

本文引用: 王伯霖, 闫小响. 外泌体长链非编码 RNA 在急性心肌梗死中的研究进展[J]. 中国动脉硬化杂志, 2024, 32(1): 1-8. DOI: 10.20039/j.cnki.1007-3949.2024.01.001.

[文章编号] 1007-3949(2024)32-01-0001-08

· 专家论坛 ·

外泌体长链非编码 RNA 在急性心肌梗死中的研究进展

王伯霖, 闫小响

上海交通大学医学院附属瑞金医院心脏内科, 上海市 200025

[专家简介] 闫小响, 医学博士, 研究员, 教授, 博士研究生导师。现任上海交通大学医学院科技发展处副处长, 兼任中华医学会心血管病学分会青年委员、中国病理生理学会心血管医学专业委员会委员等。临床主攻高危复杂冠心病介入治疗、危重心脏病救治。科研聚焦急性心肌梗死临床和基础转化研究, 以通信作者在 *Circulation*、*JCI*、*Circulation Research* 和 *ATVB* 等著名期刊发表论文 30 余篇。获国家自然科学基金优秀青年和杰出青年科学基金项目、重点国际合作项目、重大研究计划(培育)项目、上海市教委曙光计划项目、上海市科委启明星计划(A类)项目等。为上海市优秀学术带头人。



[摘要] 外泌体是细胞间通讯的方式, 而长链非编码 RNA(lncRNA) 作为外泌体内的信息载体, 近年来有多项研究报道其参与了包括急性心肌梗死在内的多种心血管疾病。本文对外泌体 lncRNA 在急性心肌梗死领域中的相关研究进行综述, 总结外泌体 lncRNA 发挥的调节作用, 分析外泌体 lncRNA 作为心肌梗死标志物和治疗策略的研究现状, 并通过公共数据库中的测序信息, 筛选具有潜力的生物标志物。

[关键词] 急性心肌梗死; 外泌体; 长链非编码 RNA

[中图分类号] R5

[文献标识码] A

Research progress of exosomal long non-coding RNA in acute myocardial infarction

WANG Bolin, YAN Xiaoxiang

Department of Cardiovascular Medicine, Ruijin Hospital, School of Medicine, Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200025, China

[ABSTRACT] Exosomes are the means of intercellular communication, and long non-coding RNAs (lncRNA), as the cargo of exosomes, are involved in regulating various physiological and pathological processes of cardiovascular system due to their rich functions. This article reviews the relevant research on extracellular lncRNA in the field of acute myocardial infarction, summarizes the regulatory role of extracellular lncRNA, analyzes the current research status of extracellular lncRNA as a biomarker and treatment strategy for myocardial infarction, and selects potential biomarkers through sequencing information in public databases.

[KEY WORDS] acute myocardial infarction; exosome; long non-coding RNA

急性心肌梗死(acute myocardial infarction, AMI)是全球范围内致死致残的主要原因之一, 成为了严重的公共卫生负担^[1]。长链非编码 RNA(long non-coding RNA, lncRNA)是一种长度大于 200 个核苷酸的非编码 RNA。外泌体是由细胞分泌的天然纳米级细胞囊泡, 其携带的多种 RNA 和蛋白质参与

了细胞间物质和信息传递的过程。近年来, 多项研究报道外泌体中的 lncRNA 在 AMI 的病理过程中发挥了重要作用。本文就外泌体 lncRNA 在 AMI 中的最新研究进展进行综述, 归纳整理外泌体 lncRNA 在 AMI 的发生发展中发挥的病理生理功能, 讨论外泌体 lncRNA 在 AMI 临床诊治中的应用, 并对未来

[收稿日期] 2023-04-24

[修回日期] 2023-07-09

[基金项目] 国家自然科学基金重点国际合作项目(82120108003)

[作者简介] 王伯霖, 博士研究生, 研究方向为心肌梗死后心室重塑研究, E-mail: wangbolin8281@163.com。通信作者闫小响, 博士, 研究员, 教授, 博士研究生导师, 研究方向为急性心肌梗死临床和基础转化研究, E-mail: cardexyanxx@hotmail.com。

外泌体 lncRNA 的研究方向做出展望。

1 lncRNA 的特征和功能

与 mRNA 类似,大多数 lncRNA 由 RNA 聚合酶 II 转录,具有 5' 端帽子结构和 3' 端多聚腺苷酸的尾巴结构,但 lncRNA 缺乏开放阅读框,不具备蛋白质翻译的功能^[2]。根据 lncRNA 与对应基因的位置关系,可以将其分为 6 类:(1) 与蛋白质编码基因重叠的正义 lncRNA;(2) 与蛋白质编码基因相反的反义 lncRNA;(3) 蛋白质编码基因中的内含子 lncRNA;(4) 位于蛋白质编码基因之间的基因间 lncRNA;(5) 蛋白质编码基因增强子来源的增强子 lncRNA;(6) 与编码基因呈双向启动子转录的双向 lncRNA^[3]。

lncRNA 存在于细胞核和细胞质中,并通过顺式及反式作用在不同层面调节基因的表达,主要机制包括:(1) 在表观遗传学方面发挥作用,与染色质调节因子结合,募集染色质修饰复合体,调节染色质的结构,改变 DNA/RNA 的甲基化修饰状态,也可作为染色体之间的支架,调节染色体间和染色体内的相互作用^[4];(2) 可以发挥“分子海绵”的作用,与微小 RNA (microRNA, miRNA) 进行结合,从而拮抗 miRNA 的正常功能,这类与 miRNA 结合的 lncRNA 又被称为竞争性内源性 RNA (competing endogenous RNA, ceRNA)^[2];(3) 影响转录和转录后调控, lncRNA 可以促进转录因子的传递,调控 RNA 转录的定位和稳定性,也可以与 mRNA 结合,调节可变剪切及剪切后的 mRNA 转运和定位^[5]。

2 外泌体的产生与作用机制

外泌体是直径为 50 ~ 150 nm,具有双层脂质膜结构的生物囊泡,广泛分布于体液中,几乎全部的细胞均可产生外泌体^[6]。外泌体起源于内体系统,内体膜内陷形成腔内囊泡,腔内囊泡进一步成熟形成多囊体,多囊体与质膜融合后外泌体向胞外释放^[7]。外泌体内包含蛋白质、脂质和多种核酸,例如 mRNA、miRNA、tRNA、lncRNA 等,不同来源的外泌体内含物具有明显差异。

内吞作用及膜融合内化是靶细胞摄取外泌体的主要方式。除内吞外,外泌体还可以通过配体和受体的相互作用直接向靶细胞传递信号,这样的外泌体囊泡会停留在靶细胞表面,不会被摄取^[8]。外泌体主要的生物学功能在于向靶细胞传递蛋白质

及核酸等内含物,参与了多种生理和病理调节过程,例如肿瘤的增殖和免疫逃逸、抵抗感染、调节脂质代谢等^[9]。在 AMI 的相关研究中,外泌体也被多次报道与炎症反应、血管再生、瘢痕修复等过程相关^[10]。

3 外泌体 lncRNA 的分选

不同外泌体具有特定的蛋白质和 RNA 库存,表明存在控制分子分类的机制。lncRNA 被分选进入外泌体的机制目前尚不明确,目前已有的研究表明,包括核不均一核糖核蛋白(heterogeneous nuclear ribonucleoprotein, hnRNP)家族在内的 RNA 结合蛋白以及人抗原 R 参与了 lncRNA 进入外泌体的分选过程^[11]。有研究表明 hnRNPA2B1 介导 lncRNA 包装进入外泌体,导致肺癌吉非替尼耐药的发生^[12];在结直肠癌的研究中发现 hnRNPK 与 lncRNA 91H 之间存在物理相互作用,提示 hnRNPK 与外泌体 lncRNA 91H 的转移有关^[13]。目前已有研究发现 lncRNA NEAT1 在 AMI 患者血清外泌体中含量升高^[14],但仍缺乏 AMI 中外泌体 lncRNA 差异分选的具体机制研究。

4 外泌体 lncRNA 在 AMI 病理过程中的作用

4.1 细胞凋亡

在心肌梗死的急性期,由于中心区域的严重缺血/缺氧,大量心肌细胞发生坏死,而在梗死边缘带以及心肌梗死的亚急性期和慢性期,则存在大量发生凋亡的心肌细胞^[15]。目前已有多种外泌体 lncRNA 被证明在细胞凋亡的过程中发挥重要作用。

Sun 等^[16]进行了细胞和动物实验,发现缺氧诱导的人骨髓来源的间充质干细胞(mesenchymal stem cell, MSC)分泌的外泌体可以在体外或体内对心肌损伤发挥保护作用。而外泌体中的 lncRNA UCA1 是心脏保护的关键成分,其可以海绵化 miR-873,调控 X 连锁凋亡抑制蛋白(X-linked inhibitor of apoptosis protein, XIAP),减弱 miR-873 对于 XIAP 的抑制作用,从而增强心肌细胞中 AMP 活化蛋白激酶(AMP-activated protein kinase, AMPK)的磷酸化,并提高抗凋亡蛋白 Bcl-2 的水平。Chen 等^[17]发现巨噬细胞迁移抑制因子(macrophage migration inhibitory factor, MIF)诱导的人脂肪来源的 MSC 分泌的外泌体 lncRNA NEAT1 可抑制 H₂O₂ 诱导的心肌细胞凋亡。lncRNA NEAT1 通过发挥竞争性内源性 RNA 的作

用,降低 H_2O_2 处理的心肌细胞内 miR-142-3p 的水平,从而激活转录因子叉头框蛋白 O1 (forkhead box protein O1, FOXO1),显著减少由 H_2O_2 诱导的活性氧生成和脂质过氧化。lncRNA MIAT 水平在 AMI 患者外周血中显著升高,敲除 lncRNA MIAT 可以降低促凋亡蛋白 Bax 水平并增加 Bcl-2 的表达,提示 lncRNA MIAT 对于心肌细胞的凋亡具有保护作用^[18]。

4.2 细胞焦亡

细胞焦亡作为一种不同于凋亡的程序性死亡方式,其特征是由炎症因子 Caspase-1/4/5/11 所介导,伴随着多种炎症小体的产生以及白细胞介素 (interleukin, IL) 1 β 、IL-18 等促炎因子的激活^[19]。心肌梗死后产生的细胞碎片和代谢物可以激活炎症小体,导致细胞焦亡的发生,而抑制细胞凋亡被报道可以减少梗死面积,改善心肌梗死之后的心脏功能^[20]。Mao 等^[21]分离鉴定 MSC 来源的外泌体,发现相较于不含 lncRNA KLF3-AS1 的 MSC 来源外泌体,过表达 lncRNA KLF3-AS1 的 MSC 外泌体可以显著减少缺氧心肌细胞的细胞焦亡,并在大鼠 AMI 模型中减少心肌梗死面积,降低促炎因子 IL-1 β 和 IL-18 的表达,延缓心肌梗死进展,而使用外泌体功能抑制剂 GW4869 则可以逆转 lncRNA KLF3-AS1 对心肌焦亡的抑制作用。lncRNA KLF3-AS1 作用的心肌细胞中 miR-138-5p 水平显著下调,提示其可以作为分子海绵吸附 miR-138-5p,而 miR-138-5p 水平下降会上调 Sirt1 的表达,后者作为抗炎转录因子通过核因子 κ B (nuclear factor- κ B, NF- κ B) 等信号通路起到抑制细胞焦亡的作用^[22]。

4.3 缺血再灌注损伤

缺血再灌注 (ischemia/reperfusion, I/R) 损伤发生于部分接受再灌注治疗的 AMI 患者,表现为心肌顿抑、无复流现象、心律失常等并发症。内皮细胞缺氧/复氧 (hypoxia/reoxygenation, H/R) 是 I/R 损伤的主要机制,可引发氧化应激,导致超氧化物释放增加和一氧化氮生成减少,从而导致内皮功能障碍^[23]。人脐带 MSC 来源的外泌体 (human umbilical cord mesenchymal stem cell-secreted exosome, hUCMSC-ex) 被发现对 H/R 内皮细胞损伤和 I/R 大鼠模型都具有保护作用。Diao 等^[24]分析了 hUCMSC-ex 作用前后的内皮细胞转录组学,发现 hUCMSC-ex 对内皮细胞的保护作用呈 lncRNA UCA1 浓度依赖性,随后的 RNA 下拉实验证明 lncRNA UCA1 与 miR-143 存在相互作用,提示 hUCMSC-ex 中 lncRNA UCA1 具有 ceRNA 的作用,可以竞争性结合 miR-143,降低

miR-143 对 Bcl-2 的靶向降解,高水平的 Bcl-2 可以拮抗 Bax 和 Beclin-1 的作用,从而抑制细胞凋亡和自噬^[25]。

4.4 心肌纤维化

心肌纤维化往往继发于 AMI 所导致的坏死和炎症之后,心脏成纤维细胞 (cardiac fibroblast, CF) 产生并维持细胞外基质 (extracellular matrix, ECM) 的稳定,导致病理性心室重塑^[26]。目前关于外泌体 lncRNA 在心肌纤维化中的作用的报告极少,仅 Wang 等^[27]发现低氧环境下心肌细胞来源的外泌体中 lncRNA AK139128 可以促进 CF 凋亡,并抑制其增殖、迁移和侵袭。因此,外泌体 lncRNA 与心肌纤维化的相关研究仍需进一步深入。

4.5 血管再生

心肌梗死后的血运重建对于恢复心肌细胞的活力至关重要,血管生成相关的外泌体 lncRNA 在其中的作用不可忽视。外泌体 lncRNA H19 被发现具有促进血管生成的作用, Huang 等^[28]报道 lncRNA H19 可以调节 miR-675 并激活细胞间黏附分子 1 (intercellular adhesion molecule-1, ICAM-1) 和血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF),促进内皮细胞增殖。Dang 等^[29]比较大鼠 AMI 模型和远程缺血预适应后的大鼠 AMI 模型,发现 AMI 组外泌体 lncRNA TUG1 水平显著升高,减弱了缺氧诱导因子 1 α (hypoxia inducible factor-1 α , HIF-1 α)、VEGF-A 表达和内皮细胞的功能,抑制血管形成。在高压氧诱导的心肌细胞来源的外泌体中, lncRNA MALAT1 可以抑制 miR-92a 的表达,并抵消 miR-92a 对于 AMI 后左室心肌 Krüppel 样因子 2 (Krüppel-like factor 2, KLF2) 和 CD31 表达的抑制作用,从而促进新生血管形成^[30]。人多能干细胞来源的心血管祖细胞在缺氧诱导下同样可以分泌含高水平 lncRNA MALAT1 的细胞外囊泡,通过靶向抑制 miR-497 显著改善 AMI 小鼠心肌细胞的存活状态和血管生成^[31]。然而 Chen 等^[32]发现 M1 型骨髓来源的巨噬细胞分泌的细胞外囊泡中 lncRNA MALAT1 可以竞争性结合 miR-25 以促进 CDC42 表达,进而激活 MEK/ERK 途径,从而抑制小鼠 AMI 后的血管生成和心肌再生,提示对于 lncRNA MALAT1 的研究仍需进一步深入。

综上所述,外泌体 lncRNA 参与了 AMI 包括细胞凋亡、细胞焦亡、I/R 损伤、心肌纤维化以及血管生成在内的多个病理过程,对于疾病的发生发展产生了重要作用。本文综合整理了目前发表的与 AMI 研究相关的外泌体 lncRNA,简要介绍其分泌的来

源、作用的靶细胞以及具体的作用机制(表1)。

表 1. 外泌体 lncRNA 参与心肌梗死的病理生理过程

Table 1. Functions of exosome lncRNAs in pathophysiological processes of myocardial infarction

lncRNA	来源	靶细胞	作用机制	参考文献
UCA1	缺氧诱导人骨髓来源 MSC	心肌细胞	通过 miR-873-5p/XIAP 轴抑制细胞凋亡	[16]
	人脐带 MSC	血管内皮细胞	靶向 miR-143/Bcl-2/Beclin-1 轴减轻 I/R 损伤	[24]
NEAT1	人脂肪来源 MSC	心肌细胞	靶向 miR-142-3p/FOXO1 轴抑制细胞凋亡	[17]
KLF3-AS1	人 MSC	心肌细胞	通过 miR-138-5p/SIRT1 轴介导缺氧心肌细胞保护	[21]
HCG15	缺氧诱导 AC16 心肌细胞	心肌细胞	激活 NF- κ B/p38 和 p15 途径促进心肌细胞凋亡和炎症因子释放	[33]
AK139128	大鼠缺氧诱导心肌细胞	成纤维细胞	促进成纤维细胞凋亡,并抑制其增殖、迁移和侵袭	[27]
ENSRNOT00000039868	大鼠多形核细胞	心肌细胞	上调 PDGFD 表达减轻 H/R 损伤	[34]
H19	阿托伐他汀预处理的大鼠 MSC	血管内皮细胞	靶向 miR-675/VEGF/ICAM-1 轴促进血管生成	[28]
	小鼠 M1 型骨髓来源的巨噬细胞	心肌细胞和血管内皮细胞	通过 miR-25/CDC42/MEK/ERK 途径抑制血管生成和心脏再生	[32]
MALAT1	高压氧诱导大鼠心肌细胞	血管内皮细胞	靶向 miR-92a/KLF2/CD31 轴促进血管生成	[30]
LINC00174	人多能干细胞来源的心血管祖细胞	心肌细胞和血管内皮细胞	通过靶向抑制 miR-497 抑制心肌细胞死亡并促进血管生成	[31]
	小鼠主动脉内皮细胞	心肌细胞	与 SRSF1 结合通过 p53/Akt/AMPK 通路抑制细胞凋亡和自噬	[35]
TUG1	MI 大鼠骨骼肌	血管内皮细胞	靶向下调 HIF-1 α /VEGF 通路抑制血管生成	[29]

5 外泌体 lncRNA 作为 AMI 的新型标志物

目前临床用于确诊 AMI 的血清学标志物主要包括肌钙蛋白 I(cardiac troponin I, cTnI)、肌钙蛋白 T(cardiac troponin T, cTnT)、肌酸激酶同工酶 MB(creatinine kinase-MB, CK-MB)等,但这些标志物在起病后 3~4 h 才升高明显,可能错过 AMI 治疗的最佳时机,而一些非心肌梗死的疾病如心肌挫伤、药物损伤也可能使 cTnT 等标志物升高,因此需要新型生物标志物用于 AMI 的早期诊断。

外泌体 lncRNA 在心血管病患者血中发生显著改变,并且可以通过 qRT-PCR 等方式快捷鉴定,因此被认为是心肌梗死的潜在标志物。Chen 等^[14]提取了 ST 段抬高型心肌梗死(ST-segment elevation myocardial infarction, STEMI)患者($n=47$)、不稳定型心绞痛患者($n=24$)和无冠状动脉狭窄患者($n=27$)的血清外泌体,通过 qRT-PCR 检测发现 STEMI 组 lncRNA NEAT1 表达显著上升,受试者特征曲线分析显示曲线下面积(area under curve, AUC)为

0.822,灵敏度和特异度分别是 63.8% 和 88.2%,但不稳定型心绞痛组与无冠状动脉狭窄组则无显著差异,提示 lncRNA NEAT1 具有辅助诊断 STEMI 的潜力。Sun 等^[16]比较了 26 名发病 12 h 内的 AMI 患者及 26 名健康志愿者的血清样本,发现 AMI 患者血清 lncRNA UCA1 水平显著上升(AUC=0.82),提示 lncRNA UCA1 也可能成为新型诊断标志物。Zheng 等^[10]通过对 AMI 患者($n=120$)和健康志愿者($n=83$)血浆外泌体的 lncRNA 测序,鉴定出两个显著上调的 lncRNA,分别是 ENST00000556899.1(AUC=0.661)和 ENST00000575985.1(AUC=0.751)。此外循环 lncRNA MIAT、lncRNA HOTAIR 等 lncRNA 也被报道作为 AMI 的早期诊断标志物^[18,36]。

lncRNA 在评估 AMI 患者预后的方面同样具有潜在价值。lncRNA NRF 被报道与 AMI 后心衰的发病风险相关。Yan 等^[37]比较了 AMI 后发生心衰的患者($n=76$)和无心衰的患者($n=58$)的外周血 lncRNA NRF,发现相比较于氨基末端脑钠肽前体[(N-terminal pro-brain natriuretic peptide, NT-proB-

NP), AUC = 0.720], lncRNA NRF 的升高也可以作为 AMI 后心衰的预测标志物 (AUC = 0.975)。此外,外周血 lncRNA KCNQ1OT1、PVT1 等也被报道具有心衰标志物的潜力,但目前缺乏在 AMI 患者中的相关研究^[38-39]。

本文获取了 GEO 数据库中 GSE194388 和 GSE159657 的心肌梗死患者血浆外泌体 RNA 表达矩阵^[40-41],在数据过滤和标准化后利用 R-4.2.3 的 DESeq2 程序包进行了差异分析,发现了 60 个具有潜在生物标志意义的 lncRNA (图 1)。

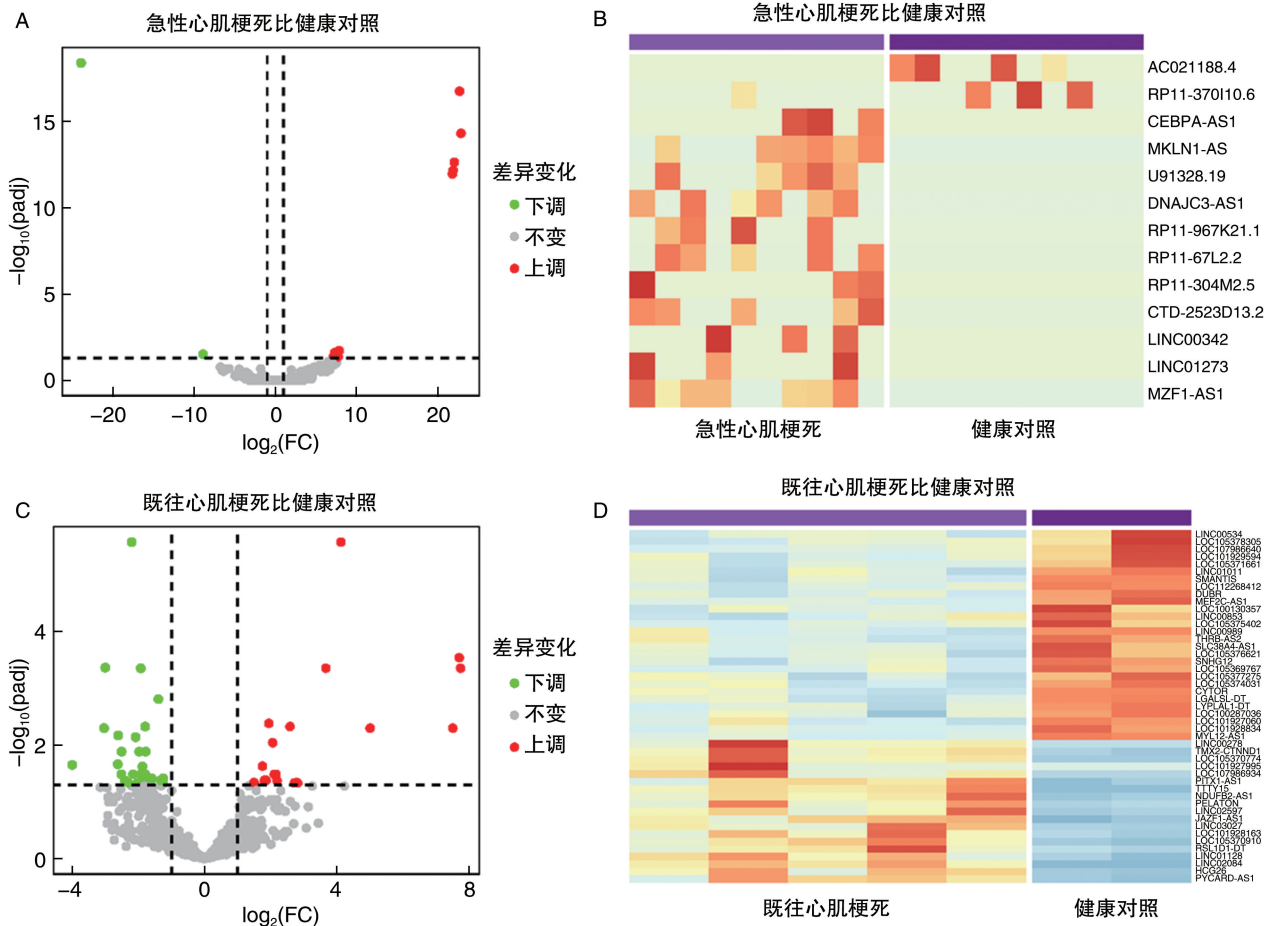


图 1. 血浆外泌体 lncRNA 测序的差异分析

A、B 为急性心肌梗死患者相较于健康对照差异 lncRNA 分析的火山图与热图, C、D 为既往心肌梗死患者相较于健康对照差异 lncRNA 分析的火山图与热图。差异 lncRNA 的筛选阈值被设定为校正后 $P < 0.05$, 且 $\log_2 FC > 1$ 。

Figure 1. Differential expression analysis of plasma exosome lncRNA sequencing

外泌体 lncRNA 作为新型生物标志物,在心肌梗死的早期诊断和预后评估方面均有不可忽视的潜力。但由于不同细胞分泌的外泌体具有显著异质性,不同细胞来源的外泌体混杂会减弱 RNA 标志物的差异性,如何从血清中准确分离特定外泌体成为了准确检测 RNA 标志物的难题。近年来已有多项关于外泌体 miRNA 作为标志物的临床研究,鉴定出 miR-1、miR-133a 作为早期标志物^[42], miR-192、miR-194、miR-34a 作为心衰和心室重塑的标志物^[43]。而外泌体 lncRNA 的相关研究起步较晚,仍

需进一步深入研究,多中心大样本的临床试验亟待开展。

6 外泌体 lncRNA 作为 AMI 的治疗新方式

相比较于病毒或脂质体等传统的递送 lncRNA 方式,外泌体具有其独特优势。首先包装在外泌体中的 RNA 可以有效避免被外周血中的 RNA 酶降解,拓宽了 RNA 的作用范围;其次,外泌体可以靶向特定的细胞或组织,减少不良反应,使药物递送更

为精准;最后,外泌体作为内在的生物载体,能最大程度地减少免疫反应^[44]。例如,在梗死区心肌注射装载外源 miR-21 的外泌体,可以有效抑制细胞凋亡,改善小鼠心功能^[45]。阿托伐他汀被报道可以增加 MSC 来源的外泌体中 lncRNA H19 的水平,经阿托伐他汀预处理后的 MSC 收获的外泌体表现出更强的抑制凋亡和促进血管生成的作用^[28],提示外源输入和内源诱导可能成为外泌体治疗的思路。

目前用于临床治疗的工程外泌体发展迅速,一种策略是通过基因编辑等方式令特定细胞产生内源性外泌体,另一种策略是分离纯化外泌体后再通过电穿孔、超声、反复冻融等方法导入外源药物。Mentkowski 等^[46]发现心肌球来源的细胞分泌的外泌体表达 Lamp2b,与心肌细胞特异性肽结合,显著增加了心肌细胞对外泌体的摄取。Tao 等^[47]构建了包含 lncRNA H19 的人工纳米囊泡,有效促进了糖尿病患者的伤口愈合。虽然已有学者尝试使用外泌体治疗心血管疾病,但基于 lncRNA 的人工外泌体治疗仍缺乏相关研究。随着 lncRNA 在心血管领域的作用逐渐深入,结合 lncRNA 和外泌体靶向运输的治疗策略将成为未来精准治疗的潜在方案。

7 外泌体 lncRNA 研究的挑战

外泌体 lncRNA 是近年来的研究热点,目前心血管病领域的外泌体 lncRNA 相关研究,主要是通过膜亲和法、超滤法、共沉淀法等方式获得外泌体,并依靠电镜、流式细胞术、蛋白质印迹等方式检测外泌体的形态和表面标志,以 RNA 测序、qRT-PCR 等方法来检测并鉴定 lncRNA^[21,27,30,33]。但现有的研究方式仍存在不足。

首先,外泌体的分离提取方法仍不完善,商用试剂盒所采用的超滤法或者沉淀法获得的外泌体可能存在收集率低或纯度差的问题。基于微流体开发的外泌体分离技术目前也处于飞速发展阶段,也可能是未来商业试剂盒的开发方向。

其次,由于外泌体的异质性十分显著,不同细胞类型或者相同细胞在不同状态所分泌的外泌体的膜外蛋白及膜内容物都有不同,如何精准地进行鉴定是目前面临的难题。有学者采用了微芯片技术分析单个口腔鳞癌细胞的外泌体分泌情况^[48],还有学者运用纳米流式细胞术分析单个细胞外囊泡的表面特征^[49]。Luo 等^[50]应用 10 倍基因组平台对人 MSC 进行了单个细胞外囊泡转录组分析,鉴定出 12 个囊泡聚类。目前心血管领域的单外泌体测序

仍处于空白状态,如何对外泌体进行降维分析,鉴定循环外泌体的来源和去向,明确外泌体的转录组特征是未来的研究方向。

最后,除了外泌体 lncRNA 之外,细胞自身表达的 lncRNA 也在 AMI 的病理过程中发挥了重要作用。细胞摄取的外源性 lncRNA 和受到外泌体刺激后表达的内源性 lncRNA 无法做出明确区分,影响了相关实验的可信度。目前的研究往往只针对外泌体中的某种特定 lncRNA,但由于外泌体中所含的核酸种类丰富,lncRNA、miRNA、mRNA 等多种 RNA 常常发生相互作用,如何准确描述成了需要解决的问题。此外,由于 lncRNA 的生物保守度低,动物模型的实验结论可能无法应用于人类患者,降低了科研成果转化率。

8 总结与展望

AMI 是人类健康的一大威胁,是世界性的医学难题。越来越多的证据表明,既往未受重视的外泌体 lncRNA 在 AMI 的发生发展中起到了不可忽视的作用。本文对外泌体 lncRNA 在 AMI 中的相关研究进行综述,回顾整理了目前报道的对 AMI 发挥作用的 lncRNA,分析了外泌体 lncRNA 作为心肌梗死标志物和治疗策略的研究现状。外泌体 lncRNA 目前的研究仍处于快速发展阶段,虽然目前对其认识尚不充分,但未来外泌体 lncRNA 有望成为心肌梗死临床诊疗的有力工具。

[参考文献]

- [1] ROTH G A, MENSAH G A, JOHNSON C O, et al. Global burden of cardiovascular diseases and risk factors, 1990-2019: update from the GBD 2019 study [J]. J Am Coll Cardiol, 2020, 76(25): 2982-3021.
- [2] STATELLO L, GUO C J, CHEN L L, et al. Gene regulation by long non-coding RNAs and its biological functions [J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2021, 22(2): 96-118.
- [3] ZHU L, LI N, SUN L, et al. Non-coding RNAs: the key detectors and regulators in cardiovascular disease [J]. Genomics, 2021, 113(1 Pt 2): 1233-1246.
- [4] YAO R W, WANG Y, CHEN L L. Cellular functions of long noncoding RNAs [J]. Nat Cell Biol, 2019, 21(5): 542-551.
- [5] KOPP F, MENDELL J T. Functional classification and experimental dissection of long noncoding RNAs [J]. Cell, 2018, 172(3): 393-407.
- [6] ABELS E R, BREAKEFIELD X O. Introduction to extracellu-

- lar vesicles: biogenesis, RNA cargo selection, content, release, and uptake[J]. *Cell Mol Neurobiol*, 2016, 36(3): 301-312.
- [7] SUNG B H, VON LERSNER A, GUERRERO J, et al. A live cell reporter of exosome secretion and uptake reveals pathfinding behavior of migrating cells[J]. *Nat Commun*, 2020, 11(1): 2092.
- [8] PENG H, JI W, ZHAO R, et al. Exosome: a significant nano-scale drug delivery carrier[J]. *J Mater Chem B*, 2020, 8(34): 7591-7608.
- [9] KALLURI R, LEBLEU V S. The biology, function, and biomedical applications of exosomes[J]. *Science*, 2020, 367(6478): eaau6977.
- [10] ZHENG M L, LIU X Y, HAN R J, et al. Circulating exosomal long non-coding RNAs in patients with acute myocardial infarction[J]. *J Cell Mol Med*, 2020, 24(16): 9388-9396.
- [11] YUAN Z, HUANG W. New developments in exosomal lncRNAs in cardiovascular diseases[J]. *Front Cardiovasc Med*, 2021, 8: 709169.
- [12] LEI Y, GUO W, CHEN B, et al. Tumor-released lncRNA H19 promotes gefitinib resistance via packaging into exosomes in non-small cell lung cancer[J]. *Oncol Rep*, 2018, 40(6): 3438-3446.
- [13] GAO T, LIU X, HE B, et al. Exosomal lncRNA 91H is associated with poor development in colorectal cancer by modifying HNRNPK expression[J]. *Cancer Cell Int*, 2018, 18: 11.
- [14] CHEN Z, YAN Y, WU J, et al. Expression level and diagnostic value of exosomal NEAT1/miR-204/MMP-9 in acute ST-segment elevation myocardial infarction[J]. *IUB-MB Life*, 2020, 72(11): 2499-2507.
- [15] FRANGOIANNIS N G. Pathophysiology of myocardial infarction[J]. *Compr Physiol*, 2015, 5(4): 1841-1875.
- [16] SUN L, ZHU W, ZHAO P, et al. Long noncoding RNA UCA1 from hypoxia-conditioned hMSC-derived exosomes: a novel molecular target for cardioprotection through miR-873-5p/XIAP axis[J]. *Cell Death Dis*, 2020, 11(8): 696.
- [17] CHEN H, XIA W, HOU M. LncRNA-NEAT1 from the competing endogenous RNA network promotes cardioprotective efficacy of mesenchymal stem cell-derived exosomes induced by macrophage migration inhibitory factor via the miR-142-3p/FOXO1 signaling pathway[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2020, 11(1): 31.
- [18] AZAT M, HUOJIAHEMAITI X, GAO R, et al. Long noncoding RNA MIAT: a potential role in the diagnosis and mediation of acute myocardial infarction[J]. *Mol Med Rep*, 2019, 20(6): 5216-5222.
- [19] JORGENSEN I, MIAO E A. Pyroptotic cell death defends against intracellular pathogens[J]. *Immunol Rev*, 2015, 265(1): 130-142.
- [20] 翁秀朱, 贾海波. 细胞焦亡在心血管疾病中作用的研究进展[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2021, 29(9): 807-813.
- WENG X Z, JIA H B. Research progress of the role of pyroptosis in cardiovascular disease[J]. *Chin J Arterioscler*, 2021, 29(9): 807-813.
- [21] MAO Q, LIANG X L, ZHANG C L, et al. LncRNA KLF3-AS1 in human mesenchymal stem cell-derived exosomes ameliorates pyroptosis of cardiomyocytes and myocardial infarction through miR-138-5p/Sirt1 axis[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2019, 10(1): 393.
- [22] ZHENG Z, BIAN Y, ZHANG Y, et al. Metformin activates AMPK/SIRT1/NF-kappaB pathway and induces mitochondrial dysfunction to drive caspase3/GSDME-mediated cancer cell pyroptosis[J]. *Cell Cycle*, 2020, 19(10): 1089-1104.
- [23] DE PASCALI F, HEMANN C, SAMONS K, et al. Hypoxia and reoxygenation induce endothelial nitric oxide synthase uncoupling in endothelial cells through tetrahydrobiopterin depletion and S-glutathionylation[J]. *Biochemistry*, 2014, 53(22): 3679-3688.
- [24] DIAO L, ZHANG Q. Transfer of lncRNA UCA1 by hUC-MSCs-derived exosomes protects against hypoxia/reoxygenation injury through impairing miR-143-targeted degradation of Bcl-2[J]. *Aging (Albany NY)*, 2021, 13(4): 5967-5985.
- [25] HUANG Z, YE B, DAI Z, et al. Curcumin inhibits autophagy and apoptosis in hypoxia/reoxygenation-induced myocytes[J]. *Mol Med Rep*, 2015, 11(6): 4678-4684.
- [26] MARUYAMA K, IMANAKA-YOSHIDA K. The pathogenesis of cardiac fibrosis: a review of recent progress[J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(5): 2617.
- [27] WANG L, ZHANG J. Exosomal lncRNA AK139128 derived from hypoxic cardiomyocytes promotes apoptosis and inhibits cell proliferation in cardiac fibroblasts[J]. *Int J Nanomedicine*, 2020, 15: 3363-3376.
- [28] HUANG P, WANG L, LI Q, et al. Atorvastatin enhances the therapeutic efficacy of mesenchymal stem cells-derived exosomes in acute myocardial infarction via up-regulating long non-coding RNA H19[J]. *Cardiovasc Res*, 2020, 116(2): 353-367.
- [29] DANG Y, HUA W, ZHANG X, et al. Anti-angiogenic effect of exo-lncRNA TUG1 in myocardial infarction and modulation by remote ischemic conditioning[J]. *Basic Res Cardiol*, 2023, 118(1): 1.
- [30] SHYU K G, WANG B W, FANG W J, et al. Hyperbaric

- oxygen-induced long non-coding RNA MALAT1 exosomes suppress microRNA-92a expression in a rat model of acute myocardial infarction [J]. *J Cell Mol Med*, 2020, 24 (22): 12945-12954.
- [31] WU Q, WANG J, TAN W L W, et al. Extracellular vesicles from human embryonic stem cell-derived cardiovascular progenitor cells promote cardiac infarct healing through reducing cardiomyocyte death and promoting angiogenesis [J]. *Cell Death Dis*, 2020, 11(5): 354.
- [32] CHEN B, LUO L, WEI X, et al. M1 bone marrow-derived macrophage-derived extracellular vesicles inhibit angiogenesis and myocardial regeneration following myocardial infarction via the MALAT1/microRNA-25-3p/CDC42 axis[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2021, 2021: 9959746.
- [33] LIN B, CHEN X, LU C, et al. Loss of exosomal lncRNA HCG15 prevents acute myocardial ischemic injury through the NF-kappaB/p65 and p38 pathways[J]. *Cell Death Dis*, 2021, 12(11): 1007.
- [34] ZHAI T Y, CUI B H, ZHOU Y, et al. Exosomes released from CaSR-stimulated PMNs reduce ischaemia/reperfusion injury[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2021, 2021: 3010548.
- [35] SU Q, LV X W, XU Y L, et al. Exosomal LINC00174 derived from vascular endothelial cells attenuates myocardial I/R injury via p53-mediated autophagy and apoptosis[J]. *Mol Ther Nucleic Acids*, 2021, 23: 1304-1322.
- [36] GAO L, LIU Y, GUO S, et al. Circulating long noncoding RNA HOTAIR is an essential mediator of acute myocardial infarction [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2017, 44 (4): 1497-1508.
- [37] YAN L, ZHANG Y, ZHANG W, et al. lncRNA-NRF is a potential biomarker of heart failure after acute myocardial infarction[J]. *J Cardiovasc Transl Res*, 2020, 13(6): 1008-1015.
- [38] LAI L, XU Y, KANG L, et al. LncRNA KCNQ1OT1 contributes to cardiomyocyte apoptosis by targeting FUS in heart failure[J]. *Exp Mol Pathol*, 2020, 115: 104480.
- [39] SUN B, MENG M, WEI J, et al. Long noncoding RNA PVT1 contributes to vascular endothelial cell proliferation via inhibition of miR-190a-5p in diagnostic biomarker evaluation of chronic heart failure [J]. *Exp Ther Med*, 2020, 19(5): 3348-3354.
- [40] HE G D, HUANG Y Q, LIU L, et al. Association of circulating, inflammatory-response exosomal mRNAs with acute myocardial infarction [J]. *Front Cardiovasc Med*, 2021, 8: 712061.
- [41] YU L, LIANG Y, ZHANG M, et al. Extracellular vesicle-derived circCEBPZOS attenuates postmyocardial infarction remodeling by promoting angiogenesis via the miR-1178-3p/PDPK1 axis[J]. *Commun Biol*, 2023, 6(1): 133.
- [42] KUWABARA Y, ONO K, HORIE T, et al. Increased microRNA-1 and microRNA-133a levels in serum of patients with cardiovascular disease indicate myocardial damage [J]. *Circ Cardiovasc Genet*, 2011, 4(4): 446-454.
- [43] 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.
- [44] EMAMI MEYBODI S M, SOLEIMANI N, YARI A, et al. Circulatory long noncoding RNAs (circulatory-LNC-RNAs) as novel biomarkers and therapeutic targets in cardiovascular diseases: implications for cardiovascular diseases complications[J]. *Int J Biol Macromol*, 2023, 225: 1049-1071.
- [45] SONG Y, ZHANG C, ZHANG J, et al. Localized injection of miRNA-21-enriched extracellular vesicles effectively restores cardiac function after myocardial infarction [J]. *Theranostics*, 2019, 9(8): 2346-2360.
- [46] MENTKOWSKI K I, LANG J K. Exosomes engineered to express a cardiomyocyte binding peptide demonstrate improved cardiac retention *in vivo* [J]. *Sci Rep*, 2019, 9 (1): 10041.
- [47] TAO S C, RUI B Y, WANG Q Y, et al. Extracellular vesicle-mimetic nanovesicles transport lncRNA-H19 as competing endogenous RNA for the treatment of diabetic wounds[J]. *Drug Deliv*, 2018, 25(1): 241-255.
- [48] JI Y, QI D, LI L, et al. Multiplexed profiling of single-cell extracellular vesicles secretion [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2019, 116(13): 5979-5984.
- [49] TIAN Y, GONG M, HU Y, et al. Quality and efficiency assessment of six extracellular vesicle isolation methods by nano-flow cytometry [J]. *J Extracell Vesicles*, 2020, 9 (1): 1697028.
- [50] LUO T, CHEN S Y, QIU Z X, et al. Transcriptomic features in a single extracellular vesicle via single-cell RNA sequencing[J]. *Small Methods*, 2022, 6(11): e2200881.
- (此文编辑 文玉珊)