于内源性蛋白质的特异性表达^[65-66]。

然而,由于内源性外泌体在细胞间信号转导机制的复杂性和体内调控内源性外泌体生成及表达的困难性,实现内源性外泌体的精准调控仍处于前临床阶段。造成临床应用困难的原因主要如下:(1)同种外泌体miRNA通过多靶点调控IHD的不同过程,作用机制复杂,综合效果受不同变量影响较大;(2)靶向调控目标外泌体miRNA的手段不够精确,调控目标外泌体miRNA的同时可能影响其他细胞源性外泌体的表达,从而影响临床结果;(3)尚未找到调控IHD各个病理过程的关键外泌体miRNA。随着对外泌体miRNA在IHD过程中调控机制的不断深入研究及相关临床试验的开展,逐步解决科研难题,IHD的外泌体miRNA靶向治疗将有望实现。

[参考文献]

[1] Benjamin EJ, Blaha MJ, Chiuve SE, et al. Heart disease and stroke statistics--2017 update: a report from the American Heart Association[J]. *Circulation*, 2017, 135(10): 146-603.

[2] Wortzel I, Dror S, Kenific CM, et al. Exosome-mediated metastasis: communication from a distance[J]. *Dev Cell*, 2019, 49(3): 347-360.

[3] 高方园,焦丰龙,张养军,等. 外泌体分离技术及其临床应用研究进展[J]. *色谱*, 2019, 37(10): 1071-1083.

[4] 曹润峰,沈立. miRNA在心肌梗死中的作用及其机制研究进展[J]. *中华细胞与干细胞杂志*, 2019, 9(6): 363-368.

[5] 李亚丽,姜皓,艾丽萍,等. 循环microRNAs在冠心病中的诊断作用[J]. *中国实验诊断学*, 2018, 22(9): 1665-1667.

[6] 武庆娟,陈恒文,高健,等. 外泌体miRNA在心血管疾病中的研究进展[J]. *中国病理生理杂志*, 2020, 36(2): 371-377.

[7] Dougherty JA, Kumar N, Noor M, et al. Extracellular vesicles released by human induced-pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes promote angiogenesis [J]. *Front Physiol*, 2018, 9: 1794.

[8] Gallet R, Dawkins J, Valle J, et al. Exosomes secreted by cardiosphere-derived cells reduce scarring, attenuate adverse remodeling, and improve function in acute and chronic porcine myocardial infarction [J]. *Eur Heart J*, 2017, 38(3): 201-211.

[9] Gimbrone MA, Garcia-Cardena G. Endothelial cell dysfunction and the pathobiology of atherosclerosis [J]. *Circ Res*, 2016, 118(4): 620-636.

[10] 罗雪兰,陈伟,莫国君,等. miRNA-24对血管内皮细胞eNOS表达/活性及其代谢产物NO生成的影响[J]. *国际药学研究杂志*, 2017, 44(3): 245-250.

[11] 栾桂霞,贤惠敏,郭译远,等. 非编码RNA与血管内皮功能障碍的研究进展[J]. *东南大学学报(医学版)*, 2017, 36(5): 860-863.

[12] Jing CQ, Guo ML, Bao XD, et al. Pitavastatin up-regulates eNOS production by suppressing miR-155 expression in lipopolysaccharide-stimulated human umbilical vein endothelial cells[J]. *Cardiovasc Ther*, 2017, 35(5): 12282.

[13] Zhang W, Yan L, Li Y, et al. Roles of miRNA-24 in regulating endothelial nitric oxide synthase expression and vascular endothelial cell proliferation [J]. *Mol Cell Biochem*, 2015, 405(1-2): 281-289.

[14] Chistiakov DA, Sobenin IA, Orekhov AN, et al. Human miR-221/222 in physiological and atherosclerotic vascular remodeling [J]. *Biomed Res Int*, 2015, 2015: 354517.

[15] Kalinowski L, Janaszak-jasiecka A, Siekierzycka A, et al. Posttranscriptional and transcriptional regulation of endothelial nitric-oxide synthase during hypoxia: the role of microRNAs [J]. *Cell Mol Biol Lett*, 2016, 21(1): 16.

[16] Liu YY, Qian L, Mohammed RH, et al. Atherosclerotic conditions promote the packaging of functional microRNA-

- 92a-3p into endothelial microvesicles [J]. *Circ Res*, 2019, 124(4): 575-587.
- [17] Sun X, Icli B, Wara AK, et al. MicroRNA-181b regulates NF- κ B-mediated vascular inflammation[J]. *J Clin Invest*, 2012, 122(6): 1973-1990.
- [18] Zhu N, Zhang D, Chen S, et al. Endothelial enriched microRNAs regulate angiotensin II-induced endothelial inflammation and migration[J]. *Atherosclerosis*, 2011, 215(2): 286-293.
- [19] Kumar S, Kim CW, Simmons RD, et al. Role of flowsensitive microRNAs in endothelial dysfunction and atherosclerosis: mechanosensitive athero-miRs[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2014, 34(10): 2206-2216.
- [20] Li L, Wang Z, Hu X, et al. Human aortic smooth muscle cell-derived exosomal miR-221/222 inhibits autophagy via a PTEN/Akt signaling pathway in human umbilical vein endothelial cells [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2016, 479(2): 343-350.
- [21] Thulasigam S, Massilamany C, Gangaplara A, et al. miR-27b, an oxidative stress-responsive microRNA modulates nuclear factor- κ B pathway in RAW 264.7 cells[J]. *Mol Cell Biochem*, 2011, 352(1-2): 181-188.
- [22] Magenta A, Greco S, Gaetano C, et al. Oxidative stress and microRNAs in vascular diseases[J]. *Int J Mol Sci*, 2013, 14(9): 17319-17346.
- [23] Barberio MD, Kasselmann LJ, Playford MP, et al. Cholesterol efflux alterations in adolescent obesity: role of adipose-derived extracellular vesicular microRNAs[J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 17(1): 232.
- [24] 张晓亮, 叶金善, 梁星, 等. miR-155 调控巨噬细胞炎症反应和脂质摄取的作用及机制[J]. *细胞与分子免疫学杂志*, 2017, 33(8): 1079-1086.
- [25] Rayner KJ, Suarez R, Davalos R, et al. miR-33 contributes to the regulation of cholesterol homeostasis[J]. *Science*, 2010, 328(5985): 1570-1573.
- [26] 侯智为, 刘艳霞, 李玉莹, 等. miR-33a 调控 ABCA1 表达介导棕榈酸诱导肝细胞脂质代谢损伤研究[J]. *临床军医杂志*, 2019, 47(5): 522-524.
- [27] 彭丹虹, 王燕萍, 刘晓琪, 等. 微 RNA 对高脂血症痰证脂质代谢调节机制的研究进展[J]. *医学综述*, 2016, 22(21): 4165-4169.
- [28] Wang T, Li M, Guan J, et al. MicroRNAs miR-27a and miR-143 regulate porcine adipocyte lipid metabolism[J]. *Int J Mol Sci*, 2011, 12(11): 7950-7959.
- [29] Wu WY, Ding XQ, Gu TT, et al. Pterostilbene improves hepatic lipid accumulation via the miR-34a/Sirt1/SREBP-1 pathway in fructose-fed rats[J]. *J Agric Food Chem*, 2020, 68(5): 1436-1446.
- [30] Feng J, Li A, Deng J, et al. miR-21 attenuates lipopolysaccharide-induced lipid accumulation and inflammatory response: potential role in cerebrovascular disease[J]. *Lipids Health Dis*, 2014, 13(1): 13-27.
- [31] 翟科峰, 段红, 李洁, 等. 涉及脂质代谢的 miRNA 及其对动脉粥样硬化发展和治疗的进展[J]. *基因组学与应用生物学*, 2018, 37(12): 5692-5698.
- [32] Wang H, Wang ZH, Kong J, et al. Oxidized low-density lipoprotein-dependent platelet-derived microvesicles trigger procoagulant effects and amplify oxidative stress[J]. *Mol Med*, 2012, 18(1): 159-166.
- [33] Nguyen MA, Karunakaran D, Geoffrion M, et al. Extracellular vesicles secreted by atherogenic macrophages transfer microRNA to inhibit cell migration[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2018, 38(1): 49-63.
- [34] Wang X, Yu Y. miR-146b protect against sepsis induced mice myocardial injury through inhibition of Notch1[J]. *J Mol Histol*, 2018, 49(4): 411-417.
- [35] Li H, Liu Q, Wang N, et al. Transplantation of endothelial progenitor cells overexpressing miR-126-3p improves heart function in ischemic cardiomyopathy [J]. *Circ J*, 2018, 82(9): 2332-2341.
- [36] Zhang YQ, Mei HX, Chang XA, et al. Adipocyte-derived microvesicles from obese mice induce M1 macrophage phenotype through secreted miR-155[J]. *J Mol Cell Biol*, 2016, 8(6): 505-517.
- [37] 胡威威, 陈丽曼, 刘智芬. 下调 miR-92a 通过调控 PIAS3 抑制 ox-LDL 诱导 RAW264.7 细胞炎症介质分泌和脂质蓄积[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2018, 26(11): 1119-1126.
- [38] Hinkel R, Penzkofer D, Zuhlke S, et al. Inhibition of microRNA-92a protects against ischemia/reperfusion injury in a large-animal model [J]. *Circulation*, 2013, 128(10): 1066-1075.
- [39] Li S, Chen H, Ren J, et al. MicroRNA-223 inhibits tissue factor expression in vascular endothelial cells[J]. *Atherosclerosis*, 2014, 237(2): 514-520.
- [40] Wang H, Wang Q, Kleiman K, et al. Hematopoietic deficiency of miR-223 attenuates thrombosis in response to photochemical injury in mice [J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 1606.
- [41] Tan M, Yan HB, Li JN, et al. Thrombin stimulated platelet-derived exosomes inhibit platelet-derived growth factor receptor-beta expression in vascular smooth muscle cells [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2016, 38(6): 2348-2365.
- [42] Gonzalez L, Trigatti BL. Macrophage apoptosis and necrotic core development in atherosclerosis: a rapidly advancing field with clinical relevance to imaging and therapy[J]. *Can J Cardiol*, 2017, 33(3): 303-312.
- [43] Yu B, Kim HW, Gong M, et al. Exosomes secreted from

- GATA-4 overexpressing mesenchymal stem cells serve as a reservoir of antiapoptotic microRNAs for cardioprotection [J]. *Int J Cardiol*, 2015, 182: 349-360.
- [44] Frank D, Gantenberg J, Boomgaarden I, et al. MicroRNA-20a inhibits stress-induced cardiomyocyte apoptosis involving its novel target Egl3/PHD3[J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2012, 52(3): 711-717.
- [45] Yu XY, Song YH, Geng YJ, et al. Glucose induces apoptosis of cardiomyocytes via microRNA-1 and IGF-1[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2010, 376(3): 548-552.
- [46] Hao YL, Fang HC, Zhao HL, et al. The role of microRNA-1 targeting of MAPK3 in myocardial ischemia-reperfusion injury in rats undergoing sevoflurane preconditioning via the PI3K/Akt pathway [J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2018, 315(3): C380-C388.
- [47] Zhou H, Wang B, Yang YX, et al. Exosomes in ischemic heart disease: novel carriers for bioinformation [J]. *Biomed Pharmacother*, 2019, 120: 109451.
- [48] 王颖, 王雷. 微小RNA参与心肌缺血再灌注损伤的作用机制及研究进展[J]. *心血管病学进展*, 2017, 38(4): 434-438.
- [49] Chen Q, Yue Z, Richards AM, et al. Up-regulation of miRNA-221 inhibits hypoxia/reoxygenation-induced autophagy through the DDIT4/mTORC1 and Tp53inp1/p62 pathways[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2016, 474(1): 168-174.
- [50] Liu J, Jiang M, Deng S, et al. miR-93-5p-containing exosomes treatment attenuates acute myocardial infarction-induced myocardial damage[J]. *Mol Ther Nucleic Acids*, 2018, 11: 103-115.
- [51] Wu D, Jiang H, Chen S, et al. Inhibition of microRNA-101 attenuates hypoxia/reoxygenation-induced apoptosis through induction of autophagy in H9c2 cardiomyocytes [J]. *Mol Med Rep*, 2015, 11(5): 3988-3994.
- [52] Rogg EM, Abplanalp WT, Bischof C, et al. Analysis of cell typespecific effects of microRNA-92a provides novel insights into target regulation and mechanism of action [J]. *Circulation*, 2018, 138(22): 2545-2558.
- [53] Li Z, Song Y, Liu L, et al. miR-199a impairs autophagy and induces cardiac hypertrophy through mTOR activation [J]. *Cell Death Differ*, 2017, 24(7): 1205-1213.
- [54] Chen L, Wang Y, Pan Y, et al. Cardiac progenitor-derived exosomes protect ischemic myocardium from acute ischemia/reperfusion injury [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2013, 431(3): 566-571.
- [55] Wang Y, Zhang L, Li Y, et al. Exosomes/microvesicles from induced pluripotent stem cells deliver cardioprotective miRNAs and prevent cardiomyocyte apoptosis in the ischemic myocardium[J]. *Int J Cardiol*, 2015, 192: 61-69.
- [56] Wang X. Loss of the miRNA-144/451 cluster impairs ischaemic preconditioningmediated cardioprotection by targeting Rac-1[J]. *Cardiovasc Res*, 2012, 94(2): 379-390.
- [57] Aurora AB, Mahmoud AI, Luo X, et al. MicroRNA-214 protects the mouse heart from ischemic injury by controlling Ca²⁺ overload and cell death[J]. *J Clin Invest*, 2012, 122(4): 1222-1232.
- [58] Cha MJ, Jang JK, Ham O, et al. MicroRNA-145 suppresses ROS-induced Ca²⁺ overload of cardiomyocytes by targeting CaMKII δ [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2013, 435(4): 720-726.
- [59] 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.
- [60] 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.
- [61] Izarra A, Moscoso I, Levent E, et al. miR-133a enhances the protective capacity of cardiac progenitors cells after myocardial infarction [J]. *Stem Cell Reports*, 2014, 3(6): 1029-1042.
- [62] 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.
- [63] Youn SW, Li Y, Kim YM, et al. Modification of cardiac progenitor cell-derived exosomes by miR-322 provides protection against myocardial infarction through Nox2-dependent angiogenesis[J]. *Antioxidants (Basel)*, 2019, 8(1): 18.
- [64] Wang X, Huang W, Liu G, et al. Cardiomyocytes mediate anti-angiogenesis in type 2 diabetic rats through the exosomal transfer of miR-320 into endothelial cells [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2014, 74: 139-150.
- [65] Yim N, Ryu SW, Choi K, et al. Exosome engineering for efficient intracellular delivery of soluble proteins using optically reversible protein-protein interaction module [J]. *Nat Commun*, 2016, 7: 12277.
- [66] 江悦, 田梦翔. 外泌体为动脉粥样硬化提供新的干预靶点[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2017, 25(4): 411-416. (此文编辑 曾学清)