

间充质干细胞来源的外泌体在心肌梗死治疗中的研究进展

俞佳丽^{1,2} 景雨^{1,2} 张剑¹ 陈楚¹ 陆齐¹ 顾周山¹ 陈子微¹ 周大胜^{1,2} 景宏美¹ 潘丽华¹

(1. 南通大学附属医院心血管内科, 江苏南通 226001; 2. 南通大学医学院, 江苏南通 226001)

【摘要】 心肌梗死的高发病率和死亡率严重危害了人类健康。近年来, 间充质干细胞被广泛用于心肌梗死和缺血性心力衰竭的治疗中。研究表明, 间充质干细胞移植更多依赖旁分泌作用改善心脏功能, 而外泌体被认为是重要的旁分泌介质。现综述近年来间充质干细胞来源的外泌体在心肌梗死治疗中相关作用机制的研究进展和应用前景。

【关键词】 间充质干细胞; 外泌体; 心肌梗死

【DOI】 10. 16806/j. cnki. issn. 1004-3934. 2022. 04. 013

Exosomes Derived from Mesenchymal Stem Cell in Treatment of Myocardial Infarction

YU Jiali^{1,2}, JING Yu^{1,2}, ZHANG Jian¹, CHEN Chu¹, LU Qi¹, GU Zhoushan¹, CHEN Ziwei¹, ZHOU Dasheng^{1,2}, JING Hongmei¹, PAN Lihua¹

(1. Department of Cardiology, Affiliated Hospital of Nantong University, Nantong 226001, Jiangsu, China; 2. Medical College of Nantong University, Nantong 226001, Jiangsu, China)

【Abstract】 The high incidence and mortality of myocardial infarction seriously endanger human health. In recent years, mesenchymal stem cell have been widely used in the treatment of myocardial infarction and ischemic heart failure. Studies have shown that mesenchymal stem cell transplantation relies more on paracrine effects to improve heart function, and exosomes are considered to be important paracrine mediators. This article summarizes the recent research progress and application prospects of exosomes derived from mesenchymal stem cell in the treatment of myocardial infarction.

【Key words】 Mesenchymal stem cell; Exosomes; Myocardial infarction

心肌梗死是一种严重的冠状动脉相关性疾病, 是常见的心血管疾病和主要死亡原因, 对全球人类健康造成了严重的负担^[1], 尽管心肌梗死的预防和联合治疗策略(药物治疗、介入治疗和移植手术等)有效地改善了心肌缺血的症状和疾病的进展, 但心肌梗死的发病率和死亡率仍居高不下。目前心肌梗死的治疗主要集中于抗血小板聚集、溶栓以及对冠状动脉解剖结构的侵入性评估, 评判是否需要重新建立血运, 恢复血供。药物治疗方面如 β 受体阻滞剂、他汀类药物和肾素-血管紧张素-醛固酮系统抑制剂等可改善心肌缺血和心脏重构。近年来, 最常见的血管重建术——冠状动脉旁路移植术和经皮冠状动脉介入治疗在全世界广泛开展^[2], 但是心肌梗死的治疗仍面临着严峻的挑战。近年来, 干细胞衍生的外泌体有望成为一种新兴治疗方法。

1 外泌体的基本生物特征

外泌体是由脂质双层界定的蝶形囊泡, 可通过超速离心分离, 是由多种细胞类型分泌, 包括血小板、淋巴细胞、脂肪细胞、肌肉、胶质细胞和干细胞, 其直径为 30 ~ 100 nm^[3], 内含丰富的蛋白质、脂质、mRNA、微小 RNA (miRNA) 以及其他许多非编码 RNA^[4], 通常来源于大部分细胞类型的内吞起源的细胞外囊泡, 是细胞信息交换的重要媒介。来自供体细胞的外泌体与特定受体结合, 释放包含的内容物分子诱导受体细胞发生病理生理变化^[5]。越来越多的证据表明外泌体可将生物学信息从亲代细胞携带到靶细胞并调节靶细胞生物学^[6]。近来, 研究过的用于心脏修复的细胞类型包括胚胎干细胞、造血干细胞、间充质干细胞 (mesenchymal stem cell, MSC)、内皮祖细胞、原位心脏干细胞等。MSC 来源的外泌体含有多种细胞因子(如

基金项目: 2020 年南通市市级科技计划(指导性)项目(MSZ20082)

通信作者: 景宏美, E-mail: 13515209595@163.com; 潘丽华, E-mail: panlihua@ntu.edu.cn

白介素-6 和白介素-10)、生长因子(如转化生长因子- β 和造血生长因子)、信号脂质和 miRNA(如 miRNA-21 和 miRNA-133b)等^[7],这些成分在生理过程中起广泛的调节作用,包括生物体发育、表观遗传调控和免疫调节等^[8]。大量临床研究表明 MSC 来源的外泌体可抑制心肌细胞凋亡,减少组织的损伤^[9],改善心肌梗死后心脏功能。

2 MSC 来源的外泌体影响心肌梗死的机制

2.1 促进心肌梗死血管生成

在心肌梗死的缺血心肌疾病中,需要再生血管以弥补缺血带来的一系列影响,新血管生成可通过激活内源性祖细胞,提供外源干细胞和/或治疗性分子,如血管生成 mRNA 或 miRNA。MSC 来源的外泌体可通过 miRNA 来传达其促血管生成信号。有研究^[10]表明,miRNA 是内皮细胞功能的关键调节剂,尤其是血管生成的重要调节剂。来自 MSC 的外泌体介导了 miRNA 从 MSC 向人脐静脉内皮细胞的转移,其中 miRNA-132 的过表达使人脐静脉内皮细胞中 RASA1 的表达水平降低,在功能上促进了心肌梗死中的新血管生成^[11],而 RASA1 是血管发芽和血管分支的关键负调节剂,通过使丝裂原激活的蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)信号通路失活来调节人脐静脉内皮细胞血管生成;血管内皮生长因子用于维持血管内环境稳定和刺激血管生成级联,miRNA-126 可抑制 Spred1,从而增强血管内皮生长因子信号通路,当 miRNA-126 下调时,Spred1 的过度表达抑制 MAPK/ERK 信号通路,从而影响血管生成因子信号并导致血管生成中断^[12]。MSC 来源的外泌体使缺氧诱导因子-1 α 过表达,缺氧诱导因子-1 α mRNA 表达也增高,上调了促血管生成因子血管内皮生长因子、血管生成素-1 和血小板衍生生长因子的 mRNA 表达水平^[13],血管生成细胞因子可直接与受体结合,也可间接启动内皮细胞的激活,激活下游信号传导途径以形成新的毛细血管,从而促进血管的生成。缺氧预处理后缺氧诱导因子-1 α 可因稳定和核易位,引起下游靶基因 nSMase2 的激活,缺氧增加的 miRNA-210 依赖于 nSMase2 存在于外泌体中,外泌体将 miRNA-210 传递到梗死的血管中,也会促进血管生成^[14]。

MSC 来源的外泌体诱导的血管生成也依赖于细胞间其他介质的传递,这是由 MSC 来源的外泌体介导的生物活性因子分泌所促进的,诸如钙黏蛋白调节血管生成和血管的完整性;成纤维细胞生长因子对血管和毛细血管内皮细胞促有丝分裂,是一种有效的血管生成诱导剂;表皮生长因子受体信号转导途径调节血管生成等^[15]。MSC 通过外泌体分泌相关介质创造促

血管生成的环境,外泌体通过其固有的分子(如核苷酸、蛋白质和生物活性脂质)介导细胞间的微通信。

2.2 抑制炎症反应

心肌梗死后会触发炎症反应,长时间的炎症反应会延长心肌损伤,导致不良的心室重塑和心力衰竭。有证据表明,MSC 来源的外泌体保持有效的抗炎作用。MSC 来源的外泌体中高表达的 miRNA,可直接靶向作用于炎症蛋白抑制炎症,如 miRNA-25-3p 直接作用于炎症蛋白(EZH2 和 H3K27me3),减少 EZH2 和 H3K27me3 被募集至内皮型一氧化氮合酶和 SOCS3 的启动子区域,抑制 SOCS3 的表达,抑制炎症^[16]。来自 MSC 的 exo-miRNA-542-3p 通过调节 Toll 样受体 4 水平减轻炎症反应的激活,Toll 样受体 4 是先天免疫的关键受体,在多个器官中介导炎症反应^[17]。

巨噬细胞也在梗死后炎症和心脏修复中起重要作用。巨噬细胞可分为 M1 型巨噬细胞(经典激活的巨噬细胞)和 M2 型巨噬细胞(活化巨噬细胞)。在梗死早期,M1 型巨噬细胞表现出很强的吞噬活性,在梗死后期 M2 型巨噬细胞占主导地位,并负责炎症消退和心脏愈合。心肌梗死后巨噬细胞向 M1 型分化,M1 型巨噬细胞标志物白介素-1 β 、白介素-6、肿瘤坏死因子- α 和 γ 干扰素表达水平上调,同时下调了 1-磷酸鞘氨醇、鞘氨醇激酶 1 和鞘氨醇-1-磷酸受体 1,这些因子在免疫功能、血管生成及炎症反应中起着至关重要的作用^[18]。脂肪 MSC 来源的外泌体呈经典的杯状形态,可上调 1-磷酸鞘氨醇、鞘氨醇激酶 1 和鞘氨醇-1-磷酸受体 1 的水平,逆转心肌梗死后 M1 型巨噬细胞的分化,使白介素-1 β 、白介素-6、肿瘤坏死因子- α 和 γ 干扰素表达水平下降,同时上调了 M2 型巨噬细胞标志物 CD206 的表达,促进巨噬细胞 M2 型极化,逆转心肌梗死核因子 κ B p65 的激活,减少了缺氧诱导的心肌细胞凋亡和纤维化,抑制了炎症反应,保护了心脏功能^[19]。调节 Akt1/Akt2 信号通路可调节巨噬细胞极化,若用脂多糖刺激 MSC 衍生的外泌体,可显著激活 Akt1 的磷酸化,同时抑制 Akt2 的磷酸化活化,而 Akt1 主要介导 M2 型巨噬细胞极化,Akt2 主要调节 M1 型巨噬细胞极化,使 M1 型巨噬细胞极化向 M2 型巨噬细胞极化转变^[20]。

2.3 减少心肌细胞凋亡与平衡自噬

研究表明,心肌细胞凋亡是心肌梗死早期心肌细胞死亡的一种形式,在心肌梗死后期可能会发生坏死,因而抑制细胞凋亡可能是一种有效的治疗措施^[21]。

MSC 来源的外泌体在缺氧条件下可抑制心肌细胞凋亡,赋予心肌细胞心脏保护作用,这种抗凋亡反

应会阻碍心肌损伤,保留左心室形状,改善心功能。低氧预处理后的骨髓 MSC 外泌体,显著上调了 miRNA-24 的表达,抑制了心肌梗死后的心肌细胞凋亡,其主要抗凋亡作用表现为下调 caspase-3 和切割 caspase-3 蛋白表达^[22]。miRNA-125b 是一种已知的抗凋亡 miRNA,缺氧的 MSC 来源的外泌体中富含 miRNA-125b-5p,其通过抑制 p53 和 BAK1 基因对心肌细胞产生深远的抗凋亡作用。

PI3K/Akt 途径是参与细胞凋亡和存活调节的关键细胞内信号转导途径,miRNA-210 可靶向凋亡诱导因子 3 调节 Akt、PI3K 和 p53 信号转导,由此降低了凋亡诱导因子 3、p-Akt、PI3K 和 p53 的表达水平,使得抗凋亡蛋白 B 细胞淋巴瘤/白血病-2 基因增加,半胱氨酸蛋白酶、B 淋巴细胞瘤-2 基因相关启动子、兔抗人单克隆抗体等凋亡蛋白减少,改善了心肌细胞的存活率^[23];来自 MSC 的外泌体的 miRNA-486-5p 通过抑制人第 10 号染色体缺失的磷酸酶及张力蛋白同源基因途径并随后激活 PI3K/Akt 途径来减少心肌梗死诱导的凋亡^[24]。这些结果表明 MSC 来源的外泌体可调节 PI3K/Akt 途径减少心肌细胞凋亡。

自噬是通过细胞质组分在溶酶体降解的一种细胞内降解系统。大鼠心肌梗死后,MSC 来源的外泌体的注射有效地抑制了心肌梗死引起的心肌损伤,研究表明,缺氧复氧期间凋亡蛋白酶激活因子 1 (apoptosis protease-activating factor-1, Apaf1) 表达增加,Apaf1 是凋亡小体的核心组成部分,Apaf1 寡聚化是细胞凋亡开始的动态和关键事件^[25],引起凋亡性细胞死亡,而自噬相关基因 (ATG13) 的表达被抑制,但外泌体的处理使 Apaf1 表达减少,ATG13 表达增加,这表明 MSC 分离的外泌体促进自噬减少细胞凋亡^[26]。也有研究结果与其恰恰相反,正常的自噬保护细胞免受周围环境的刺激,而过度的自噬会导致多种疾病。在严重缺血条件下,它可促进细胞死亡并恶化心脏功能。MSC 来源的外泌体携带高表达的 miRNA-301,显著降低了梗死心肌中 LC3-II/LC3-I 的比值^[27] (LC3-II、LC3-I 和 P62 是自噬相关的标志物,较高的 LC3-II/LC3-I 比率和较低的 P62 表达水平代表自噬程度的增强),减少了自噬体的通量,抑制了自噬,却减少了心肌细胞的凋亡,改善了心肌梗死大鼠的心功能。

3 小结与展望

MSC 来源的外泌体是心肌细胞存活和功能特性的强大调节因子,通过增强心脏损伤后的血管新生,抑制炎症、减少细胞凋亡、平衡自噬以改善纤维化,表现出了在心肌梗死治疗方面的巨大潜能。至今为止已开展了众多有关外泌体的临床试验研究,尽管 MSC

来源的外泌体在心血管疾病中的再生和免疫调节活性已被大量证实,但由于外泌体在生理和病理过程中都普遍存在,其具体的各项作用靶点,以及在不同环境和不同诱因的心肌梗死中的安全性和有效性还有待验证,开发可扩展和可复制的外泌体以及改进质量分析的技术和标准也是一大挑战;其次,外泌体的有益作用也因供体的年龄或组织的不同而不同;另外,外泌体的分离、检测及纯化也应标准化和简便化,以便将来更好地在临床实践中应用,这些都将是未来一段时间需要解决的问题。

参考文献

- [1] 张柔,王颖. 急性心肌梗死治疗研究进展[J]. 实用中医内科杂志,2020,34(7):105-108.
- [2] Safi M, Ahmed H, Al-Azab M, et al. PD-1/PDL-1 inhibitors and cardiotoxicity; molecular, etiological and management outlines[J]. J Adv Res, 2021, 29:45-54.
- [3] Pegtel DM, Gould SJ. Exosomes[J]. Annu Rev Biochem, 2019, 88:487-514.
- [4] Azizi M, Dianat-Moghadam H, Salehi R, et al. Interactions between tumor biology and targeted nanoplatforams for imaging applications[J]. Adv Funct Mater, 2020, 30(19):1910402.
- [5] Adamiak M, Sahoo S. Exosomes in myocardial repair: advances and challenges in the development of next-generation therapeutics[J]. Mol Ther, 2018, 26(7):1635-1643.
- [6] Cianciaruso C, Beltraminelli T, Duval F, et al. Molecular profiling and functional analysis of macrophage-derived tumor extracellular vesicles[J]. Cell Rep, 2019, 27(10):3062-3080. e11.
- [7] Joo H, Suh JH, Lee HJ, et al. Current knowledge and future perspectives on mesenchymal stem cell-derived exosomes as a new therapeutic agent[J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(3):727.
- [8] Xunian Z, Kalluri R. Biology and therapeutic potential of mesenchymal stem cell-derived exosomes[J]. Cancer Sci, 2020, 111(9):3100-3110.
- [9] Femminò S, Penna C, Margarita S, et al. Extracellular vesicles and cardiovascular system: biomarkers and cardioprotective effectors[J]. Vasc Pharmacol, 2020, 135:106790.
- [10] Kir D, Schnettler E, Modi S, et al. Regulation of angiogenesis by microRNAs in cardiovascular diseases[J]. Angiogenesis, 2018, 21(4):699-710.
- [11] 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.
- [12] Li SN, Li P, Liu WH, et al. Danhong injection enhances angiogenesis after myocardial infarction by activating miR-126/ERK/VEGF pathway[J]. Biomed Pharmacother, 2019, 120:109538.
- [13] Sun J, Shen H, Shao L, et al. HIF-1 α overexpression in mesenchymal stem cell-derived exosomes mediates cardioprotection in myocardial infarction by enhanced angiogenesis[J]. Stem Cell Res Ther, 2020, 11(1):373.
- [14] Zhu J, Lu K, Zhang N, et al. Myocardial reparative functions of exosomes from mesenchymal stem cells are enhanced by hypoxia treatment of the cells via transferring microRNA-210 in an nSMase2-dependent way[J]. Artif Cells Nanomed Biotechnol, 2018, 46(8):1659-1670.
- [15] Olejarsz W, Kubiak-Tomaszewska G, Chrzanoska A, et al. Exosomes in angiogenesis and anti-angiogenic therapy in cancers[J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(16):5840.
- [16] Peng Y, Zhao JL, Peng ZY, et al. Exosomal miR-25-3p from mesenchymal stem cells alleviates myocardial infarction by targeting pro-apoptotic proteins and EZH2[J]. Cell Death Dis, 2020, 11(5):317.

- [18] Tan AY, Hu YL, Potfay J, et al. Impact of ventricular ectopic burden in a premature ventricular contraction-induced cardiomyopathy animal model [J]. *Heart Rhythm*, 2016, 13(3):755-761.
- [19] Cronin EM, Bogun FM, Maury P, et al. 2019 HRS/EHRA/APHS/LAHRS expert consensus statement on catheter ablation of ventricular arrhythmias [J]. *Europace*, 2019, 21(8):1143-1144.
- [20] Yokokawa M, Kim HM, Good E, et al. Relation of symptoms and symptom duration to premature ventricular complex-induced cardiomyopathy [J]. *Heart Rhythm*, 2012, 9(1):92-95.
- [21] Ban JE, Park HC, Park JS, et al. Electrocardiographic and electrophysiological characteristics of premature ventricular complexes associated with left ventricular dysfunction in patients without structural heart disease [J]. *Europace*, 2013, 15(5):735-741.
- [22] del Carpio Munoz F, Syed FF, Noheria A, et al. Characteristics of premature ventricular complexes as correlates of reduced left ventricular systolic function: study of the burden, duration, coupling interval, morphology and site of origin of PVCs [J]. *J Cardiovasc Electrophysiol*, 2011, 22(7):791-798.
- [23] Hamon D, Blaye-Felice MS, Bradfield JS, et al. A new combined parameter to predict premature ventricular complexes induced cardiomyopathy: impact and recognition of epicardial origin [J]. *J Cardiovasc Electrophysiol*, 2016, 27(6):709-717.
- [24] Yokokawa M, Kim HM, Good E, et al. Impact of QRS duration of frequent premature ventricular complexes on the development of cardiomyopathy [J]. *Heart Rhythm*, 2012, 9(9):1460-1464.
- [25] Sun Y, Blom NA, Yu Y, et al. The influence of premature ventricular contractions on left ventricular function in asymptomatic children without structural heart disease: an echocardiographic evaluation [J]. *Int J Cardiovasc Imaging*, 2003, 19(4):295-299.
- [26] Kawamura M, Badhwar N, Vedantham V, et al. Coupling interval dispersion and body mass index are independent predictors of idiopathic premature ventricular complex-induced cardiomyopathy [J]. *J Cardiovasc Electrophysiol*, 2014, 25(7):756-762.
- [27] Altıntaş B, Özkalaycı F, Çimier G, et al. The effect of idiopathic premature ventricular complexes on left ventricular ejection fraction [J]. *Ann Noninvasive Electrocardiol*, 2020, 25(2):e12702.
- [28] Koca H, Kucukosmanoglu M, Icen YK, et al. A new approach to radiofrequency catheter ablation of premature ventricular contractions: the diurnal variation index [J]. *J Electrocardiol*, 2020, 59:106-111.
- [29] Bas HD, Baser K, Hoyt J, et al. Effect of circadian variability in frequency of premature ventricular complexes on left ventricular function [J]. *Heart Rhythm*, 2016, 13(1):98-102.
- [30] Olgun H, Yokokawa M, Baman T, et al. The role of interpolation in PVC-induced cardiomyopathy [J]. *Heart Rhythm*, 2011, 8(7):1046-1049.
- [31] Mountantonakis SE, Frankel DS, Gerstenfeld EP, et al. Reversal of outflow tract ventricular premature depolarization-induced cardiomyopathy with ablation: effect of residual arrhythmia burden and preexisting cardiomyopathy on outcome [J]. *Heart Rhythm*, 2011, 8(10):1608-1614.
- [32] Yokokawa M, Good E, Crawford T, et al. Recovery from left ventricular dysfunction after ablation of frequent premature ventricular complexes [J]. *Heart Rhythm*, 2013, 10(2):172-175.
- [33] El Kadri M, Yokokawa M, Labounty T, et al. Effect of ablation of frequent premature ventricular complexes on left ventricular function in patients with nonischemic cardiomyopathy [J]. *Heart Rhythm*, 2015, 12(4):706-713.
- [34] Zhang J, Tang C, Zhang Y, et al. Pulmonary sinus cusp mapping and ablation: a new concept and approach for idiopathic right ventricular outflow tract arrhythmias [J]. *Heart Rhythm*, 2018, 15(1):38-45.

收稿日期:2021-12-21

(上接第 343 页)

- [17] Cai G, Cai G, Zhou H, et al. Mesenchymal stem cell-derived exosome miR-542-3p suppresses inflammation and prevents cerebral infarction [J]. *Stem Cell Res Ther*, 2021, 12(1):2.
- [18] Ma Y, Mouton AJ, Lindsey ML, et al. Cardiac macrophage biology in the steady-state heart, the aging heart, and following myocardial infarction [J]. *Transl Res*, 2018, 191:15-28.
- [19] Deng S, Zhou X, Ge Z, et al. Exosomes from adipose-derived mesenchymal stem cells ameliorate cardiac damage after myocardial infarction by activating SIP/SK1/SIP1 signaling and promoting macrophage M2 polarization [J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2019, 114:105564.
- [20] Xu R, Zhang F, Chai R, et al. Exosomes derived from pro-inflammatory bone marrow-derived mesenchymal stem cells reduce inflammation and myocardial injury via mediating macrophage polarization [J]. *J Cell Mol Med*, 2019, 23(11):7617-7631.
- [21] Wu D, Zhang K, Hu P. The role of autophagy in acute myocardial infarction [J]. *Front Pharmacol*, 2019, 10:551.
- [22] Zhang CS, Shao K, Liu CW, et al. Hypoxic preconditioning BMSCs-exosomes inhibit cardiomyocyte apoptosis after acute myocardial infarction by upregulating microRNA-24 [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2019, 23(15):6691-6699.
- [23] Cheng H, Chang S, Xu R, et al. Hypoxia-challenged MSC-derived exosomes deliver miR-210 to attenuate post-infarction cardiac apoptosis [J]. *Stem Cell Res Ther*, 2020, 11(1):224.
- [24] Sun XH, Wang X, Zhang Y, et al. Exosomes of bone-marrow stromal cells inhibit cardiomyocyte apoptosis under ischemic and hypoxic conditions via miR-486-5p targeting the PTEN/PI3K/AKT signaling pathway [J]. *Thromb Res*, 2019, 177:23-32.
- [25] Bailly AP, Perrin A, Serrano-Macia M, et al. The balance between mono- and NEDD8-chains controlled by NEDP1 upon DNA damage is a regulatory module of the HSP70 ATPase activity [J]. *Cell Rep*, 2019, 29(1):212-224. e8.
- [26] Zou L, Ma X, Lin S, et al. Bone marrow mesenchymal stem cell-derived exosomes protect against myocardial infarction by promoting autophagy [J]. *Exp Ther Med*, 2019, 18(4):2574-2582.
- [27] Li Y, Yang R, Guo B, et al. Exosomal miR-301 derived from mesenchymal stem cells protects myocardial infarction by inhibiting myocardial autophagy [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2019, 514(1):323-328.

收稿日期:2021-11-30