

本文引用: 杨盛兰, 丁楠, 殷中伟, 等. 细胞外囊泡内 miRNA 在心血管疾病中的生物学作用及临床展望[J]. 中国动脉硬化杂志, 2023, 31(7): 617-624. DOI: 10.20039/j.cnki.1007-3949.2023.07.010.

[文章编号] 1007-3949(2023)31-07-0617-08

· 文献综述 ·

## 细胞外囊泡内 miRNA 在心血管疾病中的生物学作用及临床展望

杨盛兰<sup>1</sup>, 丁楠<sup>2</sup>, 殷中伟<sup>2</sup>, 陈琛<sup>2</sup>

(1. 重庆医科大学附属第一医院心血管内科, 重庆市 400016; 2. 华中科技大学同济医学院附属同济医院心血管内科  
心血管病遗传与分子机制湖北省重点实验室, 湖北省武汉市 430030)

**[摘要]** 细胞外囊泡(EV)是由各种活细胞分泌的纳米级大小的双层脂质囊状物。细胞外囊泡可以在细胞之间转运 DNA、RNA 和蛋白,是细胞间信息传递的重要部分。microRNA 是一类小的非编码 RNA,其通过与靶向 mRNA 3'UTR 区域结合,促进 mRNA 的降解或抑制蛋白的合成。文章着重讨论了 microRNA 产生的过程、细胞外囊泡作为 microRNA 的载体在细胞之间传递信息,以及 EV-miRNA 在心血管相关疾病中的重要作用。

**[关键词]** miRNA; 细胞外囊泡; 心血管疾病

**[中图分类号]** R5

**[文献标识码]** A

### Biological function and clinical prospection of miRNA in extracellular vesicles in cardiovascular diseases

YANG Shenglan<sup>1</sup>, DING Nan<sup>2</sup>, YIN Zhongwei<sup>2</sup>, CHEN Chen<sup>2</sup>

(1. Department of Cardiology, the First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China;  
2. Division of Cardiology and Hubei Key Laboratory of Genetics and Molecular Mechanisms of Cardiological Disorders, Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan, Hubei 430030, China)

**[ABSTRACT]** Extracellular vesicles(EV) are nano-sized lipid bilayer vesicles, which were released by every cell type. EV can transfer DNA, RNA and protein among cells, which is a key part of signaling transduction among cells. microRNA is a small non-coding RNA molecular, which can bind to 3'UTR sequence of targeted mRNA, and facilitate mRNA degradation or block protein generation. This study focuses on the generation of microRNA and how EV transfer microRNA among cells, as well as the function of EV-miRNA in cardiovascular diseases.

**[KEY WORDS]** miRNA; extracellular vesicle; cardiovascular disease

随着生活方式的变化,心血管疾病(cardiovascular diseases,CVD)发病率逐年升高。在中国城乡居民疾病死亡率中,CVD 致死率高居榜首,农村为 46.66%,城市为 43.81%<sup>[1]</sup>。预测截止 2025 年,尽管新型诊断技术和治疗方法的发展促使 CVD 死亡率有所降低,CVD 仍将是全球人口死亡的主要病因<sup>[2]</sup>。寻找导致 CVD 的核心分子是有效预防和治疗 CVD 的关键。

miRNA(microRNA)是一类小的(22 nt)非编码 RNA,在癌症、代谢紊乱和心血管疾病中具有多种重

要调节功能。miRNA 通过与 Argonaute(Ago)蛋白结合形成 RNA 诱导沉默复合物(RNA-induced silencing complex,RISC),靶向 mRNA 3'UTR 促进 mRNA 的降解或抑制蛋白合成,导致靶基因蛋白水平的降低<sup>[3]</sup>。但是游离的 miRNA 容易被核糖核苷酸酶降解。miRNA 通常以无囊泡的形式与脂蛋白和 Ago 等蛋白质相结合,或被封装到细胞外囊泡(extracellular vesicles,EV)中<sup>[4]</sup>,获得相对稳定的状态。与传统的 miRNA 载体(脂蛋白和 Ago 等)相比,EV 具有更高的亲和力和靶向性。此外,EV 表

[收稿日期] 2022-08-12

[修回日期] 2022-10-23

[基金项目] 国家自然科学基金项目资助(82100375)

[作者简介] 杨盛兰,博士,副主任医师,长期致力于代谢性心肌病与心力衰竭领域研究,特别是 miRNA 在心血管相关疾病中的作用,E-mail:yangsl\_1984@126.com。通信作者陈琛,博士,教授,博士研究生导师,主要从事分子心脏病学及相关转化研究,E-mail:chenchen@tjh.tjmu.edu.cn。

面的一些特定膜蛋白如 CD47, 可以阻止单核细胞或巨噬细胞吞噬和摄取<sup>[5-6]</sup>, 使其包裹的 miRNA 在生物体内的半衰期更长, 更稳定。EV 作为重要载体, 携带包括 miRNA、蛋白质和 DNA 在内的多种生物活性分子<sup>[7-8]</sup>, 在细胞-细胞信使传递与功能调控中起着关键作用<sup>[9-11]</sup>。

本文重点从 EV 作为 miRNA 载体的功能调控方面, 综合阐述 EV-miRNA 在各种 CVD 中的作用及其机制, 并且为 CVD 的治疗提供新思路。

## 1 miRNA 的产生及进入 EV 的调控

### 1.1 miRNA 的产生

miRNA 是长度为 22 nt 的非编码 RNA, 起源于细胞核。在 RNA 聚合酶 II 介导下, 细胞核 DNA 转录产生初级 miRNA (primary miRNA, pri-miRNA)。

pri-miRNA 被双链 RNA 特异性核糖核酸酶 Drosha 加工后, 形成长度为 70 ~ 100 nt 的发夹 pre-miRNA。发夹 pre-miRNA 进入细胞质, 被双链特异性核糖核酸酶 (Dicer) 进一步加工, 转化为单链成熟 miRNA。成熟的 miRNA 随后被包裹入 EV 中, 运输、分泌至细胞外进行信使功能传递, 被靶细胞或器官吸收, 发挥不同的生物学功能。

### 1.2 miRNA 进入 EV

根据直径大小, EV 通常被分为外泌体 (exosomes) (直径 30 ~ 200 nm)、微囊泡 (microvesicles, MV) (直径 200 ~ 2 000 nm)<sup>[12]</sup>。MV 主要由细胞膜向外出芽形成; 与 MV 不同, 外泌体则是由细胞膜内陷形成内质体, 内质体成熟为晚期多囊性内质体后向内凹陷, 形成多泡体<sup>[13]</sup>。多泡体膜内陷形成腔内小泡<sup>[14]</sup>, 最终被释放到胞外<sup>[15]</sup>。已有研究表明, miRNA 可能通过以下几种途径进入 EV (图 1)。

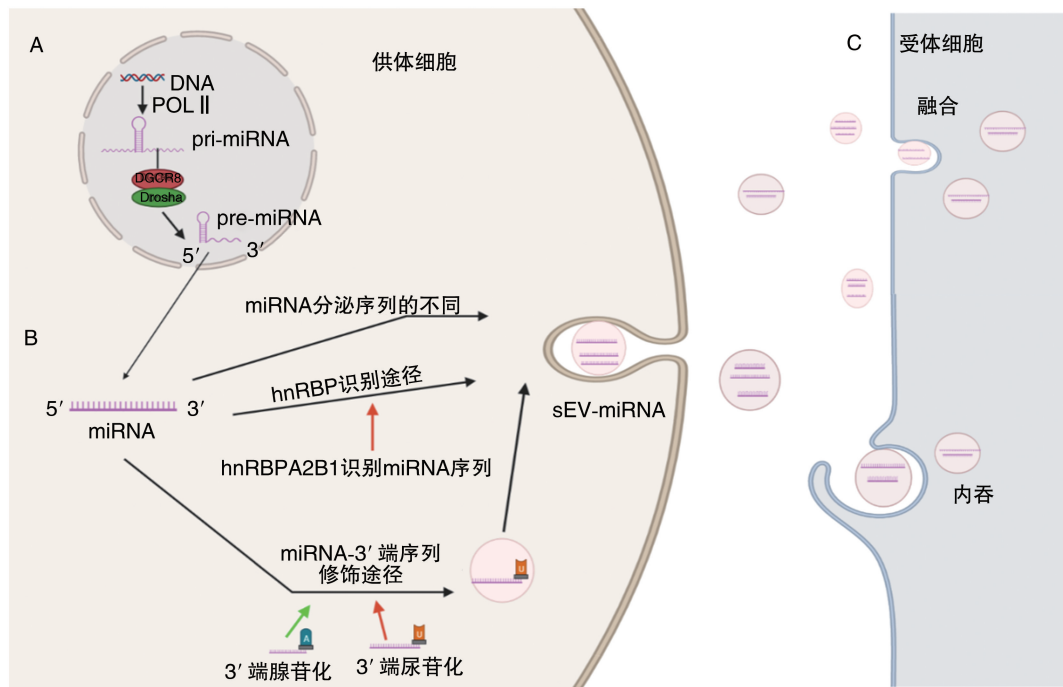


图 1. miRNA 产生、进入 EV 途径及受体细胞吸收 EV 示意图

A 为细胞核 DNA 转录产生 pri-miRNA, pri-miRNA 被 Drosha 加工后, 形成 pre-miRNA 进入细胞质, 被双链特异性核糖核酸酶 (Dicer) 进一步加工; B 为三种 miRNA 分选途径; C 为受体细胞吸收 EV。红色箭头为促进, 绿色箭头为抑制。

Figure 1. Schematic diagram of miRNA production, pathway into EV and uptake of EV by recipient cells

1.2.1 EV 直接识别 miRNA 序列途径 EV 能够识别 miRNA 上特有序列, 来决定其是否进入 EV<sup>[16]</sup>。例如, 在 3T3-L1 细胞中, EV 能够识别带有 NGGUCA 序列的 miRNA; 内皮细胞 EV 能够识别带有 CG[G/C][G/U] 序列的 miRNA。

1.2.2 RNA 结合蛋白介导途径 RNA 结合蛋白

(RNA-binding protein, RBP) 可与 RNA 结合, 介导 RNA 转录后加工、核质转运和成熟, 参与 miRNA 被“筛选”入 EV 的过程<sup>[17]</sup>。异质核糖核蛋白 (heterogeneous nuclear ribonucleoprotein, hnRNP) 是 RBP 的一种, 参与 DNA 转录后加工、生物发生和运输 miRNA<sup>[18]</sup>。被修饰后的 hnRNP 能够识别和结合

miRNA 特异序列,从而介导 miRNA 进入 EV。例如,在 293T 细胞中,hnRNPA2B1 在被苏甲酰化后,可特异性识别结合 miRNA-198 和 miRNA-601 的 GGAG/UGCA 基序,与之形成复合物,将 miR-198 和 miR-223 运输到外泌体中<sup>[19]</sup>。

**1.2.3 miRNA-3' 端序列修饰途径** pri-miRNA 变成成熟的 miRNA 过程中需要 Drosha 及 Dicer 加工,产生 30 nt 末端长度变体(例如截断和延伸)。这些变体在核苷酸基转移酶作用下发生转录后修饰,产生额外的 miRNA 亚型称为非模板末端 NTA<sup>[20-21]</sup>。3' 端转录后修饰即为非模板末端 NTA 的一种类型,腺/尿苷化是由一组末端苷基转移酶(TUTases)催化下发生尾链修饰<sup>[22]</sup>。经过 3' 端腺苷化的 miRNA 在细胞中相对富集,而 3' 端尿苷化的 miRNA 在 EV 中相对富集,这提示 miRNA 的 3' 端转录后修饰在引导 miRNA 进入 EV 中起着重要作用<sup>[23]</sup>。

### 1.3 受体细胞摄取 EV,miRNA 进入受体细胞内部

分泌至细胞外的 EV 可被受体细胞吸收,miRNA 进入受体细胞内,从而影响受体细胞的基因表达和功能<sup>[24]</sup>。已知的 EV 被摄取机制有两种(图 1)。**①融合:**EV 的膜与受体细胞膜直接融合后,miRNA 等被释放到受体细胞内<sup>[25]</sup>;**②内吞:**最常见,EV 与细胞发生内吞作用后与胞内的内质体膜融合,释放 miRNA 进入细胞。不同类型内吞作用机制差异很大,包括胞饮作用、吞噬作用、不同介质如网格蛋白介导的内吞作用,其类型可能取决于受体细胞类型和生理条件<sup>[26-27]</sup>。另外,在细胞外囊泡内化过程中,细胞表面的穴样内陷主要是膜内在蛋白(Caveolin-1)发挥了负性调控作用<sup>[28]</sup>。

EV 承担着细胞-细胞之间重要的信使传递与功能调控作用,在心血管的生理病理过程中都扮演着重要角色。接下来,我们着重回顾目前心血管研究领域 EV-miRNA 在不同疾病模型中的研究进展。

## 2 EV 内 miRNA 在不同心血管疾病中的作用

### 2.1 EV-miRNA 与冠状动脉粥样硬化性心脏病

冠状动脉粥样硬化性心脏病(coronary artery disease,CAD)是最常见的心脏病类型之一,主要由炎症、氧化应激和内皮功能障碍途径的激活以及动脉内皮中胆固醇斑块的富集引起,与心血管疾病发病率和死亡率增加呈正相关<sup>[29]</sup>。尽管抗血小板药物、他汀类药物和冠状动脉介入治疗的应用显著改善了 CAD 患者预后,但患者仍面临支架再狭窄、心

脏重塑和缺血再灌注损伤等残余风险<sup>[1]</sup>。因此,深度探索 CAD 发病的病理生理机制非常重要。

EV-miRNA 在 CAD 的发生发展中发挥重要作用,根据对冠状动脉来源 EV 所含 miRNA 测序结果显示,CAD 患者冠状动脉血中 EV 含量及大小随年龄增加减少,并且 EV 内 miRNA 的含量及水平也有所改变。例如,冠心病时血循环中 EV 内 miRNA-382-3p、miRNA-432-5p、miRNA-200a-3p 和 miRNA-3613-3p 均明显上调,miRNA-125a-5p、miRNA-185-5p、miRNA-151a-3p 和 miRNA-328-3p 明显下降<sup>[30]</sup>。急性心肌梗死时,血液循环 EV 内 miR-133a、miR-208a、miR-1、miR-499-5p、miR-92b-5p 和 miR-30a 均明显升高<sup>[29]</sup>,这提示检测血浆中 EV-miRNA 或许有助于 CAD 的疾病诊断。除此之外,Njock 等<sup>[31]</sup>发现,内皮细胞可释放富含 miR-10a 的 EV。炎症因子激活的单核细胞摄取富含 miR-10a 的 EV 后,miR-10a 分别抑制丝裂原活化激酶激酶 7、 $\beta$ -转导蛋白重复序列和白细胞介素 1 受体相关激酶 4 表达,从而抑制 I-kappa 激酶  $\beta$  降解,抑制内皮细胞核因子  $\kappa$ B(nuclear factor kappa-B,NF- $\kappa$ B)的活化,炎症信号传导减弱,抑制内皮细胞炎症过程及粥样斑块的发生发展。另外,与 NF- $\kappa$ B 促炎作用不同,Krüppel 样因子(Krüppel-like factors,KLF)的激活在动脉粥样硬化中发挥保护作用<sup>[32]</sup>。KLF2 过表达内皮细胞可释放富含 miR-143/145 的 EV<sup>[31,33]</sup>。研究表明,利用高表达 KLF2 的内皮细胞分泌的 EV,干预载脂蛋白 E 基因敲除的动脉粥样硬化小鼠,其血管平滑肌细胞内 miR-143/145 含量增多。miR-143/145 靶向血清反应因子(serum response factor,SRF),促进 VSMC 分化,抑制其增殖,从而发挥抗血管损伤和延缓动脉粥样硬化进展的作用<sup>[33]</sup>。这些结果表明,表达 KLF2 的内皮细胞生成的 EV 以 miR-143/145 依赖的方式抑制动脉粥样硬化病变的形成<sup>[31,33]</sup>。Yang 等<sup>[34]</sup>发现,在急性心肌梗死患者体内血清中,EV-miR-30a 含量丰富,缺氧刺激后的心肌细胞可分泌富含 miR-30a 的 EV,以旁分泌方式将 miR-30a 转移出去,从而减轻缺氧后的心肌细胞内 miR-30a 的含量,促进 miR-30a 下游靶点 Beclin1 的激活。Beclin1 是细胞自噬通路的重要蛋白,自噬作用在缺氧条件下被激活,以形成自噬小泡的形式保护细胞免受缺氧损害<sup>[35]</sup>。miR-30a 通过调节缺氧诱导心肌细胞中自噬效应蛋白 Beclin1 的含量来抑制细胞自噬的发生,抑制其对细胞的保护作用<sup>[36]</sup>。以上结果提示,EV 及其所携带的 miRNA 调控着 CAD 的发生发展,有望成为 CAD 早期诊断及干预治疗的



靶点。

## 2.2 EV-miRNA 与高血压

高血压以体循环动脉血压增高(患者坐位时,以标准化方式测量诊室收缩压 $\geq 140$  mmHg 和/或诊室舒张压 $\geq 90$  mmHg)为特征,可引起脑卒中、冠心病、心力衰竭、肾脏疾病等严重并发症,已成为中国家庭和社会的沉重负担<sup>[37]</sup>。肾素-血管紧张素-醛固酮系统(renin-angiotensin-aldosterone system, RAAS)的不正常活化、内皮和血管功能障碍、氧化应激和炎症均参与了高血压的发生发展,但具体机制仍然不清。目前药物治疗仍然不能有效预防高血压发生及延缓其进展,因此深入探究高血压的发病机制和干预靶点对探索新的降压药物和防治策略具有重要的理论和实践意义<sup>[38]</sup>。

RAAS 调节不仅影响血管和内皮的结构和功能,还可以诱导炎症产生,这是动脉重塑和血压调节的重要机制<sup>[39]</sup>。miR-155-5p 通过直接降低血管紧张素转化酶和血管紧张素 II 肽的水平来降低血压、抑制血管重塑和血管增殖,从而发挥保护作用<sup>[40]</sup>。然而,研究人员<sup>[40]</sup>发现自发性高血压大鼠血浆 EV 内 miR-155-5p 水平显著降低,血管紧张素升高。这提示 miR-155-5p 不仅有可能作为高血压发展时的标志物,还参与了高血压的发生发展。Oh 等<sup>[41]</sup>发现,内质网应激增加了巨噬细胞衍生的 EV 内 miR-106-5p 的表达,经血液循环转运至肾小球旁细胞。miR-106-5p 抑制转录因子 E2f1 和 Pde3b 的表达,从而促进肾素产生,最终促进高血压的发生发展。临床研究表明,循环炎症标志物水平与高血压、血管炎症和内皮功能障碍有关<sup>[42]</sup>。Osada-Oka 等<sup>[43]</sup>发现,高血压大鼠巨噬细胞来源的 EV 内 miR-17-3p 显著下降,而 miR-17-3p 可通过降低内皮细胞中的促炎因子如细胞间黏附分子 1 (intracellular adhesion molecule-1, ICAM-1) 表达,减少内皮细胞炎症损伤。这提示血压升高可能导致 miR-17-3p 含量下降,加重内皮细胞炎症损伤。相比之下,来自间充质细胞的 EV 似乎更倾向于心血管保护作用。在盐依赖性高血压小鼠模型中,脂肪组织来源的间充质细胞分泌的 EV 富含 miR-200 家族,通过下调促纤维化基因如转化生长因子  $\beta$  (transforming growth factor- $\beta$ , TGF- $\beta$ ),防止心肌组织纤维化,并将血压维持在正常水平。并且,miR-200 下调促炎分子如单核细胞趋化蛋白 1 和纤溶酶原激活抑制剂 1 的表达,并减少巨噬细胞向肾脏的募集,从而抑制肾脏炎症反应和纤维化的发展,保

护肾脏免受高血压损害<sup>[44]</sup>。

## 2.3 EV-miRNA 与糖尿病心肌损伤

糖尿病(diabetes mellitus, DM)是一种以高血糖为特征的全身代谢紊乱疾病,由遗传或环境因素引起的胰岛素分泌缺陷或胰岛素抵抗(insulin resistance, IR)所致<sup>[45]</sup>。DM 发病率高且呈增长趋势,目前患病人数达 4.63 亿,2030 年将达到 5.78 亿<sup>[46]</sup>。糖尿病性心肌损伤是糖尿病患者的主要死亡原因之一<sup>[47]</sup>,独立于其他传统心血管危险因素(如高血压、血脂异常)和任何已知心脏病(如冠心病、瓣膜病),代表了 DM 对心脏的直接损害<sup>[48]</sup>。由于糖尿病心肌损伤时心脏结构和病理改变缺乏特异性,且具体机制不清,诊断及针对糖尿病心肌损伤的病因学治疗仍然是一个挑战。

目前研究显示, EV-miRNA 可能参与了糖尿病心肌损伤的发展。糖尿病小鼠心肌损伤加重过程中,血液 EV 内 miR-19b-3p、miR-181b-5p、miR-194 和 miR-29a 表达增高。心肌细胞可吸收 miR-194 和 miR-29a,导致小鼠心肌细胞线粒体活性受损,心肌细胞能量代谢障碍,加重心肌细胞损伤<sup>[49-51]</sup>。损伤的心肌细胞自身也可释放富含 miRNA 的 EV,被心脏组织中其他细胞摄取,影响糖尿病心肌损伤进程。研究者<sup>[52]</sup>发现从 2 型糖尿病大鼠模型分离的心肌细胞与正常小鼠心脏内皮细胞共同培养后,心脏内皮细胞的增殖和迁移功能均受到抑制,该抑制作用可被 GW4869(一种外泌体形成/释放抑制剂)阻断。进一步提取心肌细胞培养上清 EV 发现,糖尿病大鼠心肌细胞来源 EV 数量减少但所携带 miR-320 丰度更高。分离大鼠心肌细胞与小鼠心脏内皮细胞共培养后,进一步验证心脏内皮细胞可吸收心肌细胞释放的富含 miR-320 的 EV,通过抑制胰岛素样生长因子 1、热休克蛋白 20 和 Ets2(一种转录因子)表达,抑制内皮细胞的迁移和成管能力,拮抗血管形成,从而加重糖尿病心肌损伤。在全身血糖代谢紊乱时,除了心脏自身影响,脂肪组织及肝脏也可以作为循环内 EV-miRNA 的来源器官<sup>[53]</sup>。例如,高脂诱导 2 型糖尿病小鼠模型中,脂肪组织功能失调,可分泌富含 miR-200a 的 EV,通过血液运输被心肌细胞摄取,抑制 TSC1 表达[雷帕霉素靶蛋白(mammalian target of rapamycin, mTOR)信号通路的负调节分子],激活 mTOR 途径而诱导心肌肥厚,促进心功能障碍<sup>[54]</sup>。前期研究发现,AMP 依赖的蛋白激酶(adenosine monophosphate-activated protein kinase, AMPK)是代谢紊乱相关细胞死亡和器官损

伤的主要分子,抑制 AMPK- $\alpha$  可导致糖尿病心功能损伤<sup>[55]</sup>。2 型糖尿病小鼠脂肪组织功能失调,同时分泌富含 miR-130b-3p 的 EV 被心肌细胞吸收后,抑制心肌细胞 AMPK- $\alpha$  表达,加重心肌细胞损伤<sup>[56]</sup>。来自肝脏的 EV-miR-122 被运输到心肌细胞,抑制心肌细胞内线粒体蛋白 ADP-核糖化因子样 2 的表达,抑制线粒体 ATP 的产生,并最终损害心脏功能<sup>[57]</sup>。与病理状态下 miRNA 致病作用不同,在运动介导的糖尿病心肌组织代谢调节和心功能改善过程中,EV 来源的 miRNA 发挥保护心肌组织的作用。例如,基质金属蛋白酶 9(matrix metalloproteinase-9, MMP-9)参与细胞外基质降解,并导致心肌细胞解偶联以及心肌纤维化,而在糖尿病患者中, MMP-9 引起基质重塑,已有研究表明抑制 MMP-9 可诱导糖尿病患者心脏干细胞的存活和分化<sup>[58]</sup>。运动可促进血浆中 miR-29b 和 miR-455 的表达水平上升,从而降低 MMP-9 表达,抑制糖尿病心肌损伤过程中纤维化和心肌细胞解偶联,提示 EV-miRNA 也参与了运动改善糖尿病患者心功能<sup>[59]</sup>。

#### 2.4 EV-miRNA 与心力衰竭

心力衰竭(heart failure, HF)是各种心血管疾病的终末期,病理过程包括心肌细胞肥大、心肌纤维化、心肌血管生成受损,是导致心脏死亡的主要原因,现有的治疗策略不能有效逆转早期 HF 并且降低 HF 的死亡率和再住院率<sup>[60]</sup>。因此,探索心力衰竭的发病机制,寻找与心力衰竭的发生和发展密切相关的分子有助于 HF 的早期检测和治疗,从而降低 HF 的发生率和死亡率。

EV-miRNA 因其被囊泡包裹,相对稳定,使它们有希望成为 HF 的候选诊断生物标志及治疗靶点。研究表明<sup>[61]</sup>,在急性心肌梗死后心力衰竭发展过程中,患者血清中 miR-192、miR-194 和 miR-34a 水平明显升高,并且 miR-192、miR-194 和 miR-34a 大部分存在于 EV 中。此外, Goren 等<sup>[62]</sup>检测 10 例 HF 患者和 10 例健康者血清中 EV-miRNA 表达水平发现,miR-92b 水平在 HF 组中明显下降。心力衰竭患者及由压力超负荷诱导的动物心力衰竭模型中,血液中 EV 所携带 miR-217 及 miR-208a 表达均增加<sup>[63-64]</sup>。这些研究均表明,在 HF 发展过程中, EV-miRNA 有望成为循环标志物的潜能。除此之外, EV-miRNA 也参与了 HF 的病理生理过程。研究人员<sup>[63]</sup>发现,慢性心力衰竭患者及心力衰竭小鼠心脏中 miR-217 的表达水平均增加。体外实验证实, Ang II 诱导心肌细胞肥大,促使心肌细胞分泌富含 miR-217 的 EV。将该 EV 与成纤维细胞共孵育后,

成纤维细胞内 miR-217 含量升高,并通过靶向 PTEN(磷脂酰肌醇-3 激酶(PI3K)-Akt 通路中的负调节蛋白)促使心肌细胞肥大,纤维化标记基因表达增加,加重了 HF 的发生发展<sup>[63]</sup>。在催乳素诱导心力衰竭小鼠模型中,内皮细胞 miR-146a 表达增加。在受损内皮细胞内, miR-146a 可直接下调 NRAS(促进细胞生存与增殖的关键基因),抑制血管生成。同时,受损的内皮细胞分泌富含 miR-146a 的 EV,一部分进入血液循环成为特异性标志物,另一部分以旁分泌形式将 miR-146a 运输至心肌细胞内部,靶向 ErbB4 抑制葡萄糖摄取,抑制心肌细胞代谢加重围产期心力衰竭的进展<sup>[65]</sup>。源于胚胎干细胞的 EV-miR-294 可靶向转录因子 CMY-C 及 KLF-4 有效抑制心肌梗死后的纤维化,预防心肌梗死诱导的心力衰竭<sup>[66]</sup>。有趣的是,相同组织不同细胞来源的同种 miRNA 在心力衰竭发展过程中可能有完全相反的调节作用。脂肪组织来源的间充质细胞分泌 EV-miR-200,可有效抑制心肌纤维化的发生发展,从而延缓 HF 加重<sup>[44]</sup>;但是脂肪细胞内过氧化物酶体增殖物激活受体  $\gamma$ (peroxisome proliferators-activated receptors gamma, PPAR $\gamma$ ) 激活促进 EV-miRNA-200 分泌,作用于 mTOR 途径促进心肌细胞肥大,加重 HF 的发生发展<sup>[54]</sup>。源于心肌细胞 EV-miR-146a 显著减少了心肌细胞的增殖,抑制了微血管再生<sup>[65]</sup>;然而,来自心肌祖细胞亚群的 EV-miR-146a 促进了心肌血管生成,显著改善了急性心肌梗死后的心力衰竭<sup>[67]</sup>。这可能与心力衰竭发展阶段及 EV 起源细胞不同有关。心力衰竭早期阶段,心脏源性 EV 传递保护性 miRNA;晚期阶段心脏源性 EV-miRNA 可能发挥破坏性作用<sup>[68]</sup>,并且不同细胞来源的同种 miRNA 作用靶点也不尽相同,因此需要进一步的研究来证实该矛盾性。

### 3 小结与展望

循环中 miRNA 已被证明在心血管疾病中发挥重要作用, EV 作为能够稳定运输 miRNA 的载体近年被广泛研究。本文概述了 EV-miRNA 如何产生、运输及作用于靶细胞的机制及调节,现有国内外研究关于 EV-miRNA 在几大类心血管疾病,如冠心病、高血压、糖尿病心肌损伤及心力衰竭发病过程中的作用<sup>[69-70]</sup>。EV 作为纳米级的生物学结构,尽管其结构和功能逐渐被揭示,但其功能的应用目前也只停留在实验室的研究水平,主要原因有如下:第一,没有更好的方法大量获得相关的 EV,当前 EV

的获得主要依靠两种方法,一种是根据其大小和脂溶性的特点,通过差速离心法在实验室获得,其次是通过表面的标志蛋白,如 CD9、CD63 和 CD81 等,他们都是一种四跨膜的蛋白家族,即 Tetraspanin 家族,通过流式或磁珠技术纯化,这两种方法均不适合应用所要求的批量获取。第二,每种 EV 不具有特异性的标志物,前面提到,Tetraspanin 是 EV 的标志蛋白,但其几乎广泛表达,特异性不高。第三,EV 携带不同的转运底物,彼此之间如何区分,这部分也依旧是空白。因此,目前为止,关于 EV-miRNA 在心血管疾病的潜在诊断及治疗作用尚在研究阶段,未来除了进一步探索 EV-miRNA 的作用及机制,同时还要关注 EV 的纯化,以便真正应用于临床。

#### [参考文献]

- [1] 《中国心血管健康与疾病报告 2020》编写组. 《中国心血管健康与疾病报告 2020》要点解读[J]. 中国心血管杂志, 2021, 26(3): 209-218.  
The Writing Committee of the Report on Cardiovascular Health and Diseases in China. Interpretation of report on cardiovascular health and diseases in China 2020 [J]. Chin J Cardiovasc Med, 2021, 26(3): 209-218.
- [2] JOSEPH P, LEONG D, MCKEE M, et al. Reducing the global burden of cardiovascular disease, part 1: the epidemiology and risk factors[J]. Circ Res, 2017, 121(6): 677-694.
- [3] HA M J, KIM V N. Regulation of microRNA biogenesis [J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2014, 15(8): 509-524.
- [4] VIVANCO F, MAS S, DARDE V M, et al. Vascular proteomics[J]. Proteomics Clin Appl, 2007, 1(9): 1102-1122.
- [5] KAMERKAR S, LEBLEU V S, SUGIMOTO H, et al. Exosomes facilitate therapeutic targeting of oncogenic KRAS in pancreatic cancer[J]. Nature, 2017, 546(7659): 498-503.
- [6] HALLAL S, TŪZESI Á, GRAU G E, et al. Understanding the extracellular vesicle surface for clinical molecular biology[J]. J Extracell Vesicles, 2022, 11(10): e12260.
- [7] EMANUELI C, SHEARN A I U, ANGELINI G D, et al. Exosomes and exosomal miRNAs in cardiovascular protection and repair[J]. Vascul Pharmacol, 2015, 71: 24-30.
- [8] ZHAO S M, WANG H Q, XU H Q, et al. Targeting the microRNAs in exosome: a potential therapeutic strategy for alleviation of diabetes-related cardiovascular complication [J]. Pharmacol Res, 2021, 173: 105868.
- [9] MATHIEU M, MARTIN-JAULAR L, LAVIEU G, et al. Specificities of secretion and uptake of exosomes and other extracellular vesicles for cell-to-cell communication [J]. Nat Cell Biol, 2019, 21(1): 9-17.
- [10] ZHOU R H, BOZBAS E, ALLEN-REDPATH K, et al. Circulating extracellular vesicles are strongly associated with cardiovascular risk markers [J]. Front Cardiovasc Med, 2022, 9: 907457.
- [11] YANG J, ZOU X, JOSE P A, et al. Extracellular vesicles: potential impact on cardiovascular diseases[J]. Adv Clin Chem, 2021, 105: 49-100.
- [12] BRETZ N P, RIDINGER J, RUPP A K, et al. Body fluid exosomes promote secretion of inflammatory cytokines in monocytic cells via toll-like receptor signaling[J]. J Biol Chem, 2013, 288(51): 36691-36702.
- [13] ZHANG Y, LIU Y F, LIU H Y, et al. Exosomes: biogenesis, biologic function and clinical potential[J]. Cell Biosci, 2019, 9: 19.
- [14] JELLA K K, NASTI T H, LI Z T, et al. Exosomes, their biogenesis and role in inter-cellular communication, tumor microenvironment and cancer immunotherapy[J]. Vaccines (Basel), 2018, 6(4): 69.
- [15] LÖTVALL J, HILL A F, HOCHBERG F, et al. Minimal experimental requirements for definition of extracellular vesicles and their functions: a position statement from the international society for extracellular vesicles[J]. J Extracell Vesicles, 2014, 3: 26913.
- [16] GARCIA-MARTIN R, WANG G X, BRANDÃO B B, et al. MicroRNA sequence codes for small extracellular vesicle release and cellular retention[J]. Nature, 2022, 601(7893): 446-451.
- [17] STATELLO L, MAUGERI M, GARRE E, et al. Identification of RNA-binding proteins in exosomes capable of interacting with different types of RNA: RBP-facilitated transport of RNAs into exosomes[J]. PLoS One, 2018, 13(4): e0195969.
- [18] GEUENS T, BOUHY D, TIMMERMAN V. The hnRNP family: insights into their role in health and disease[J]. Hum Genet, 2016, 135(8): 851-867.
- [19] VILLARROYA-BELTRI C, GUTIÉRREZ-VÁZQUEZ C, SÁNCHEZ-CABO F, et al. Sumoylated hnRNP A2B1 controls the sorting of miRNAs into exosomes through binding to specific motifs[J]. Nat Commun, 2013, 4: 2980.
- [20] MORIN R D, O'CONNOR M D, GRIFFITH M, et al. Application of massively parallel sequencing to microRNA profiling and discovery in human embryonic stem cells [J]. Genome Res, 2008, 18(4): 610-621.
- [21] BURROUGHS A M, ANDO Y, DE HOON M J L, et al. A comprehensive survey of 3' animal miRNA modification events and a possible role for 3' adenylation in modulating miRNA targeting effectiveness [J]. Genome Res, 2010, 20(10): 1398-1410.
- [22] MARTIN G, KELLER W. RNA-specific ribonucleotidyl



- transferases[J]. *RNA*, 2007, 13(11): 1834-1849.
- [23] KOPPERS-LALIC D, HACKENBERG M, BIJNSDORP I V, et al. Nontemplated nucleotide additions distinguish the small RNA composition in cells from exosomes[J]. *Cell Rep*, 2014, 8(6): 1649-1658.
- [24] 倪宇晴, 刘幼硕. 外泌体 microRNA 在血管老化及其相关性疾病中的作用[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2020, 28(2): 163-168.
- NI Y Q, LIU Y S. The role of exosomal microRNA in vascular aging and related diseases[J]. *Chin J Arterioscler*, 2020, 28(2): 163-168.
- [25] MORRISON E E, BAILEY M A, DEAR J W. Renal extracellular vesicles: from physiology to clinical application[J]. *J Physiol*, 2016, 594(20): 5735-5748.
- [26] NANBO A, KAWANISHI E, YOSHIDA R, et al. Exosomes derived from Epstein-Barr virus-infected cells are internalized via caveola-dependent endocytosis and promote phenotypic modulation in target cells[J]. *J Virol*, 2013, 87(18): 10334-10347.
- [27] GUPTA S, KNOWLTON A A. HSP60 trafficking in adult cardiac myocytes: role of the exosomal pathway[J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2007, 292(6): H3052-H3056.
- [28] SVENSSON K J, CHRISTIANSON H C, WITTRUP A, et al. Exosome uptake depends on ERK1/2-heat shock protein 27 signaling and lipid Raft-mediated endocytosis negatively regulated by caveolin-1[J]. *J Biol Chem*, 2013, 288(24): 17713-17724.
- [29] MOREIRA-COSTA L, BARROS A S, LOURENÇO A P, et al. Exosome-derived mediators as potential biomarkers for cardiovascular diseases: a network approach[J]. *Proteomes*, 2021, 9(1): 8.
- [30] CHANG S N, CHEN J J, WU J H, et al. Association between exosomal miRNAs and coronary artery disease by next-generation sequencing[J]. *Cells*, 2021, 11(1): 98.
- [31] NJOCK M S, CHENG H S, DANG L T, et al. Endothelial cells suppress monocyte activation through secretion of extracellular vesicles containing antiinflammatory microRNAs[J]. *Blood*, 2015, 125(20): 3202-3212.
- [32] PARMAR K M, LARMAN H B, DAI G H, et al. Integration of flow-dependent endothelial phenotypes by Kruppel-like factor 2[J]. *J Clin Invest*, 2006, 116(1): 49-58.
- [33] 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.
- [34] YANG Y, LI Y Y, CHEN X, et al. Exosomal transfer of miR-30a between cardiomyocytes regulates autophagy after hypoxia[J]. *J Mol Med*, 2016, 94(6): 711-724.
- [35] KLIONSKY D J, EMR S D. Autophagy as a regulated pathway of cellular degradation[J]. *Science*, 2000, 290(5497): 1717-1721.
- [36] ZHU H, WU H, LIU X, et al. Regulation of autophagy by a beclin 1-targeted microRNA, miR-30a, in cancer cells[J]. *Autophagy*, 2009, 5(6): 816-823.
- [37] GU J K, CHARLES L E, FEKEDULEGN D, et al. Temporal trends in prevalence of cardiovascular disease (CVD) and CVD risk factors among U. S. older workers: NHIS 2004-2018[J]. *Ann Epidemiol*, 2021, 55: 78-82.
- [38] BERSI M R, BELLINI C, WU J, et al. Excessive adventitial remodeling leads to early aortic maladaptation in angiotensin-induced hypertension[J]. *Hypertension*, 2016, 67(5): 890-896.
- [39] TAN P P S, HALL D, CHILIAN W M, et al. Exosomal microRNAs in the development of essential hypertension and its potential as biomarkers[J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2021, 320(4): H1486-H1497.
- [40] REN X S, 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*, 2020, 9(1): 1698795.
- [41] OH J, MATKOVICH S J, RIEK A E, et al. Macrophage secretion of miR-106b-5p causes renin-dependent hypertension[J]. *Nat Commun*, 2020, 11(1): 4798.
- [42] TCHALLA A E, WELLENIUS G A, TRAVISON T G, et al. Circulating vascular cell adhesion molecule-1 is associated with cerebral blood flow dysregulation, mobility impairment, and falls in older adults[J]. *Hypertension*, 2015, 66(2): 340-346.
- [43] OSADA-OKA M, SHIOTA M, IZUMI Y, et al. Macrophage-derived exosomes induce inflammatory factors in endothelial cells under hypertensive conditions[J]. *Hypertens Res*, 2017, 40(4): 353-360.
- [44] LINDOSO R S, LOPES J A, BINATO R, et al. Adipose mesenchymal cells-derived EVs alleviate DOCA-salt-induced hypertension by promoting cardio-renal protection[J]. *Mol Ther Methods Clin Dev*, 2019, 16: 63-77.
- [45] MURPHY C B, HAN G, COHEN S R. Dermatologic manifestations of diabetes mellitus: a review[J]. *Endocrinol Metab Clin North Am*, 2013, 42(4): 869-898.
- [46] WANG B C, GU K K, DONG D, et al. Analysis of spatial distribution of CVD and multiple environmental factors in urban residents[J]. *Comput Intell Neurosci*, 2022, 2022: 9799054.
- [47] TAN Y, ZHANG Z G, ZHENG C, et al. Mechanisms of diabetic cardiomyopathy and potential therapeutic strategies: preclinical and clinical evidence[J]. *Nat Rev Cardiol*,

- 2020, 17(9): 585-607.
- [48] JIA G H, HILL M A, SOWERS J R. Diabetic cardiomyopathy: an update of mechanisms contributing to this clinical entity[J]. *Circ Res*, 2018, 122(4): 624-638.
- [49] NIE H Z O, PAN Y, ZHOU Y W. Exosomal microRNA-194 causes cardiac injury and mitochondrial dysfunction in obese mice[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 503(4): 3174-3179.
- [50] LI F Q, ZHANG K K, XU T, et al. Exosomal microRNA-29a mediates cardiac dysfunction and mitochondrial inactivity in obesity-related cardiomyopathy[J]. *Endocrine*, 2019, 63(3): 480-488.
- [51] COPIER C U, LEÓN L, FERNÁNDEZ M, et al. Circulating miR-19b and miR-181b are potential biomarkers for diabetic cardiomyopathy[J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 13514.
- [52] WANG X H, HUANG W, LIU G S, 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.
- [53] LI C J, FANG Q H, LIU M L, et al. Current understanding of the role of adipose-derived extracellular vesicles in metabolic homeostasis and diseases: communication from the distance between cells/tissues [J]. *Theranostics*, 2020, 10(16): 7422-7435.
- [54] FANG X, STROUD M J, OUYANG K F, et al. Adipocyte-specific loss of PPAR $\gamma$  attenuates cardiac hypertrophy[J]. *JCI Insight*, 2016, 1(16): e89908.
- [55] DASKALOPOULOS E P, DUFEYS C, BEAULOYE C, et al. AMPK in cardiovascular diseases [J]. *Experientia Suppl*, 2016, 107: 179-201.
- [56] GAN L, XIE D N, LIU J, et al. Small extracellular microvesicles mediated pathological communications between dysfunctional adipocytes and cardiomyocytes as a novel mechanism exacerbating ischemia/reperfusion injury in diabetic mice[J]. *Circulation*, 2020, 141(12): 968-983.
- [57] WANG Y, JIN P, LIU J, et al. Exosomal microRNA-122 mediates obesity-related cardiomyopathy through suppressing mitochondrial ADP-ribosylation factor-like 2[J]. *Clin Sci (Lond)*, 2019, 133(17): 1871-1881.
- [58] KUNDU S, PUSHPAKUMAR S B, TYAGI A, et al. Hydrogen sulfide deficiency and diabetic renal remodeling: role of matrix metalloproteinase-9[J]. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2013, 304(12): E1365-E1378.
- [59] CHATURVEDI P, KALANI A, MEDINA I, et al. Cardiosome mediated regulation of MMP9 in diabetic heart: role of miR29b and miR455 in exercise[J]. *J Cell Mol Med*, 2015, 19(9): 2153-2161.
- [60] BEREZIN A. Epigenetics in heart failure phenotypes[J]. *BBA Clinical*, 2016, 6: 31-37.
- [61] MATSUMOTO S, SAKATA Y, SUNA S, et al. Circulating p53-responsive microRNAs are predictive indicators of heart failure after acute myocardial infarction [J]. *Circ Res*, 2013, 113(3): 322-326.
- [62] GOREN Y, KUSHNIR M, ZAFRIR B, et al. Serum levels of microRNAs in patients with heart failure[J]. *Eur J Heart Fail*, 2012, 14(2): 147-154.
- [63] NIE X, FAN J, LI H, et al. miR-217 promotes cardiac hypertrophy and dysfunction by targeting PTEN[J]. *Mol Ther Nucleic Acids*, 2018, 12: 254-266.
- [64] YANG J, YU X F, XUE F T, et al. Exosomes derived from cardiomyocytes promote cardiac fibrosis via myocyte-fibroblast cross-talk [J]. *Am J Transl Res*, 2018, 10(12): 4350-4366.
- [65] HALKEIN J, TABRUYN S P, 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.
- [66] 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.
- [67] IBRAHIM A G, CHENG K, MARB N E. Exosomes as critical agents of cardiac regeneration triggered by cell therapy[J]. *Stem Cell Reports*, 2014, 2(5): 606-619.
- [68] RIBEIRO R T M, LAUNDOS T L, PEREIRA C R, et al. Exosomes secreted by cardiomyocytes subjected to ischaemia promote cardiac angiogenesis [J]. *Cardiovasc Res*, 2017, 113(11): 1338-1350.
- [69] RAMASUBRAMANIAN L, DU S X, GIDDA S, et al. Bioengineering extracellular vesicles for the treatment of cardiovascular diseases [J]. *Adv Biol (Weinh)*, 2022, 6(10): e2200087.
- [70] GIRÓ O, JIMÉNEZ A, PANÉ A, et al. Extracellular vesicles in atherothrombosis and cardiovascular disease: friends and foes[J]. *Atherosclerosis*, 2021, 330: 61-75.
- (此文编辑 许雪梅)