

# 中性粒细胞来源微颗粒和外泌体研究进展

蔡舒婷<sup>1</sup>, 邓烈华<sup>2</sup>, 唐 靖<sup>3</sup>

(1. 广东医科大学 2017 级, 广东 湛江 524001; 2. 广东医科大学附属第一医院重症医学科, 广东 湛江 524001; 3. 广东医科大学附属第一医院麻醉科, 广东 湛江 524001)

**摘要:** 细胞外囊泡包括微颗粒、外泌体和凋亡小体, 参与细胞间物质交换、信号转导等, 不同细胞来源细胞外囊泡具有不同的生物学功能。中性粒细胞在受到外界刺激后产生大量细胞外囊泡, 发挥不同的生理功能。目前有关中性粒细胞来源的凋亡小体的研究尚未见报道, 中性粒细胞来源微颗粒和外泌体与炎症反应关系密切。本文就中性粒细胞来源微颗粒和外泌体研究进展作一综述。

**关键词:** 中性粒细胞; 微颗粒; 外泌体

## Advances of neutrophil-derived microparticles and exosomes

CAI Shuting<sup>1</sup>, DENG Liehua<sup>2</sup>, TANG Jing<sup>3</sup>

(1. Grade 2017, Guangdong Medical University, Zhanjiang 524001, China; 2. Department of Intensive Care, the Affiliated Hospital of Guangdong Medical University, Zhanjiang 524001, China; 3. Department of Anesthesiology, the Affiliated Hospital of Guangdong Medical University, Zhanjiang 524001, China)

**Abstract:** Extracellular vesicles including microparticles, exosomes and apoptotic bodies, participate in intercellular substance exchange, signal transduction and so on. Different cell-derived extracellular vesicles process their own biological functions. A mass of extracellular vesicles derive from neutrophils by external stimulus, playing physiologic functions. There are no reports on neutrophil-derived apoptotic bodies. The neutrophil-derived microparticles and exosomes are closely correlated with inflammatory response. This paper reviews the research progress of neutrophil-derived microparticles and exosomes.

**Key words:** neutrophil; microparticles; exosomes

细胞外囊泡是微颗粒、外泌体和凋亡小体的总称。细胞外囊泡内容物包含蛋白、脂质、核酸等, 可影响靶细胞的表型和功能, 参与细胞间物质交换和信号转导。多种细胞可产生细胞外囊泡, 不同细胞来源细胞外囊泡具有不同的生物学功能。中性粒细胞是抵御病原体入侵的第一道防线, 其受到刺激后产生的细胞外囊泡与机体抗炎或促炎机制关系密切。目前对中性粒细胞凋亡期间释放的凋亡小体的研究尚未见报道, 中性粒细胞来源微颗粒、外泌体在炎症反应中发挥重要作用<sup>[1-2]</sup>。本文就中性粒细胞来源微颗粒和外泌体的研究进展综述如下。

### 1 中性粒细胞来源微颗粒

1.1 微颗粒特征 中性粒细胞来源微颗粒由中性粒细胞细胞骨架重排, 以细胞膜出泡形式形成, 直径为 0.1~1 μm, 具有脂质双层膜结构及膜蛋白<sup>[3]</sup> (如磷脂酰丝氨酸、膜联蛋白 A1)。微颗粒的双层膜来自中性粒细胞细胞膜且表达其亲本细胞膜的表面标志物, 如 CD11b<sup>[4]</sup>、CD18、CD62L 和 Fc 受体。补体受体

(complement receptor, CR)1 和 CD55 也存在于中性粒细胞微颗粒中。中性粒细胞来源微颗粒还可保留其亲本细胞的蛋白质、脂质、微小 RNA (microRNA, miR)、信使 RNA<sup>[5]</sup>、髓过氧化酶<sup>[6]</sup>、基质金属蛋白酶-9<sup>[7]</sup>、弹性蛋白酶<sup>[8]</sup>等酶类。

1.2 发挥功能的方式 中性粒细胞来源微颗粒可携带其亲本细胞表面活性物质和细胞内容物, 在病理生理条件下发挥相应的生物学功能。文献<sup>[9-10]</sup>报道, 中性粒细胞来源微颗粒可通过识别靶细胞表面受体或被直接内吞的方式, 释放蛋白质、脂质、信使 RNA 或 miR 等内容物, 参与靶细胞抗炎或促炎的生物学功能。

1.3 产生条件 中性粒细胞可在静息条件下自主产生微颗粒<sup>[11]</sup>, 也可在各种刺激因子作用下产生微颗粒<sup>[12]</sup>。刺激因子以细菌最常见, 还包括 N-甲酰-L-甲硫氨酸-L-亮氨酸-L-苯丙氨酸三肽 (N-formylmethionyl-leucyl-phenyl-alanine, fMLP)、脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS) 等强效细菌产物, 肿瘤坏死因子-α (tumor necrosis factor-α, TNF-α)、补体、白细胞介素 (interleukin, IL)-8 等细胞因子, 乙酸肉豆蔻佛波醇 (phorbol-12-myristate-13-acetate, PMA)、蛋白酶 C 等外源性物质。刺激因子作用下产生的微颗粒数目较静息条件产生的多, 且不同的因子

作用产生的微颗粒生物学功能不同。

**1.4 功能** 中性粒细胞来源微颗粒可调节靶细胞的炎性反应。在 TNF- $\alpha$ 、IL-8、fMLP 和花生四烯酸等炎性因子刺激下,中性粒细胞迅速释放 AnxA1<sup>+</sup>微颗粒,AnxA1<sup>+</sup>微颗粒通过激活甲酰肽受体 2/脂氧素 A4 信号通路,进一步减弱中性粒细胞的捕获和黏附能力,减少 IL-1 诱导的无菌性炎症模型小鼠中性粒细胞数目,发挥抗炎作用<sup>[13]</sup>。中性粒细胞来源微颗粒可调节巨噬细胞表型和树突状细胞活化。文献<sup>[14]</sup>报道,用 TNF- $\alpha$  刺激中性粒细胞产生的微颗粒处理人单核细胞-巨噬细胞,巨噬细胞的促炎作用减弱,表现为其分泌的 IL-1B、IL-6、IL-8 和 TNF- $\alpha$  等炎性因子减少。研究<sup>[15]</sup>显示,将未成熟的单核细胞、树突状细胞暴露于中性粒细胞来源微颗粒中,可改变其形态,降低吞噬活性,推测中性粒细胞来源微颗粒可能代表尚未确定的宿主因素,在损伤部位影响树突状细胞成熟,从而调节下游树突状细胞的免疫功能,减少炎性因子产生。文献<sup>[16]</sup>报道,从人体外周血提取中性粒细胞通过刺激活化后产生的微颗粒,可抑制自然杀伤细胞分泌  $\gamma$ -干扰素、TNF- $\alpha$ , 增强转化生长因子  $\beta_1$  (transforming growth factor- $\beta_1$ , TGF- $\beta_1$ ) 活性,发挥抗炎作用。国外研究<sup>[10]</sup>显示,富含 AnxA1<sup>+</sup>的中性粒细胞来源微颗粒可进入关节软骨,并诱导活化甲酰肽受体 2/脂氧素 A4 信号通路,促进 TGF- $\beta_1$  生成、细胞外基质沉积及软骨细胞内形成稳态,发挥关节保护作用;且可通过 CR1 或整合素与红细胞结合,诱导红细胞聚集,并黏附于内皮细胞表面,促进 IL-6、IL-8 等炎性因子表达。因此,中性粒细胞来源微颗粒是发挥抗炎特性,还是促炎作用,取决于靶细胞类型。

**1.5 临床应用** 中性粒细胞来源微颗粒与多种炎症性疾病密切相关。有研究结果<sup>[17]</sup>发现,全身感染患者中性粒细胞来源微颗粒含量高于体检健康者, $\alpha$ -2 巨球蛋白和铜蓝蛋白含量也明显高于体检健康者,在免疫反应中具有重要作用。炎症性疾病患者体液中可分离出中性粒细胞来源微颗粒,肺炎<sup>[8]</sup>和脓毒症<sup>[18]</sup>患者的支气管肺泡液中也含有较多的中性粒细胞来源微颗粒。文献<sup>[1,19]</sup>报道,急性血管炎、慢性血管炎、IgA 肾病、肾小管间质性肾炎及正在接受血液透析治疗的肾病患者血清中性粒细胞来源微颗粒水平显著升高,提示中性粒细胞来源微颗粒可作为炎症性疾病的诊断参考指标。但目前中性粒细胞来源微颗粒在炎症性疾病诊断中的临床应用尚处于研究阶段。

## 2 中性粒细胞来源外泌体

**2.1 外泌体特征** 外泌体是由细胞内多囊泡体膜与质膜融合释放的双层膜囊泡,直径 30~150 nm,在生理和病理条件下由不同的细胞产生。外泌体通过胞吐方式释放至细胞外环境中并在血液、尿液、唾液、乳汁、精液、胆汁等体液以及支气管肺泡和胃肠灌洗液中大量

存在。外泌体被认为是细胞-细胞间通信的介质,不同细胞来源外泌体可携带相同的表面标志物,如 CD81、CD9、CD63 等。中性粒细胞来源外泌体在静止或在刺激因子作用下产生、释放,与微颗粒发挥功能的途径相似。

**2.2 外泌体功能** 中性粒细胞来源外泌体具有亲本细胞的部分特征,在炎症反应中发挥重要作用。中性粒细胞来源外泌体可独立于中性粒细胞之外发挥作用,也可通过影响某些细胞类型来协调适应性免疫反应。文献<sup>[20]</sup>报道,炎症刺激时,fMLP 刺激下产生的中性粒细胞来源外泌体可诱导静息的中性粒细胞发挥趋化活性,诱导更多的中性粒细胞聚集于炎症部位,加重炎性反应。LPS 诱导的中性粒细胞来源外泌体被支气管平滑肌细胞摄取后,可促进气道重塑及气道平滑肌增殖,加重哮喘患者的气道炎性反应<sup>[21]</sup>。fMLP 激活的中性粒细胞来源外泌体可与胶原蛋白和弹性蛋白结合,并促进其降解,引起肺部基质破坏和肺发育不良<sup>[22]</sup>。银屑病患者中性粒细胞来源外泌体含量增高,并很快被角质形成细胞吞噬,通过激活核因子- $\kappa$ B,放大炎性反应<sup>[21]</sup>。因此,中性粒细胞来源外泌体能促进炎性因子的释放,加重炎性反应,破坏机体正常免疫防御系统。

**2.3 临床应用** 多肽和蛋白质等生物大分子药物是治疗神经系统疾病的有效药物之一<sup>[23]</sup>,但其在血浆中不稳定性,且难以透过血脑屏障,应用受限。中性粒细胞来源外泌体为具有双层脂质膜结构的纳米级颗粒,易透过血脑屏障。脑缺血时神经系统炎性反应的一个典型特征是白细胞聚集至脑损伤处。以中性粒细胞来源外泌体为载体,将大分子药物运送至大脑缺血区域,可发挥脑损伤保护作用<sup>[24]</sup>。但以中性粒细胞来源外泌体为载体用于治疗神经系统疾病的安全性及可行性仍有待验证。

## 3 中性粒细胞来源微颗粒及外泌体比较

**相同点:**中性粒细胞微颗粒与外泌体均具有脂质双层膜结构,由细胞释放至细胞外液中的纳米级膜囊泡,均在受到炎症刺激时分泌增多。**不同点:**(1)分泌方式不同:中性粒细胞来源微颗粒是由细胞膜出芽方式产生;中性粒细胞来源外泌体是通过细胞内吞作用产生早期核内体,再形成晚期核内体,进而融合成胞内囊泡,最后以胞吐的方式释放至细胞外;(2)表面蛋白不同:中性粒细胞来源微颗粒主要携带中性粒细胞表面的各种蛋白如 CD11、CD62L、CD18 等;中性粒细胞来源外泌体主要携带外泌体表面标志蛋白如 CD9、CD81、TSG101 等;(3)功能不同:中性粒细胞来源微颗粒既具有抗炎作用,也具有促炎作用;中性粒细胞来源外泌体与骨髓细胞共培养时主要发挥抗炎作用,与内皮细胞、红细胞相互作用时发挥促炎功能,但主要发挥促炎作用。

#### 4 结 语

中性粒细胞是血液中含有最多的免疫细胞,对其充分研究可更好地应对临床上常见的炎性反应失调,尤其是脓毒症的预防与治疗<sup>[25-26]</sup>。未来有望通过促进或抑制中性粒细胞来源细胞外囊泡分泌来改善脓毒症患者的病理状态,甚至通过体外静脉注射中性粒细胞来源细胞外囊泡来改善脓毒症患者的炎症状态。但中性粒细胞来源细胞外囊泡分离及纯化程序<sup>[27]</sup>尚未成熟。进一步提高分离的中性粒细胞来源细胞外囊泡纯度和浓度,使其更广泛、更高效地应用于临床,需进一步研究。

#### 参考文献

- [1] 王向蒙,邓烈华. 中性粒细胞来源微颗粒的生物学功能研究进展[J]. 生理科学进展, 2017, 48(6): 424-428.
- [2] SHAO S, FANG H, ZHANG J, et al. Neutrophil exosomes enhance the skin autoinflammation in generalized pustular psoriasis via activating keratinocytes[J]. *FASEB J*, 2019, 33(6): 6813-6828.
- [3] STEIN J M, LUZIO J P. Ectocytosis caused by sublytic autologous complement attack on human neutrophils. The sorting of endogenous plasma-membrane proteins and lipids into shed vesicles[J]. *Biochem J*, 1991, 274(Pt2): 381-386.
- [4] GASSER O, HESS C, MIOT S, et al. Characterizations and properties of ectosomes released by human polymorphonuclear neutrophils[J]. *Exp Cell Res*, 2003, 285(2): 243-257.
- [5] LOYER X, VION A C, TEDGUI A, et al. Microvesicles as cell-cell messengers in cardiovascular diseases[J]. *Circ Res*, 2014, 114(2): 345-353.
- [6] PITANGA T N, ARAGAO F L, ROCHA V C, et al. Neutrophil-derived microparticles induce myeloperoxidase-mediated damage of vascular endothelial cells[J]. *BMC Cell Biol*, 2014, 15: 21.
- [7] DALLI J, MONTERO-MELENDZ T, NORLING L V, et al. Heterogeneity in neutrophil microparticles reveals distinct proteome and functional properties[J]. *Mol Cell Proteomics*, 2013, 12(8): 2205-2219.
- [8] HESS C, SADALLAH S, HEFTI A, et al. Ectosomes released by human neutrophils are specialized functional units[J]. *J Immunol*, 1999, 163(8): 4564-4573.
- [9] GASSER O, SCHIFFERLI J A. Microparticles released by human neutrophils adhere to erythrocytes in the presence of complement[J]. *Exp Cell Res*, 2005, 307(2): 381-387.
- [10] HEADLAND S E, JONES H R, NORLING L V, et al. Neutrophil-derived microvesicles enter cartilage and protect the joint in inflammatory arthritis[J]. *Sci Transl Med*, 2015, 7(315): 315ra190.
- [11] NIEUWLAND R, BERCKMANS R J, MCGREGOR S, et al. Cellular origin and procoagulant properties of microparticles in meningococcal sepsis[J]. *Blood*, 2000, 95(3): 930-935.
- [12] DANIEL L, FAKHOURI F, JOLY D, et al. Increase of circulating neutrophil and platelet microparticles during acute vasculitis and hemodialysis[J]. *Kidney Int*, 2006, 69(8): 1416-1423.
- [13] PERRETTI M, CROXTALL J D, WHELLER S K, et al. Mobilizing lipocortin 1 in adherent human leukocytes downregulates their transmigration[J]. *Nat Med*, 1996, 2(11): 1259-1262.
- [14] EKEN C, SADALLAH S, MARTIN P J, et al. Ectosomes of polymorphonuclear neutrophils activate multiple signaling pathways in macrophages[J]. *Immunobiology*, 2013, 218(3): 382-392.
- [15] EKEN C, GASSER O, ZENHAEUSERN G, et al. Polymorphonuclear neutrophil-derived ectosomes interfere with the maturation of monocyte-derived dendritic cells[J]. *J Immunol*, 2008, 180(2): 817-824.
- [16] PLIYEV B K, KALINTSEVA M V, ABDULAEVA S V, et al. Neutrophil microparticles modulate cytokine production by natural killer cells[J]. *Cytokine*, 2014, 65(2): 126-129.
- [17] DALLI J, MONTERO-MELENDZ T, NORLING L V, et al. Heterogeneity in neutrophil microparticles reveals distinct proteome and functional properties[J]. *Mol Cell Proteomics*, 2013, 12(8): 2205-2219.
- [18] PRAKASH P S, CALDWELL C C, LENTSCH A B, et al. Human microparticles generated during sepsis in patients with critical illness are neutrophil-derived and modulate the immune response[J]. *J Trauma Acute Care Surg*, 2012, 73(2): 401-406.
- [19] DANIEL L, FAKHOURI F, JOLY D, et al. Increase of circulating neutrophil and platelet microparticles during acute vasculitis and hemodialysis[J]. *Kidney Int*, 2006, 69(8): 1416-1423.
- [20] MAJUMDAR R, TAVAKOLI TAMEH A, PARENT C A. Exosomes mediate LTB4 release during neutrophil chemotaxis[J]. *PLoS Biol*, 2016, 14(1): e1002336.
- [21] VARGAS A, ROUX-DALVAI F, DROIT A, et al. Neutrophil-derived exosomes: a new mechanism contributing to airway smooth muscle remodeling[J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2016, 55(3): 450-461.
- [22] GENSCHEMER K R, RUSSELL D W, LAL C, et al. Activated PMN exosomes: pathogenic entities causing matrix destruction and disease in the lung[J]. *Cell*, 2019, 176(1/2): 113-126.
- [23] 班俊杰,黄丽娜. 外泌体 miRNA 在缺血性脑血管病中作用的研究进展[J]. 中华实用诊断与治疗杂志, 2019, 33(3): 295-298.
- [24] ZHANG C, LING C L, PANG L, et al. Direct macromolecular drug delivery to cerebral ischemia area using neutrophil-mediated nanoparticles[J]. *Theranostics*, 2017, 7(13): 3260-3275.
- [25] 吴朝,董晓琴,赵鸿,等. 脓毒症及脓毒症休克诊断与治疗研究进展[J]. 中华实用诊断与治疗杂志, 2018, 32(11): 1126-1128.
- [26] 王艳,吴俊,张会英. 脓症患者预后相关生物标志物研究进展[J]. 中华实用诊断与治疗杂志, 2014, 28(8): 737-739.
- [27] 贺娇,许泼实. 外泌体提取方法及鉴定分析研究进展[J]. 中华实用诊断与治疗杂志, 2018, 32(7): 718-721.

收稿日期: 2019-07-29 修回日期: 2019-09-27 本文编辑: 王霞