文章编号:1000-2367(2021)04-0098-08 DOI:10.16366/j.cnki.1000-2367.2021.04.014

细胞外囊泡来源的 miRNA 的生物学功能及临床应用

余国营,韩棕远,王棋文

(河南师范大学 河南省与科技部共建细胞分化与调控国家重点实验室;河南省肺纤维化国际联合实验室;
生物医学研究院;河南省肺纤维化杰出外籍科学家工作室;生命科学学院;
肺纤维化生物学学科创新引智基地,河南 新乡 453007)

摘 要:细胞外囊泡(extracosles vesicles,EVs)可分为外泌体、微囊泡和凋亡小体 3 类.在功能上,EVs 可在细胞和组织之间传递核酸(DNA、mRNA 和非编码 RNA)、蛋白质等.研究发现,作为转录后关键调控基因表达的 microRNAs(miRNAs)也存在 EVs 中.最近的证据显示,EVs 来源的 miRNAs(EVs miRNAs)在维持正常的体内平衡中起着重要作用.阐述了 EVs miRNAs 的生理功能,讨论了其在疾病诊断和治疗中的可能应用.

关键词:细胞外囊泡;miRNAs;生物学功能;诊断;治疗

中图分类号:R563 **文献标志码:**A

EVs 是由细胞分泌的一种纳米级膜泡,其来源、特征、性质各不相同,根据其大小不同主要分为外泌体、微囊泡和凋亡小体 3 类[1].研究显示,EVs 可携带各种类型的细胞生物分子,包括 mRNAs,miRNAs,ncRNAs 和蛋白质等.其中 miRNAs 大约占 EVs 腔内 RNA 总数的一半,在生物分子向受体细胞转移以及细胞间通讯中发挥关键作用[2].microRNAs(miRNAs)是一类在进化上高度保守的长度约为 21～22 个核苷酸的非编码小 RNA,通过与靶 mRNA 的 5'或 3'UTR 区互补配对发挥调节作用.最近的研究表明,EVs 来源的 miRNA 可能是 EVs 发挥作用的重要中间媒介,极有可能成为诊断和治疗相关疾病的重要靶点[3].在此,总结了 EVs miRNAs 的生理功能,并进一步探讨了 EVs miRNAs 作为一些疾病的诊断和治疗标志物的应用前景.

1 EVs miRNAs 的生物学功能

1.1 促进血管生成

血管生成在胚胎发生和伤口愈合等多种生理和病理过程中发挥重要作用.VAN 等人证明,来自内皮细胞的外泌体可以刺激细胞迁移和血管生成.此外,来自内皮细胞的外泌体在 miR-214 缺失的情况下能够抑制衰老,同时通过抑制邻近靶细胞突变造成的无序毛细血管扩张来促进血管生成[4].此外,在含有 miR-92a 的白血病细胞(K562)与人脐带静脉内皮细胞(Human Umbilical Vein Endothelial Cells,HUVECs)共培养情况下,成功地在 HUVECs 的外泌体中检测到源于 K562 细胞的 miR-92a.外泌体 miR-92a 可以介导内皮细胞的迁移和管腔的形成,以及低氧条件下 HUVECs 的外泌体 miR-210 明显增加[5].这些结果表明外泌体 miRNAs 在肿瘤细胞到内皮细胞的通信中发挥重要作用.

内皮细胞、内皮祖细胞(Endothelial Progenitor Cells,EPCs)和基质细胞之间的内部连接在建立和维持血管完整性方面发挥着重要作用,这些连接也存在于 EVs 通路中.有研究证实,EPCs 释放的 EVs 有助于重

收稿日期:2021-04-10;**修回日期:**2021-05-12.

基金项目:国家重点研发计划"政府间国际科技创新合作"重点专项(2019YFE0119500);国家肺纤维化生物学过程及防控学科创新引智基地(111 计划);河南省肺纤维化国际联合实验室;河南省肺纤维化过程与防控杰出外籍科学家工作室.

作者简介:余国营(1964—),男,河南信阳人,河南师范大学卓越人才特聘教授,博士,博士生导师,研究方向为肺纤维化.

通信作者:余国营,E-mail:2018043@htu.edu.cn;王棋文,E-mail:wangqiwen@htu.edu.cn.

症联合免疫缺陷（Severe Combined Immune Deficiency，SCID）小鼠血运重建以及胰岛素的分泌.这些 EVs 中含有促进血管生成的 miR-126 和 miR-296[6].在心脏祖细胞（Cardiac Progenitor Cells，CPCs）中同样发现，其分泌的 EVs 有 miR-146a-3p，miR-132 和 miR-210 的大量富集，进一步证实了 EVs miR-132 可以通过下调标靶 RasGAP-P120 来增强内皮细胞的管腔形成[7].另一项研究也证明间质干细胞（Mesenchymal Stem Cells，MSCs）中外泌体可以将 miRNA-125a 转运至血管内皮细胞，抑制血管生成抑制剂 delta-like 4（DLL4）的表达，从而通过增加内皮顶端细胞的形成，促进血管生成[8].

1.2　抑制细胞凋亡

目前，EVs 抑制细胞凋亡的研究主要集中在心血管系统.有证据表明，CPCs 中的 EVs miR-210 可以下调 ephrin A3 和蛋白酪氨酸磷酸酶 1B（Protein-Tyrosine Phosphatase 1B，PTP1b），从而减少细胞凋亡[9]. WANG 等[10]纯化了 iPS 细胞分泌的外泌体（iPS-exo）后发现，iPS-exo 可以有效地将 miR-210 和 miR-21 传递到心肌细胞，通过抑制半胱天冬酶 3/7 的激活保护心肌细胞免受氧化应激.同样骨髓间充质干细胞（Bone Marrow-derived Mesenchymal Stem Cells，BMSCs）分泌的外泌体 miR-22 可通过靶向甲基 CpG 结合蛋白 2（Methyl Cpg Binding Protein 2，Mecp2）减少心肌细胞凋亡[11].最近的研究还表明 BMSCs 中的外泌体 miRNA-138 对星形胶质细胞神经具有保护作用.值得注意的是，miRNA-138 通过下调脂质运载蛋白 2（Lipocalin 2，LCN2）来抑制星形胶质细胞凋亡[12].

1.3　促进骨再生

FURUTA 等[13]发现，与野生型相比，$CD9^{-/-}$ 小鼠愈伤组织形成延迟，骨结合率降低，注射由 BMSCs 中分离的外泌体可以显著改善 $CD9^{-/-}$ 小鼠骨折后的愈合过程.有意思的是，这些分离的外泌体中含有低水平的骨修复相关细胞因子，单核细胞趋化蛋白-1（MCP-1），MCP-3 和基质细胞衍生因子-1，说明外泌体的其它成分可能参与了骨骼修复的过程.利用 NanoString 技术进一步分析外泌体中的 miRNAs 表达谱发现，miR-21，miR-125b-5p，miR-338-3p 等显著在其中富集.大量研究表明这些 miRNAs 与组织再生和修复相关[14-15].QIN 等[16]利用 RNA 测序方法分析了 BMSCs 来源的 EVs miRNA 谱，发现了 3 种显著高表达的 miRNA（miR-206、miR-27a 和 miR-196a）.进一步研究表明，miR-196a 低表达会显著降低 EVs 的作用，并显著下调了成骨基因的表达，如碱性磷酸酶（Alkaline Phosphatase，ALP）、骨钙素（Osteocalcin，OCN）、骨桥蛋白（Osteopontin，OPN）.说明 miR-196a 是 EVs 促进成骨作用的重要相关介质.此外，体外研究表明，滑膜间充质干细胞（synovium-derived mesenchymal stem cell，SMSC）来源的外泌体通过其携带的 Wnt5a 和 Wnt5b 能激活 Yes 相关蛋白（Yes-associated Protein，YAP），来促进关节软骨细胞的增殖和迁移，但同时却抑制细胞外基质（Extracellular Matrix，ECM）的分泌.有意思的是，从过表达 miR-140-5p 的 SMSC 中提取的外泌体（SMSC-140s-Exos），在不损害 ECM 分泌的情况下同样能促进软骨细胞的增殖和迁移.并且注射 SMSC-140s-Exos 能显著减少关节磨损和Ⅱ型胶原组成的软骨基质的形成，显示 SMSC-140s-Exos 的主要作用是维持软骨细胞功能和促进软骨组织再生等[17].

1.4　调节神经的发展

星形胶质细胞在调节神经元功能和突触可塑性等中发挥着重要作用.因此外泌体在星形胶质细胞至神经元的信号转导过程受到研究者极大的关注.典型的例子就是 miR-26a.研究表明，miR-26a 在星形胶质细胞中高表达，并且通过外泌体的方式来转运发挥功能.如外泌体 miR-26a 通过 MAP2，RSK3，PTEN 调节神经元的形态，通过 GSK3β 影响轴突再生，通过 CTDSP2 参与神经发生等[18].XIN 等[19]人也发现，在大脑中动脉闭塞的大鼠模型中，注射过表达 miR-133b 的 MSCs 能显著改善缺血边界区的功能，表现为轴突可塑性和神经突重塑增加.同时从脑脊髓液收集的外泌体中的 miR-133b 水平显著升高.绿色荧光蛋白示踪结果表明富含 miR-133b 的外泌体的细胞外颗粒从 MSC 中释放出来并转移到相邻的星形胶质细胞和神经元中，通过调控星形胶质细胞中结缔组织生长因子（Connective Tissue Growth Factor，CTGF）和缺血边界区 Ras 同源基因家族成员 A（Ras homolog gene family member A，RhoA）的表达，来提高皮质轴突密度和神经可塑性.此外，他们还发现 MSCs 释放的外泌体中也富集 miR-17-92，这些外泌体 miRNA 通过靶向 PTEN 来激活 PI3K/Akt/mTOR/GSK3β 信号通路，增强大鼠中风后突触的可塑性与功能恢复[20].

2 EVs miRNAs 在疾病诊断中的作用

已有很多证据表明,癌细胞分泌的外泌体超过正常细胞的 10 倍.癌症来源的外泌体通过运输趋化因子、小分子物质、miRNAs 和生长因子等方式参与细胞间通信[21].癌症中部分 EVs miRNAs 如图 1 所示.

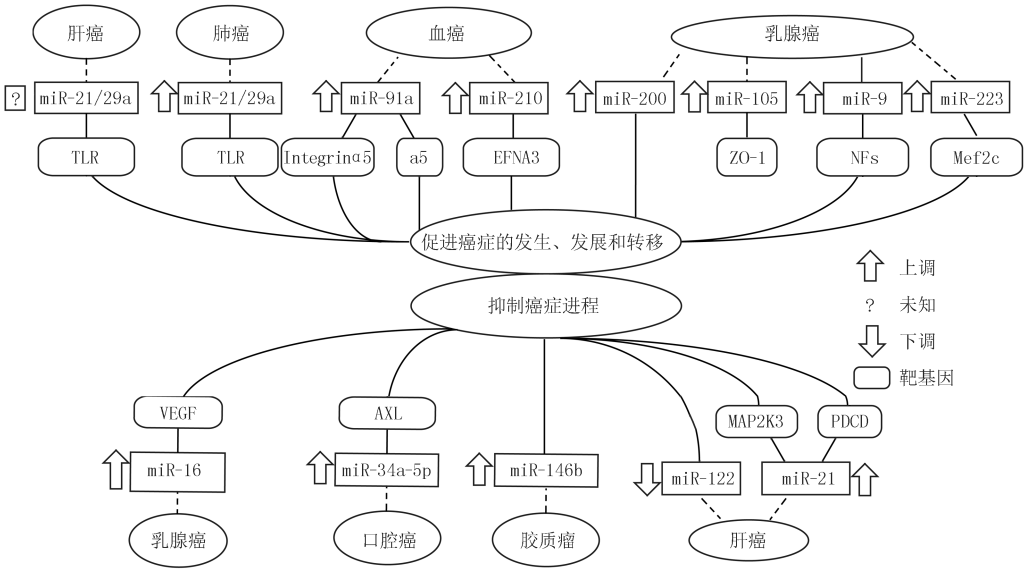

图1 外泌体miRNAs和癌症

Fig.1 Exosome-derived miRNAs and cancers

2016 年 1 月 21 日,第一款基于外泌体的癌症诊断产品在美国上市[22].HANNAFON 等人[23]最近报道,通过采集人血浆标本、人乳腺癌细胞和患者来源原位异种移植(Patient-Derived Orthotopic Xenograft,PDX)模型的小鼠血浆,发现外泌体在乳腺癌中显著富集.此外,从 PDX 模型小鼠血浆中分离的人的外泌体 miR-1246 显著升高.16 例乳腺癌患者的血浆与健康对照组相比,外泌体 miR-21 和 miR-1246 的水平显著提高,表明血浆外泌体 miR-1246 和 miR-21 可能是更好的乳腺癌指示物.还有研究发现,转移性乳腺癌细胞分泌的 EVs 可以将 miR-200 转移到非转移性细胞中,促进癌细胞在远端组织中细胞定植的能力[24].ZHOU 等[25]也发现来源于乳腺癌细胞的高转移性外泌体 miRNA-105 可作用于癌细胞导致 ZO-1 表达下调.最终导致血管通透性升高,为癌细胞转移奠定了基础.说明这些外泌体 miRNAs 也是乳腺癌转移的重要指标.

外泌体 miRNAs 可能成为肝细胞癌(Hepatocellular Carcinoma,HCC)诊断和预后的新指示物.WANG 等人[26]发现 HCC 患者的外泌体 miR-21 表达水平和血清 miR-21 水平均高于慢性乙型肝炎患者的正常水平,但是外泌体 miR-21 的检测灵敏度远高于血清 miR-21.因此,外泌体 miR-21 可能作为检测早期 HCC 的指示物.一项新的研究表明,外泌体 miRNAs 与 HCC 患者的肺转移高度相关.研究人员进一步证明,从 HCC 细胞释放的外泌体 miR-1247-3p 可以通过 B4GALT3-β1-integrin-NF-κB 信号转导通路激活成纤维细胞. 最后,活化的癌症相关成纤维细胞(Cancer-associated Fibroblasts,CAF)通过分泌促炎性细胞因子 IL-6 和 IL-8 促进 HCC 进程[27].这表明外泌体 miR-1247-3p 可能是 HCC 肺转移的重要指标.外泌体 miRNAs 可能也与 HCC 进展有关,研究发现肝移植后 HCC 复发的肝脏样本中外泌体 miR-718 表达显著下调,进一步证实外泌体 miR-718 可能是一个新的诊断 HCC 复发的指示物[28].

研究发现来自肺癌患者的两种不同的外泌体 miRNA 特征:4 种选择性 miRNA(miR-200,miR-139,miR-379 和 miR-378a)的筛选试验显示出 97.5%的敏感性和 72.0%的特异性.具有 6 个可选 miRNA(miR-154-3p,miR-200b,miR-100,miR-629,miR-30a-3p 和 miR-151a)的诊断测试具有 96%的敏感性和 60%的特异性[29].另一项研究利用高通量测序分析 46 例 I 期非小细胞肺癌(Non-Small Cell Lung Cancer,NSCLC)患者和 42 例健康对照,进一步揭示了腺癌(Adenocarcinoma,AC)和鳞状细胞癌(Squamous Cell Carcinoma,SCC)之间不同的 miRNA 表达谱.具体来说,这些结果表明 miR-361,miR-30e,miR-30a 和 miR-181 具有 AC

特异性，AUC(Area Under Curve，AUC)为 0.936，敏感性为 80.65%，特异性为 91.67%；而 miR-320b、miR-15b 和 miR-10b 具有 SCC 特异性，AUC 为 0.911，敏感性为 83.33%，特异性为 90.32%[30].有研究报道，缺氧可引起肺癌细胞外泌体 miR-23a 水平升高，这些外泌体通过脯氨酰羟化酶和紧密连接蛋白-1(ZO-1)促进血管生成和癌细胞跨内皮迁移[31].除了 miR-23，HSU 等人[31]也证明了外泌体 miR-103a 可以通过修饰 M2 巨噬细胞激活 AKT 和 STAT3，从而促进肿瘤发生和血管生成.以上研究表明，这些 EVs miRNAs 可能是诊断早期肺癌的有效指示物.

OGATA-KAWATA 等人[33]研究显示，在原发性结直肠癌(Primary Colorectal Cancer，PCRC)手术切除后，外泌体 miR-23a，miR-1246，miR-21，miR-150，miR-223，miR-1224-5p，miR-1229 和 let-7a 水平显著降低.ROC(Receiver Operating Characteristic Curve)曲线显示 miR-23a 和 miR-1246 的敏感性分别为 92%和 95.5%.WANG 等人[34]对 50 例早期 PCRC 患者和健康对照的血浆来源外泌体 miRNA 进行了评估，发现 miR-125a-3p 在 PCRC 中显著上调，进一步证实 miR-125a-3p 结合癌胚抗原对早期 PCRC 具有重要的诊断能力(AUC=0.855 2).另一项研究表明血清外泌体 miR-19a 水平的升高与 PCRC 的癌细胞浸润、淋巴结受累和肝转移密切相关[35].外泌体 miR-21 水平是 TNM 分期 II 期或 III 期 PCRC 患者总体生存率(overall survival，OS)和无病生存率(disease-free survival，DFS)以及 TNM 分期 IV 期患者 OS 的独立预后指示物[36].这些数据表明 EVs miRNAs 在 PCRC 诊断和预后方面是很有前景的指示物.

此外，研究发现在一些非侵袭性疾病诊断中，EVs 是值得关注的重要指标，可用于无创评估器官对急性和慢性损伤的反应.在急性心肌损伤发病早期，心脏来源的 EVs miRNAs(miR-133a 和 miR-1)在血清中的水平迅速升高[37].与 2 型糖尿病患者相比，泌尿系统来源的外泌体 miRNA 表达谱证实了糖尿病肾病(Diabetic Nephropathy，DN)患者中 miR-150-5p，miR-877-3p 和 miR-362-3p 3 种 miRNA 的上调和 miR-15a-5p 的下调[38].此外，在糖尿病动物模型和早期 DN 患者中观察到外泌体 miR-145 升高[39].miR-145 可以抑制 ECM 的形成，在 DN 中发挥了明显的诊断作用[1].这表明泌尿系统来源的外泌体 miRNA 可能是早期 DN 发展为肾衰竭的诊断因子.

3　EVs miRNAs 的治疗作用

除了在细胞间通讯中有效地发挥功能并携带各种分子外，EVs 与脂质体2000相比具有更低的免疫原性这使得 EVs 在基因治疗中成为传统病毒和非病毒载体之外的又一选择[40].EVs 也已在各个方面被直接应用或设计为治疗剂，包括再生医学、癌症治疗、免疫调节和代谢性疾病等多个方面[41].

3.1　癌　症

许多研究表明癌细胞中的 EVs miRNAs 可以减弱癌细胞生长，提高对药物敏感性.例如，静脉注射外泌体可以有效地将抗肿瘤 let-7a 传递到表皮生长因子受体(Epidermal Growth Factor Receptor，EGFR)表达的异种移植乳腺癌组织[42].MSCs 来源的 EVs miR-146 可显著降低异种移植胶质瘤的生长.经负载有 miR-133b 的 MSCs 外泌体处理后的神经元可以显著增加神经元树突分支数和总神经突起长度，表明这些微粒在神经疾病中有治疗作用[43].

在 HCC 中，肝星状细胞来源的外泌体可向受体细胞提供 miR-335-5p，抑制肝癌细胞的增殖和侵袭[44].另一项研究表明，miR-122 修饰的脂肪组织 MSCs 来源的外泌体可以提高癌细胞的化疗敏感性，显著提高索拉非尼在体内的治疗效果[45].上述研究表明外泌体 miRNAs 可能是 HCC 的一个新的治疗选择.然而，MSCs 来源的外泌体在治疗药物递送中的作用仍有待进一步探讨.

在卵巢癌中，低氧诱导因子(Hypoxia-Inducible Factors，HIFs)诱导的低氧微环境导致低氧外泌体中一组 miRNAs 富集，包括 miR-181d，miR-125b 和 miR-21.未分化巨噬细胞吞噬外泌体可极化为 M2 型巨噬细胞，通过 SOCS4/5/STAT3 通路诱发肿瘤[46].将卵巢癌细胞和巨噬细胞共同培养可以通过外泌体将致癌 miR-1246 转移到 M2 型巨噬细胞.将 miR-1246 抑制剂与化疗药物结合可显著抑制体内肿瘤生长[47].

外泌体 miRNA(miR-125b，miR-21，miR-195，miR-122 和 miR-25)的调控可促进检测 150 例非小细胞肺癌患者的 EGFR 突变状态和吉非替尼敏感性，这意味着外泌体可能应用于选择患者进行靶向治疗[29].

EVs miRNAs 在 PCRC 中有重要的治疗意义.JIN 等[48]验证了血清外泌体 miRNAs(miR-96,miR-1229,miR-1246 和 miR-21)在耐药患者中的高水平表达,从而区分晚期 PCRC 患者的化疗耐药组.靶向这些 miRNAs 可能是治疗 PCRC 的有效手段.

3.2 非侵袭性疾病

特发性肺纤维化(Idiopathic Pulmonary Fibrosis,IPF)主要发生于老年人(尤其是 60～70 岁的人群),以慢性、进行性纤维化、进行性呼吸衰竭和高死亡率为特征,多预后不良,其发病机制受遗传与环境风险的相互作用影响.吸烟、环境污染和胃食管反流疾病等使肺泡上皮细胞完整性丧失,随之出现成纤维细胞的增殖,上皮-间充质转化(EMT),细胞外基质(ECM)沉积和肺实质异常重塑.在此过程中伴有多种 miRNAs 表达的改变以及一些异常激活的信号通路包括:TGF-β/Smads,Wnt/β-catenin 等[49-50].研究发现 EVs 尤其是外泌体 miRNAs 在肺纤维化过程中调节 EMT,成纤维细胞向成肌纤维细胞的转化,成纤维细胞的增殖,免疫调节和线粒体损伤等过程中发挥着重要作用,其具体机制与 EVs 的来源和 EVs 中的 miRNAs 种类有关.如来源于慢阻肺患者支气管上皮细胞和肺成纤维细胞中的 EVs miR-210 通过抑制自噬促进肌成纤维细胞分化[51].Kadota 等也报道了肺成纤维细胞来源的 EVs 可以将 miR-23b-3p 和 miR-494-3p 转移至肺泡上皮细胞,这些 miRNAs 与 SIRT3 的 UTR 区结合抑制其表达,最终导致活性氧的产生增加,线粒体功能障碍,DNA 损伤和肺泡上皮细胞的衰老[52].相反的是,同样来自于肺成纤维细胞的 EVs miR-22 却可以通过调节 ERK1/2 通路减缓纤维化的形成[53].

除了肺成纤维细胞,肺泡灌洗液中巨噬细胞分泌的外泌体中同样含有一些炎性细胞因子,其中就包括 miRNAs.研究指出,源自肺泡 M2 型巨噬细胞的 EVs miR-328 和 RAW264.7 来源的外泌体 miR-125a-5p 可以促进肺成纤维细胞增殖和纤维化的形成[54-55].而在另一项研究中,巨噬细胞来源的外泌体 miR-142-3p 却通过减少肺泡上皮细胞和肺成纤维细胞中 TGFβI 和促纤维化基因的表达来减弱肺纤维化[56].最近来自北卡罗莱纳州立大学的程柯教授团队研究还发现,源自肺球体细胞(包含祖细胞)的外泌体可以减弱和解决博来霉素和二氧化硅诱导的纤维化,这些外泌体中就包含 let-7 和 miR-99 家族[57].从以上这些研究可以看出,EVsmiRNAs 可能是治疗 IPF 的重要靶点.

骨性关节炎(Osteoarthritis,OA)是一种慢性进行性的肌肉骨骼疾病,以软骨的进行性损坏为特征.有研究证实从滑液中分离的 EVs 参与了骨性关节炎的形成[58].Evs miRNAs 表达谱进一步显示,miR-6878,miR-4797,miR-6076 和 miR-561 主要在男性 OA 中富集;miR-24,miR-23a,miR-26a 主要在女性 OA 中高表达并靶向 TLR 信号通路.此外,用 OA 来源的 EVs 治疗关节软骨细胞减少了合成代谢基因的表达,同时增加了分解代谢和炎症基因的表达[59].另一项研究表明,SMSCs 释放的外泌体可通过激活 YAP 来刺激关节软骨细胞增殖和迁移,并显著降低 ECM 的分泌.SMSCs(miR-140-5p 过表达)来源的外泌体通过调控 Ras 例如原癌基因 A(RalA)消除了 ECM 分泌减少的副作用,并且有效阻止了大鼠模型中 OA 的进一步发展[60].

在糖尿病方面,几种外泌体 miRNAs 通过调节胰岛素的敏感性发挥作用.KATAYAMA 等人[61]在 2 型糖尿病人群中发现了一种高富集的外泌体 miR-20b-5p.进一步的研究证实,外泌体 miR-20b-5p 通过靶向 AKTIP(AKT Interaction Protein,AKTIP)和 STAT3(signal transducer and activator of transcription 3,STAT3)来降低由于胰岛素刺激产生的糖原积累.同时在糖尿病患者血浆中检测到其他外泌体 miRNAs 水平升高,包括 miR-30,miR-375-3p,miR-342,miR-21-5p,miR-133b,miR-451-5p,let-7c-5p,miR-362-3p,miR-877-3p,miR-150-5p,miR-15a-5p 等.这些外泌体 miRNAs 也可能是治疗 2 型糖尿病的重要靶点[62].

在不同类型的心血管疾病中已验证了几种循环外泌体 miRNAs 的变化.HERGENRIDER 等人[63]发现 EVs miR-143/miR-145 可通过调节平滑肌细胞表型预防动脉粥样硬化斑块,从而减少动脉粥样硬化病变的形成.但另一项研究表明,在成纤维细胞来源的外泌体中检测到 miR-21-3p.miR-21-3p 是一种具有旁分泌作用的 miRNAs,可通过调控 SORBS2 基因(Sorbin and SH3 domain-containing protein 2,SORBS2)和 PDLIM5 基因(PDZ and LIM domain 5,PDLIM5)引起心肌细胞肥大[64].但是,外泌体 miRNAs 在心血管疾病中的作用机制仍不明确,需要进一步研究.

4 结论与展望

近年来,关于 EVs miRNAs 的生理功能和疾病中的作用等方面的研究取得一系列进展,已经成为生命

科学领域当前研究的热点.如 EVs miRNAs 可以通过下调或上调相关因子来促进血管生成，抑制细胞凋亡，调节神经元功能等，以此来维持机体的动态平衡.在机体的一些病理过程中，EVs 通过运送 miRNAs 到受体细胞，参与细胞的增殖，迁移和侵袭，是癌症等疾病早期诊断和预后的重要标志物.EVs miRNAs 也可以通过抑制 EMT，ECM 的沉积，激活免疫反应等途径来减弱或减缓损伤，是一些慢性疾病或老年性疾病，如 IPF，肿瘤等治疗的重要靶点.从当前这些研究中不难看出，EVs miRNAs 在疾病中的作用具有双重性，究其原因可能主要与 Evs 的来源，成分和 miRNAs 的种类有关.一方面，目前关于 EVs miRNAs 的研究主要来源于血清/血浆、细胞培养上清液和尿液，而唾液、脑脊液、乳液中 EVs miRNAs 的作用和功能研究的内容还较少.另一方面，Evs 中同时含有 mRNAs，ncRNAs 和蛋白质等成分，miRNAs 与这些分子间的相互作用（如 lncRNA/circ RNA 是 miRNAs 的分子海绵[65-66]）也会造成 EVs miRNAs 的功能差异.此外，现有的 EVs 提纯分离技术亟待进一步优化.一些细胞碎片和非外泌体小泡在大小和密度方面也具有与 EVs 相似的特征，这些细胞碎片和非外泌体小泡也可能是纯化后的 EVs 的成分[67].随着未来技术和方法的进步，将有助于我们进一步认识 Evs miRNAs 功能，为其在临床上的应用提供新的策略.

参　考　文　献

[1] YAMADA M.Extracellular vesicles：Their emerging roles in the pathogenesis of respiratory diseases[J].Respiratory Investigation，2021，59(3)：302-311.

[2] NAKANO M，FUJIMIYA M.Potential effects of mesenchymal stem cell derived extracellular vesicles and exosomal miRNAs in neurological disorders[J].Neural Regeneration Research，2021，16(12)：2359-2366.

[3] KULKARNI B，KIRAVE P，GONDALIYA P，et al.Exosomal miRNA in chemoresistance，immune evasion，metastasis and progression of cancer[J].Drug Discovery Today，2019，24(10)：2058-2067.

[4] VAN BALKOM B W，DE JONG O G，SMITS M，et al.Endothelial cells require miR-214 to secrete exosomes that suppress senescence and induce angiogenesis in human and mouse endothelial cells[J].Blood，2013，121(19)：3997-4006.

[5] TADOKORO H，UMEZU T，OHYASHIKI K，et al.Exosomes derived from hypoxic leukemia cells enhance tube formation in endothelial cells[J].The Journal of Biological Chemistry，2013，288(48)：34343-34351.

[6] CANTALUPPI V，BIANCONE L，FIGLIOLINI F，et al.Microvesicles derived from endothelial progenitor cells enhance neoangiogenesis of human pancreatic islets[J].Cell Transplant，2012，21(6)：1305-1320.

[7] BARILE L，LIONETTI V，CERVIO E，et al.Extracellular vesicles from human cardiac progenitor cells inhibit cardiomyocyte apoptosis and improve cardiac function after myocardial infarction[J].Cardiovascular Research，2014，103(4)：530-541.

[8] UMEZU T，OHYASHIKI K，KURODA M，et al.Leukemia cell to endothelial cell communication via exosomal miRNAs[J].Oncogene，2013，32(22)：2747-2755.

[9] LIANG X，ZHANG L，WANG S，et al.Exosomes secreted by mesenchymal stem cells promote endothelial cell angiogenesis by transferring miR-125a[J].Journal of Cell Science，2016，129(11)：2182-2189.

[10] 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].International Journal of Cardiology，2015，192：61-69.

[11] FENG Y，HUANG W，WANI M，et al.Ischemic preconditioning potentiates the protective effect of stem cells through secretion of exosomes by targeting Mecp2 via miR-22[J].Plos One，2014，9(2)：e88685.

[12] DENG Y，CHEN D，GAO F，et al.Exosomes derived from microRNA-138-5p-overexpressing bone marrow-derived mesenchymal stem cells confer neuroprotection to astrocytes following ischemic stroke via inhibition of LCN2[J].Journal of Biological Engineering，2019，13：71.

[13] FURUTA T，MIYAKI S，ISHITOBI H，et al.Mesenchymal stem cell-derived exosomes promote fracture healing in a mouse model[J].Stem Cells Translational Medicine，2016，5(12)：1620-1630.

[14] SUN Y，XU L，HUANG S et al.mir-21 overexpressing mesenchymal stem cells accelerate fracture healing in a rat closed femur fracture model[J].BioMed Research International，2015，2015：412327.

[15] GERLACH C V，VAIDYA V S.MicroRNAs in injury and repair[J].Archives of Toxicology，2017，91(8)：2781-2797.

[16] QIN Y，WANG L，GAO Z，et al.Bone marrow stromal/stem cell-derived extracellular vesicles regulate osteoblast activity and differentiation in vitro and promote bone regeneration in vivo[J].Scientific Reports，2016，6：21961.

[17] TAO S C，YUAN T，ZHANG Y L，et al.Exosomes derived from miR-140-5p-overexpressing human synovial mesenchymal stem cells enhance cartilage tissue regeneration and prevent osteoarthritis of the knee in a rat model[J].Theranostics，2017，7(1)：180-195.

[18] LAFOURCADE C，RAMiREZ J P，LUARTE A，et al.MiRNAs in astrocyte-derived exosomes as possible mediators of neuronal plasticity

[J].Ournal of Experimental Neuroscience,2016,10:1-9.

[19] XIN H,LI Y,LIU Z,et al.MiR-133b promotes neural plasticity and functional recovery after treatment of stroke with multipotent mesenchymal stromal cells in rats via transfer of exosome-enriched extracellular particles[J].Stem Cells,2013,31(12):2737-2746.

[20] XIN H,KATAKOWSKI M,WANG F,et al.MicroRNA cluster miR-17-92 cluster in exosomes enhance neuroplasticity and functional recovery after stroke in rats[J].Stroke,2017,48(3):747-753.

[21] MAO L,LI X,GONG S,et al.Serum exosomes contain ECRG4 mRNA that suppresses tumor growth via inhibition of genes involved in inflammation,cell proliferation,and angiogenesis[J].Cancer Gene Therapy,2018,25(9/10):248-259.

[22] SHERIDAN C.Exosome cancer diagnostic reaches market[J].Nature Biotechnology,2016,34(4):359-360.

[23] HANNAFON B N,TRIGOSO Y D,CALLOWAY C L,et al.Plasma exosome microRNAs are indicative of breast cancer[J].Breast Cancer Research,2016,18(1):90.

[24] LE M T,HAMAR P,GUO C,et al.miR-200-containing extracellular vesicles promote breast cancer cell metastasis[J].The Journal of Clinical Investigation,2014,124(12):5109-5128.

[25] ZHOU W,FONG M Y,MIN Y,et al.Cancer-secreted miR-105 destroys vascular endothelial barriers to promote metastasis[J].Cancer Cell,2014,25(4):501-515.

[26] WANG H,HOU L,LI A,et al.Expression of serum exosomal microRNA-21 in human hepatocellular carcinoma[J].BioMed Research International,2014,2014:864894.

[27] FANG T,LYU H,LYU G,et al.Tumor-derived exosomal miR-1247-3p induces cancer-associated fibroblast activation to foster lung metastasis of liver cancer[J].Nature Communications,2018,9(1):e191.

[28] SASAKI R,KANDA T,YOKOSUKA O,et al.Exosomes and hepatocellular carcinoma:from bench to bedside[J].International Journal of Molecular Sciences,2019,20(6):1-18.

[29] ZHAO Q,CAO J,WU Y C,et al.Circulating miRNAs is a potential marker for gefitinib sensitivity and correlation with EGFR mutational status in human lung cancers[J].American Journal of Cancer Research,2015,5(5):1692-1705.

[30] JIN X,CHEN Y,CHEN H,et al.Evaluation of tumor-derived exosomal miRNA as potential diagnostic biomarkers for early-Stage non-small cell lung cancer using next-generation sequencing[J].Clinical Cancer Research,2017,23(17):5311-5319.

[31] HSU Y L,HUNG J Y,CHANG W A,et al.Hypoxic lung cancer-secreted exosomal miR-23a increased angiogenesis and vascular permeability by targeting prolyl hydroxylase and tight junction protein ZO-1[J].Oncogene,2017,36(34):4929-4942.

[32] HSU Y L,HUNG J Y,CHANG W A,et al.Hypoxic lung-cancer-derived extracellular vesicle microRNA-103a increases the oncogenic effects of macrophages by targeting PTEN[J].Molecular Therapy,2018,26(2):568-581.

[33] OGATA-KAWATA H,IZUMIYA M,KURIOKA D,et al.Circulating exosomal microRNAs as biomarkers of colon cancer[J].Plos One,2014,9(4):e9292.

[34] WANG J,YAN F,ZHAO Q,et al.Circulating exosomal miR-125a-3p as a novel biomarker for early-stage colon cancer[J].Scientific Reports,2017,7(1):e4150.

[35] MATSUMURA T,SUGIMACHI K,IINUMA H,et al.Exosomal microRNA in serum is a novel biomarker of recurrence in human colorectal cancer[J].British Journal of Cancer,2015,113(2):275-281.

[36] TSUKAMOTO M,IINUMA H,YAGI T,et al.Circulating exosomal microRNA-21 as a biomarker in each tumor stage of colorectal cancer[J].Oncology,2017,92:360-370.

[37] MOON P G,LEE J E,CHO Y E,et al.Identification of developmental endothelial locus-1 on circulating extracellular vesicles as a novel biomarker for early breast cancer detection[J].Clinical Cancer Research,2016,22(7):1757-1766.

[38] XIE Y,JIA Y,CUIHUA X,et al.Urinary exosomal microRNA profiling in incipient type 2 diabetic kidney disease[J].Journal of Diabetes Research,2017,2017:6978984.

[39] BARUTTA F,TRICARICO M,CORBELLI A,et al.Urinary exosomal microRNAs in incipient diabetic nephropathy[J].Plos One,2013,8(11):e73798.

[40] KIM S M,YANG Y,OH S J,et al.Cancer-derived exosomes as a delivery platform of CRISPR/Cas9 confer cancer cell tropism-dependent targeting[J].Journal of Controlled Release,2017,266:8-16.

[41] ZHAO T,SUN F,LIU J,et al.Emerging role of mesenchymal stem cell-derived exosomes in regenerative medicine[J].Current Stem Cell Research & Therapy,2019,14(6):482-494.

[42] OHNO S,TAKANASHI M,SUDO K,et al.Systemically injected exosomes targeted to EGFR deliver antitumor microRNA to breast cancer cells[J].Molecular Therapy,2013,21(1):185-191.

[43] XIN H,LI Y,BULLER B,et al.Exosome-mediated transfer of miR-133b from multipotent mesenchymal stromal cells to neural cells contributes to neurite outgrowth[J].Stem cells,2012,30(7):1556-1564.

[44] WANG F，LI L，PIONTEK K，et al.Exosome miR-335 as a novel therapeutic strategy in hepatocellular carcinoma[J].Hepatology，2018，67(3)：940-954.

[45] LOU G，SONG X，YANG F，et al.Exosomes derived from miR-122-modified adipose tissue-derived MSCs increase chemosensitivity of hepatocellular carcinoma[J].Journal of Hematology & Oncology，2015，8：122.

[46] CHEN X，ZHOU J，LI X，et al.Exosomes derived from hypoxic epithelial ovarian cancer cells deliver microRNAs to macrophages and elicit a tumor-promoted phenotype[J].Cancer Letters，2018，435：80-91.

[47] KANLIKILICER P，BAYRAKTAR R，DENIZLI M，et al.Exosomal miRNA confers chemo resistance via targeting Cav1/p-gp/M2-type macrophage axis in ovarian cancer[J].EBioMedicine，2018，38：100-112.

[48] JIN G，LIU Y，ZHANG J，et al.A panel of serum exosomal microRNAs as predictive markers for chemoresistance in advanced colorectal cancer[J].Cancer Chemother Pharmacol，2019，84(2)：315-325.

[49] PLANTIER L，CAZES A，DINH-XUAN A T，et al.Physiology of the lung in idiopathic pulmonary fibrosis[J].European Respiratory Review，2018，27(147)：170062.

[50] XIE L，ZENG Y.Therapeutic Potential of Exosomes in Pulmonary Fibrosis[J].Front Pharmacol，2020，11：590972.

[51] FUJITA Y，ARAYA J，ITO S，et al.Suppression of autophagy by extracellular vesicles promotes myofibroblast differentiation in COPD pathogenesis[J].Journal of Extracellular Vesicles，2015，4：28388.

[52] KADOTA T，YOSHIOKA Y，FUJITA Y，et al.Extracellular Vesicles from Fibroblasts Induce Epithelial-Cell Senescence in Pulmonary Fibrosis[J].American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology，2020，63(5)：623-636.

[53] KUSE N，KAMIO K，AZUMA A，et al.Exosome-Derived microRNA-22 Ameliorates Pulmonary Fibrosis by Regulating Fibroblast-to-Myofibroblast Differentiation in Vitro and in Vivo[J].Journal of Nippon Medical School，2020，87(3)：118-128.

[54] YAO M Y，ZHANG W H，MA W T，et al.microRNA-328 in exosomes derived from M2 macrophages exerts a promotive effect on the progression of pulmonary fibrosis via FAM13A in a rat model[J].Experimental & Molecular Medicine，2019，51(6)：1-16.

[55] WANG D，HAO C，ZHANG L，et al.Exosomal miR-125a-5p derived from silica-exposed macrophages induces fibroblast transdifferentiation[J].Ecotoxicology and Environmental Safety，2020，192：110253.

[56] GUIOT J，CAMBIER M，BOECKX A，et al.Macrophage-derived exosomes attenuate fibrosis in airway epithelial cells through delivery of antifibrotic miR-142-3p[J].Thorax，2020，75(10)：870-881.

[57] DINH P C，PAUDEL D，BROCHU H，et al.Inhalation of lung spheroid cell secretome and exosomes promotes lung repair in pulmonary fibrosis[J].Nature Communications，2020，11(1)：1064.

[58] DOMENIS R，ZANUTEL R，CAPONNETTO F，et al.Characterization of the proinflammatory profile of synovial fluid-derived exosomes of patients with osteoarthritis[J].Mediators of Inflammation，2017，2017：4814987.

[59] KOLHE R，HUNTER M，LIU S，et al.Gender-specific differential expression of exosomal miRNA in synovial fluid of patients with osteoarthritis[J].Scientific Reports，2017，7(1)：2029.

[60] TAO S C，YUAN T，ZHANG Y L，et al.Exosomes derived from miR-140-5p-overexpressing human synovial mesenchymal stem cells enhance cartilage tissue regeneration and prevent osteoarthritis of the knee in a rat model[J].Theranostics，2017，7(1)：180-195.

[61] KATAYAMA M，WIKLANDER O P B，FRITZ T，et al.Circulating exosomal miR-20b-5p is elevated in type 2 diabetes and could impair insulin action in human skeletal muscle[J].Diabetes，2019，68(3)：515-526.

[62] CHANG W，WANG J.Exosomes and their noncoding RNA cargo are emerging as new modulators for diabetes mellitus[J].Cells，2019，8(8)：853.

[63] HERGENREIDER E，HEYDT S，TRéGUER K，et al.Atheroprotective communication between endothelial cells and smooth muscle cells through miRNAs[J].Nature Cell Biology，2012，14(3)：249-256.

[64] BANG C，BATKAI S，DANGWAL S，et al.Cardiac fibroblast-derived microRNA passenger strand-enriched exosomes mediate cardiomyocyte hypertrophy[J].The Journal of Clinical Investigation，2014，124(5)：2136-2146.

[65] ZHANG H，ZHU L，BAI M，et al.Exosomal circRNA derived from gastric tumor promotes white adipose browning by targeting the miR-133/PRDM16 pathway[J].International Journal of Cancer，2018，144(10)：2501-2515.

[66] XU H，CHEN Y，DONG X，et al.Serum Exosomal Long Noncoding RNAs ENSG00000258332.1 and LINC00635 for the Diagnosis and Prognosis of Hepatocellular Carcinoma[J].Cancer Epidemiology，Biomarkers & Prevention，2018，27(6)：710-716.

[67] ROCCARO A M，SACCO A，MAISO P，et al.BM mesenchymal stromal cell-derived exosomes facilitate multiple myeloma progression [J].The Journal of Clinical Investigation，2013，123(4)：1542-1555.

(下转第 113 页)

positive to these three genes. Further chemical analysis by HPLC showed that the strain was capable of producing CYN toxin with a yield of 1 258.6 μg/g. This study increased the number of toxic *Cylindrospermopsis* strains in China, and also showed the adaptation and stability of *Cylindrospermopsis* species to a certain extent. The detection of CYN producing cyanobacteria, combining DNA detection and chemical detection by HPLC, has been applied again in this study. The methods and results of this study can suggest that Lake Xianghu, as an important drinking water source in Hangzhou, should introduce the detection of *Cylindrospermopsis* and CYN in water environmental and ecological monitoring in the future. The present study provides an important scientific basis and technical support for the monitoring of *Cylindrospermopsis* and its toxins.

Keywords: *Cylindrospermopsis raciborskii*; morphological characteristics; cylindrospermopsin; *Cyr*; cyanobacterial bloom; Lake Xianghu

[责任编校　刘洋　杨浦]

(上接第 105 页)

The biological function and clinical application of miRNA derived from extracellular vesicles

Yu Guoying, Han Zongyuan, Wang Qiwen

(State Key Laboratory Cell Differentiation and Regulation; Henan International Joint Laboratory of Pulmonary Fibrosis; Institute of Biomedical Science; Henan Center for Outstanding Overseas Scientists of Pulmonary Fibrosis; College of Life Sciences; Overseas Expertise Introduction Center for Discipline Innovation of Pulmonary Fibrosis, Henan Normal University, Xinxiang 453007, China)

Abstract: Recently, accumulative attention has been paid to extracellular vesicles(EVs), membrane-enclosed particles, which can be divided into three categories: exosomes, microvesicles and apoptotic bodies. Functionally, EVs can convey nucleic acids(DNA, mRNA and noncoding RNAs), proteins and etc. between cells and tissues. microRNAs(miRNAs), as critically and post-transcriptionally regulating gene expression, have also been found in EVs. Recent evidence has indicated that EVs-derived miRNAs(EVs miRNAs)are critically involved in maintaining normal homeostasis. Herein, we review the physiological functions of EVs miRNAs, and discuss their possible application in the diagnosis and treatment of diverse diseases.

Keywords: extracellular vesicles; miRNAs; biological function; diagnosis; therapy

[责任编校　刘洋　杨浦]

本 期 专 家 介 绍

白正宇，河南师范大学化学化工学院教授，博士，博士生导师，国家优秀青年基金获得者，河南省高校科技创新团队带头人.主要研究方向为绿色新能源纳米结构材料、新型能量或物质转化电催化剂，包括燃料电池、金属—空气电池、二氧化碳和氮气还原等电催化材料的绿色仿生合成及性能研究.主持国家优秀青年基金、面上项目、青年基金等国家项目 3 项，主持河南省高校科技创新团队支持计划、河南省基础与前沿技术研究等省部级项目 4 项.在 *Nat Commun*，*Angew Chem Int Ed*，*Adv Mater*，*Adv Energy Mater*，*Adv Funct Mater* 等国际刊物上发表 SCI 收录论文 80 余篇，3 篇为 ESI 高被引论文，4 篇为封面论文.研究成果分别被 *Nature Review Materials* 作为研究亮点专题报道、受邀在 Wiley 等官方网站进行视频报道.获授权发明专利 12 件.受邀在国际和全国学术会议作邀请或主题报告 8 次.2018 年获第四届国际电化学科学与技术大会(EEST2018)“杰出青年学者”称号.

杨红生，中国科学院海洋研究所研究员，博士，博士生导师.现任中国科学院海洋研究所/烟台海岸带研究所常务副所长.兼任中国海洋湖沼学会副理事长、秘书长，中国自然资源学会副理事长，中国海洋湖沼学会棘皮动物分会理事长等.长期从事养殖生态学、海参遗传育种与养殖、海洋牧场建设等研究.2009 年入选“新世纪百千万人才工程”国家级人选和“山东省有突出贡献的中青年专家”，2015 年入选泰山学者特聘专家，2016 年入选山东省智库岗位专家，2017 年任农业部海洋牧场建设专家咨询委员会副主任/委员，2018 年入选“渔业科技创新领军人才”等，2021 年入选国家生态环境保护领军人才.并担任《海洋科学》主编、*Aquaculture and Fisheries* 副主编、*Korean Journal of Malacology* 编委、*Journal of Ocean University of China (English Edition)*编委等.曾获山东省技术发明奖一等奖 1 项(2011)、山东省科技进步奖一等奖 2 项(2005、2014)、中国科学院科技促进发展奖 1 项(2017).

余国营，河南师范大学卓越人才特聘教授，博士，博士生导师，河南师范大学生命科学学院院长，河南省—科技部共建细胞分化调控国家重点实验室培育基地主任，国家肺纤维化生物学学科创新引智基地(111 计划)主任.中国科学院“百人计划”，河南省卫生计生科技创新人才“51282”工程专家，河南省呼吸学科重点学科学术带头人，中国细胞生物学学会理事.自 2005 年以来，一直在美国匹兹堡大学、耶鲁大学从事特发性肺纤维化及肺癌发病机理和治疗对策的应用基础研究.主持美国 NIH 基金项目、国家重点研发项目和科技部新冠肺炎应急攻关专项等项目，在 *Nature Medicine*，*PNAS*，*AJRCCM*，*EMBO*，*AJP*，*Cancer Research* 等杂志发表论文 80 余篇.获得美国专利授权 11 件，中国专利受理 1 件.曾获中国科协青年科学家奖、国际肺与气道纤维化组织青年科学家奖、肺纤维化基金会 Albert 科学家成就奖.