



# 读书报告

2018-05-19

张文雅



**Exosomes derived from mature dendritic cells increase  
endothelial inflammation and atherosclerosis *via* membrane  
TNF- $\alpha$  mediated NF- $\kappa$ B pathway**

**Wei Gao<sup>a, #</sup>, Haibo Liu<sup>a, #</sup>, Jie Yuan<sup>a, b, #</sup>, Chaoneng Wu<sup>a</sup>, Dong Huang<sup>a</sup>, Yuanji Ma<sup>a</sup>, Jianbing  
Zhu<sup>a</sup>, Leilei Ma<sup>a</sup>, Junjie Guo<sup>a</sup>, Hongtao Shi<sup>a</sup>, Yunzeng Zou<sup>a, b, \*</sup>, Junbo Ge<sup>a, b, \*</sup>**

<sup>a</sup> *Shanghai Institute of Cardiovascular Diseases, Zhongshan Hospital, Fudan University, Shanghai, China*

<sup>b</sup> *Institute of Biomedical Science, Fudan University, Shanghai, China*



# 目录

01 研究背景

02 材料方法

03 实验结果

04 讨论分析



# 01

## 研究背景



# 研究背景

动脉粥样硬化的第一步是内皮细胞的激活，内皮细胞制备黏附分子如血管细胞黏附分子-1（VCAM-1），细胞间黏附分子-1（ICAM-1）和E-选择素。在黏附分子作用下，单核细胞和中性粒细胞先松散后牢固地附着在内皮细胞上，并进入内皮下空间，在那里它们进行转化并进行动脉粥样硬化过程的下一步。内皮细胞可被各种因素激活，其中许多促炎细胞因子由成熟的树突细胞产生，TNF、IL-6和IL-12。

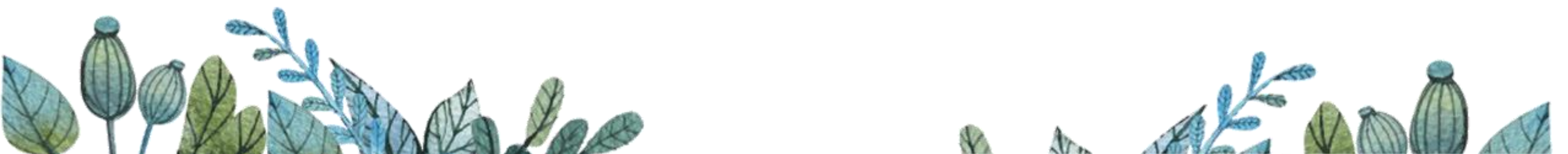


外泌体从细胞释放后，可以分布在生物体液中并被相同或不同类型的细胞摄取，然后相互作用并呈现生物学功能。先前的研究表明DC衍生的外泌体（DC-exos）可以通过膜蛋白或内含的miRNA发挥生物学作用。在本研究的主要目的是调查DC-exos是否参与内皮炎症和动脉粥样硬化。



# 02

## 材料方法





## PKH67染色

前处理：在外泌体中加入0.5ml 稀释液C。

PKH67染色液：在0.5ml 稀释液C中加入4 $\mu$ l PKH67染液。

室温下，外泌体样品在配置好的PKH染色液孵育4min，添加2ml 0.5% 牛血清白蛋白/PBS 。100000g离心1h，PBS重悬外泌体。





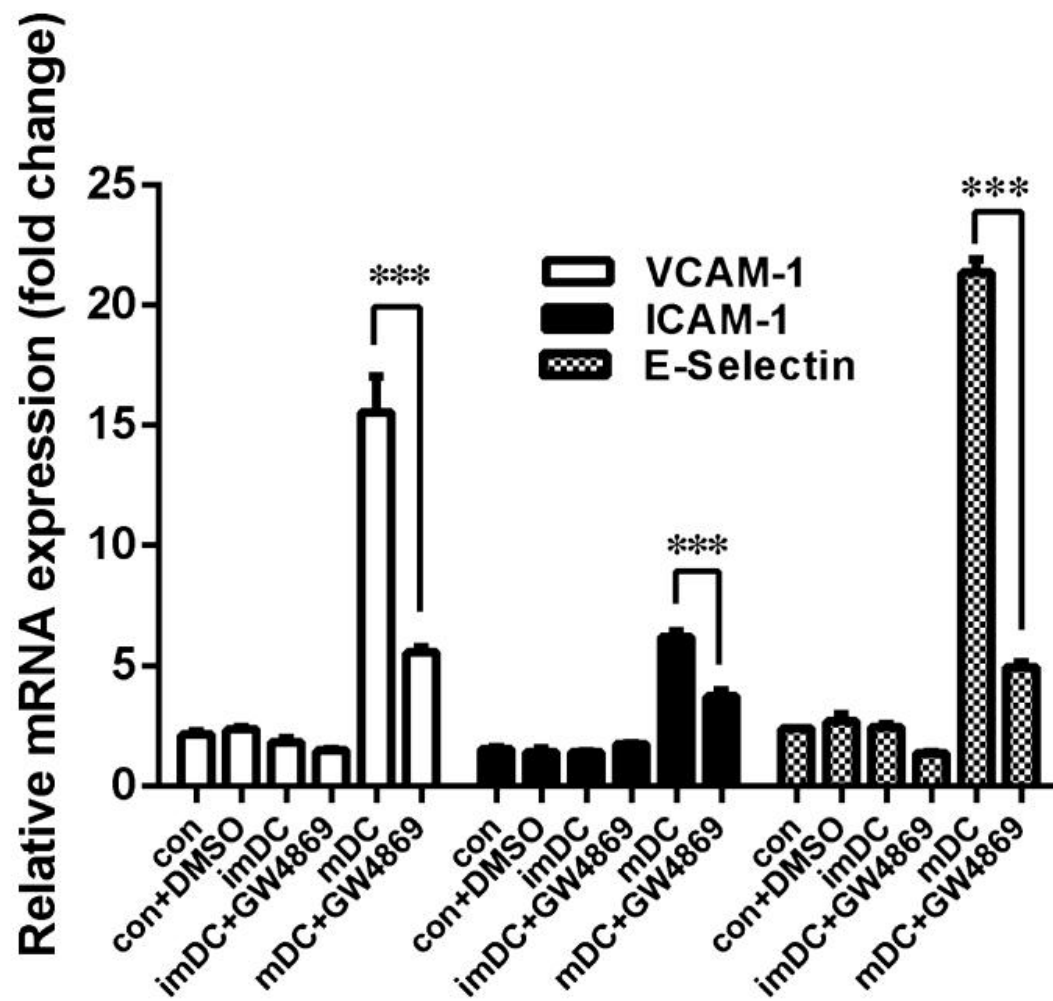
# 03

## 实验结果



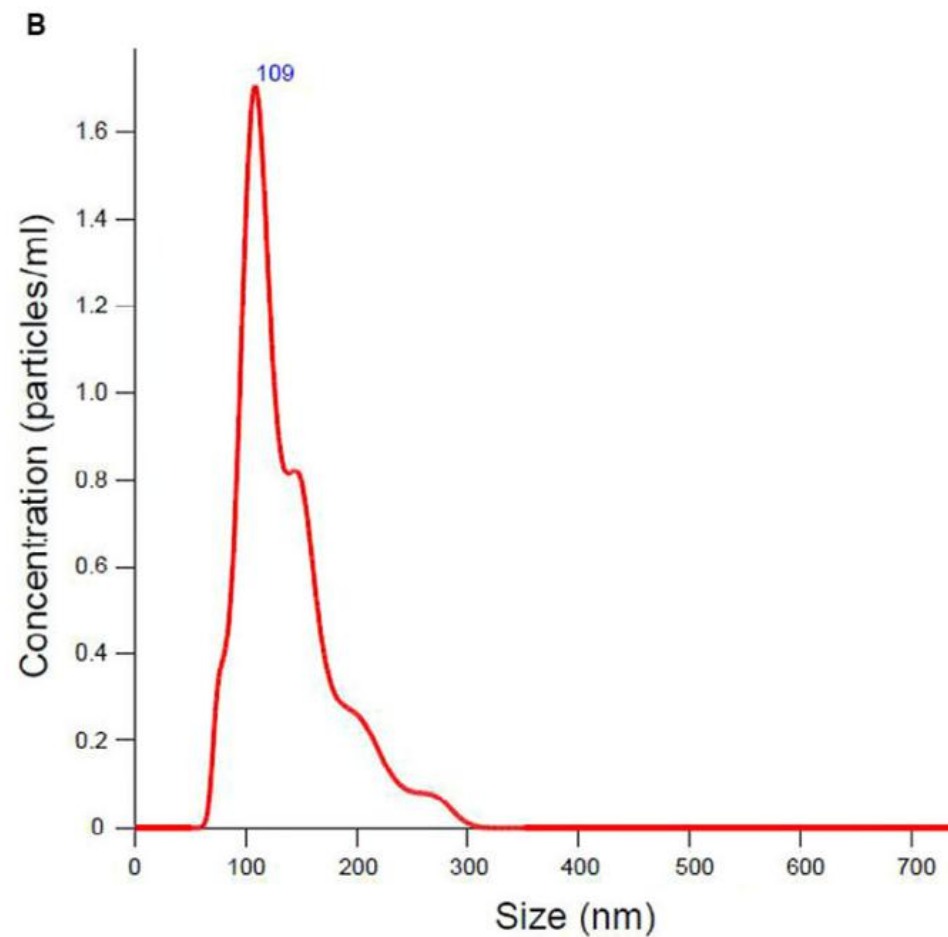
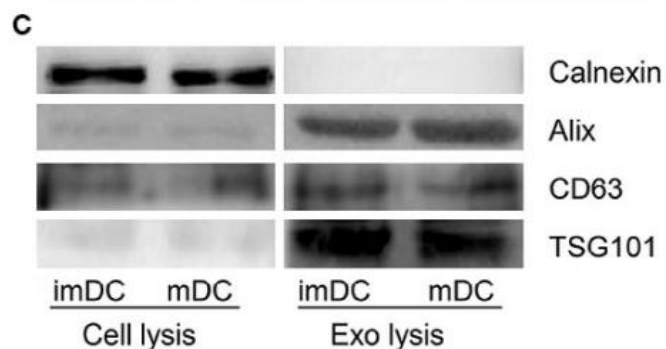
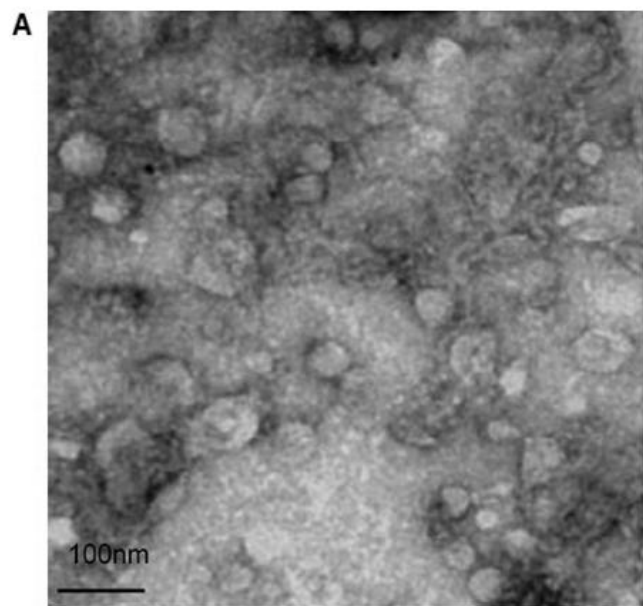
# 实验结果

成熟DCs导致内皮炎症并且外泌体参与该过程



# 实验结果

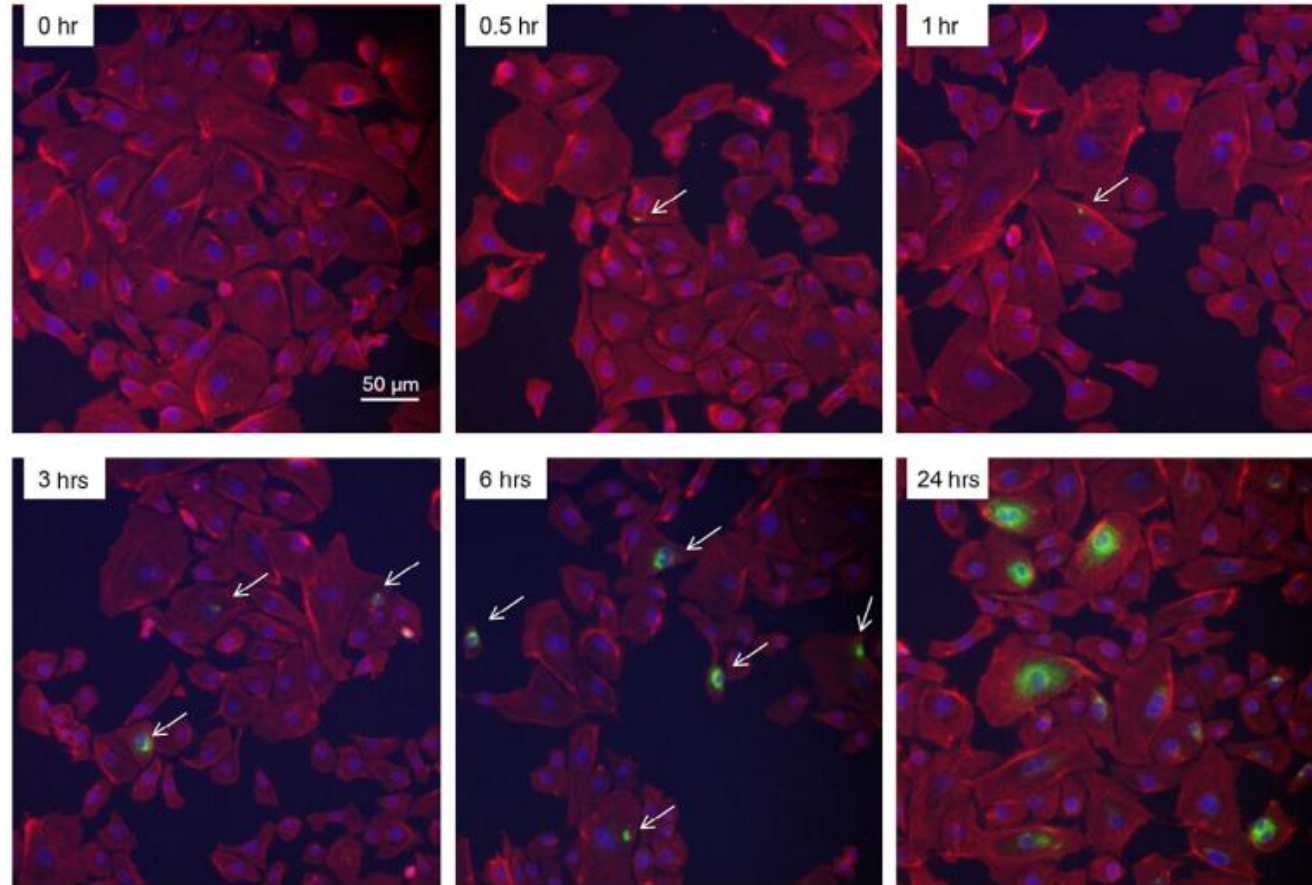
## 从DCs培养基中分离外泌体



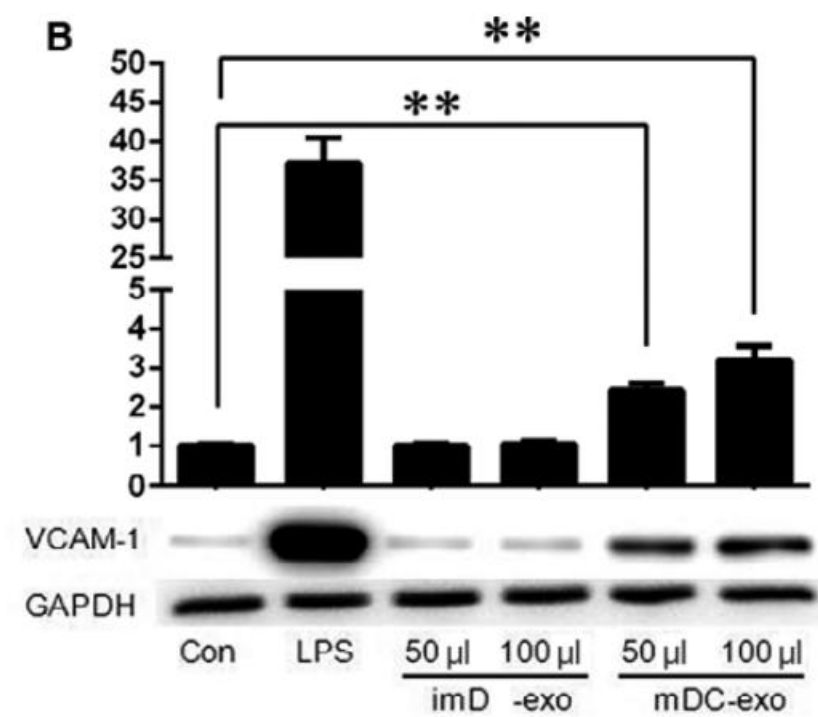
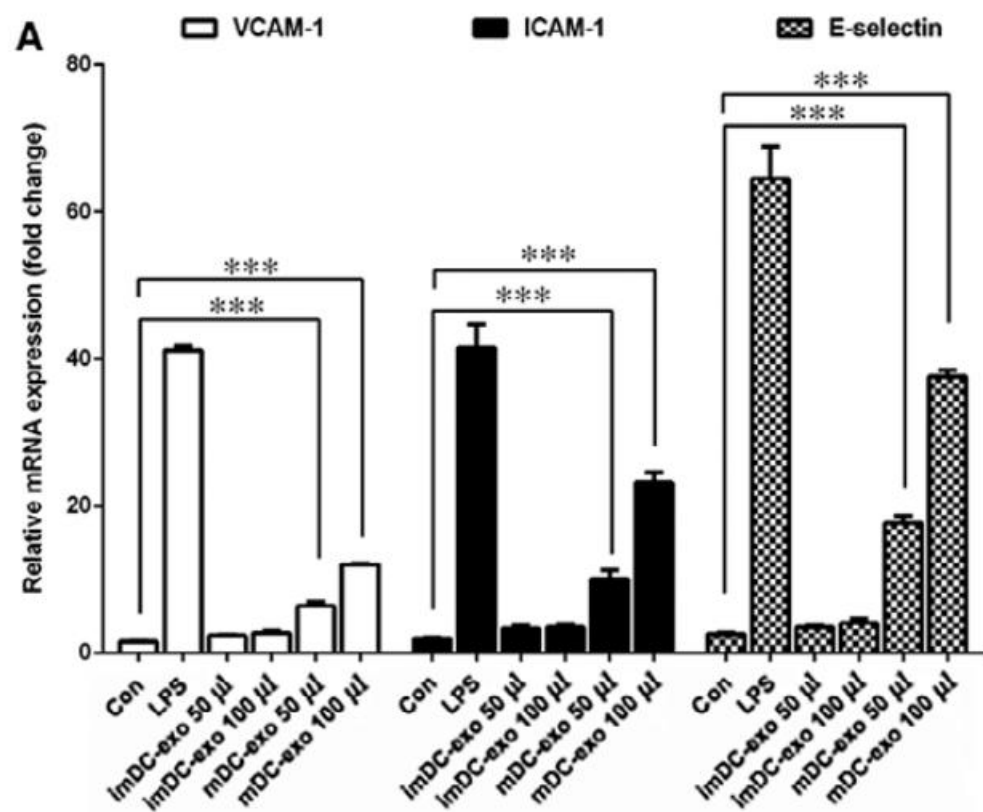
# 实验结果

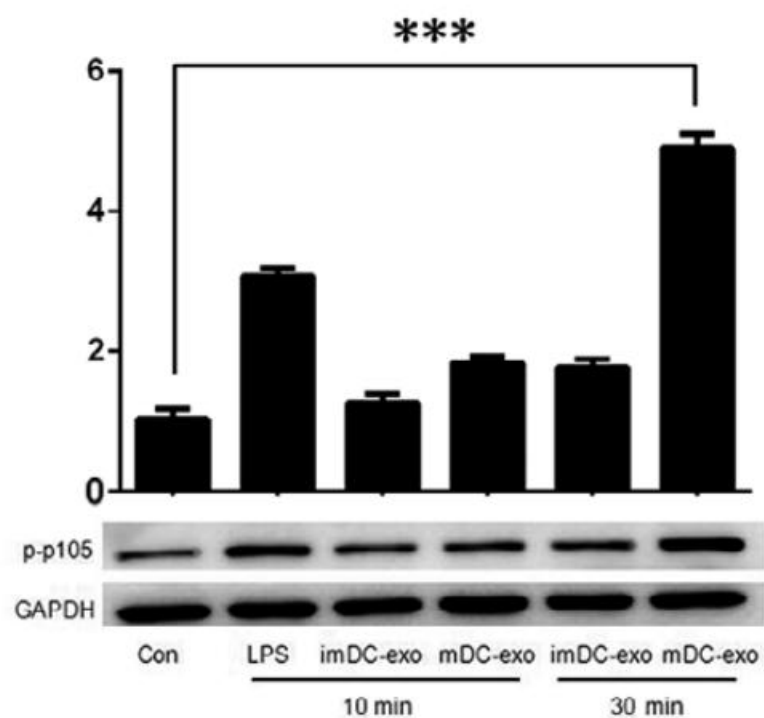
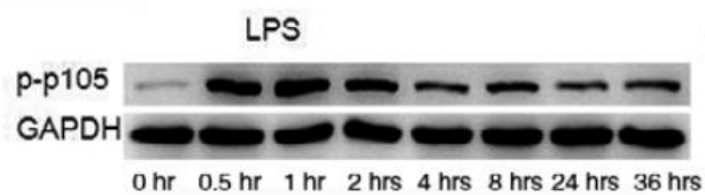
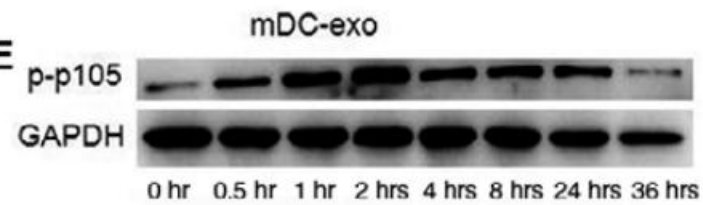
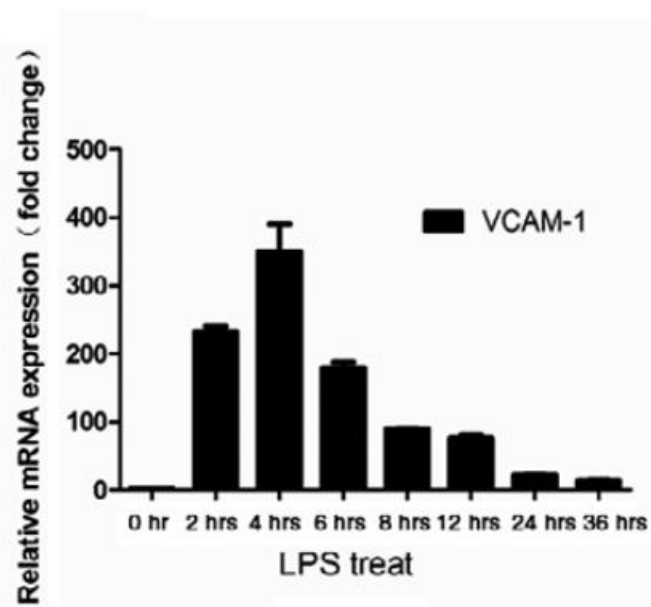
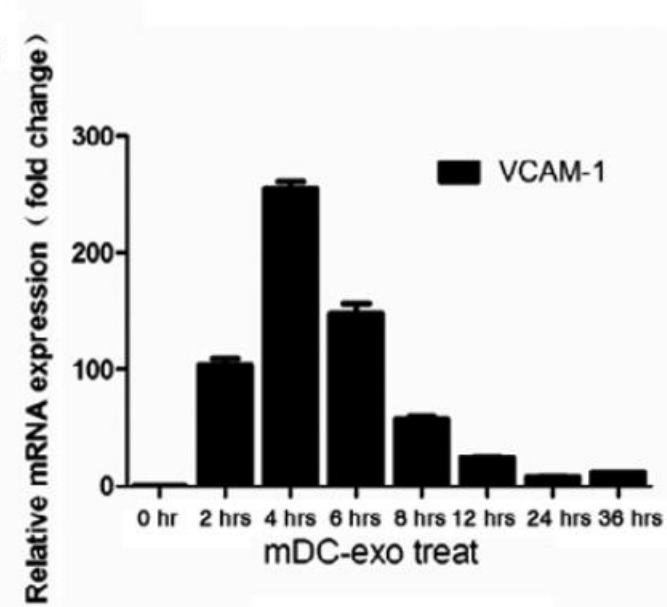
分离的外泌体可通过NF- $\kappa$ B途径诱导HUVEC的炎症

Phalloidin/PKH-67/DAPI



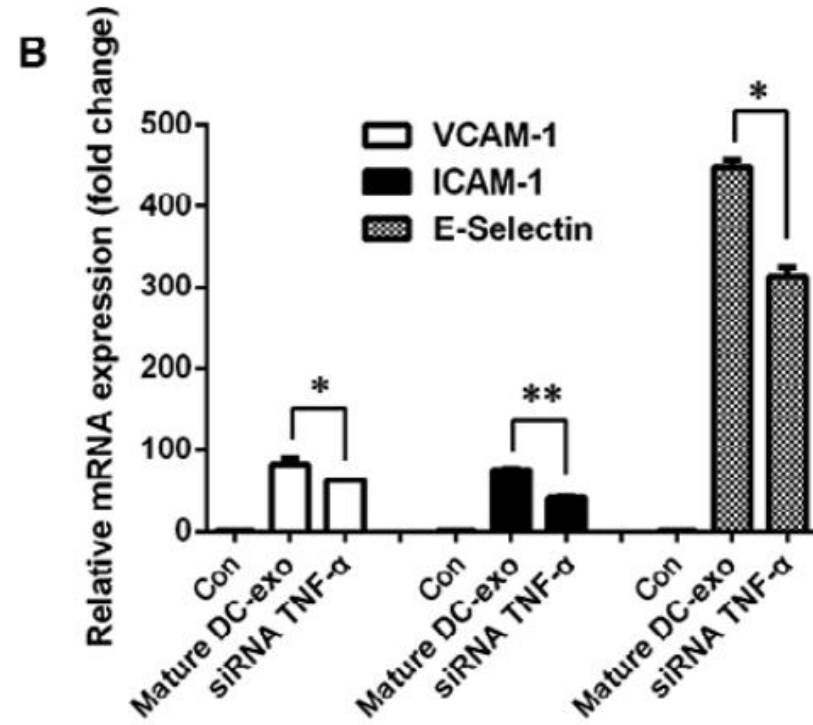
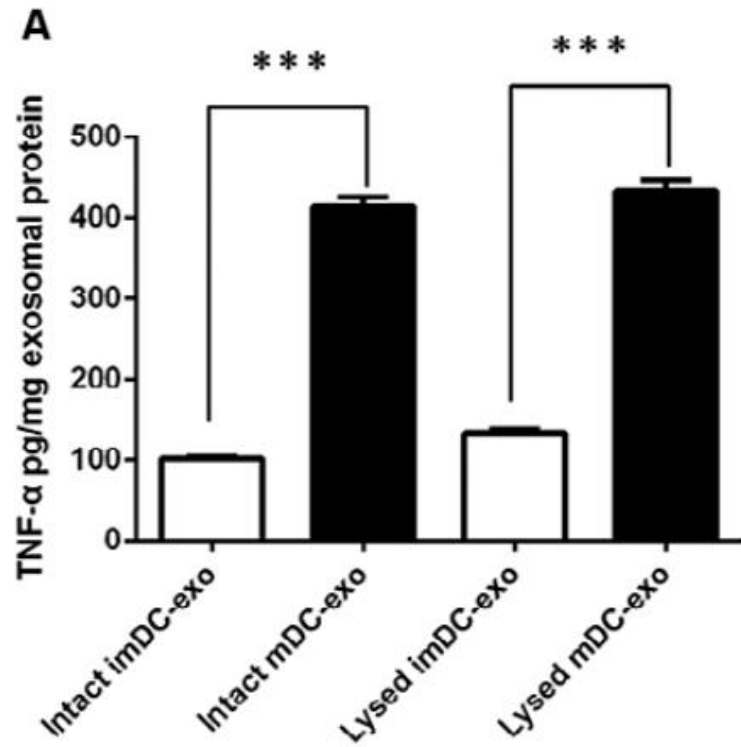
**Fig. 3** The uptake of exosomes by HUVECs. HUVECs were incubated with PKH67-labelled mDC-exos (green) and fixed for confocal imaging. HUVECs were stained with phalloidin (red) and nuclei with DAPI (blue). The incubated time was as indicated (representative image of  $n = 3$ ).

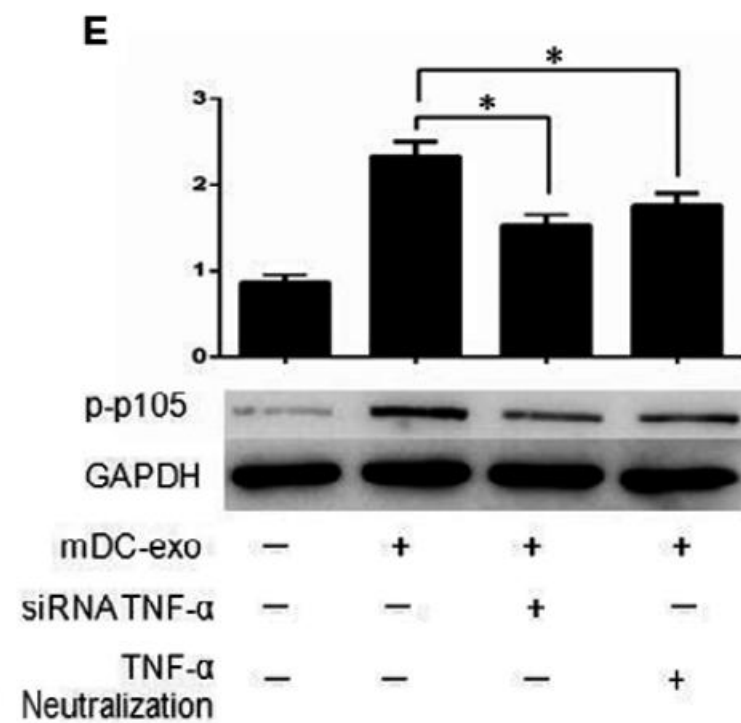
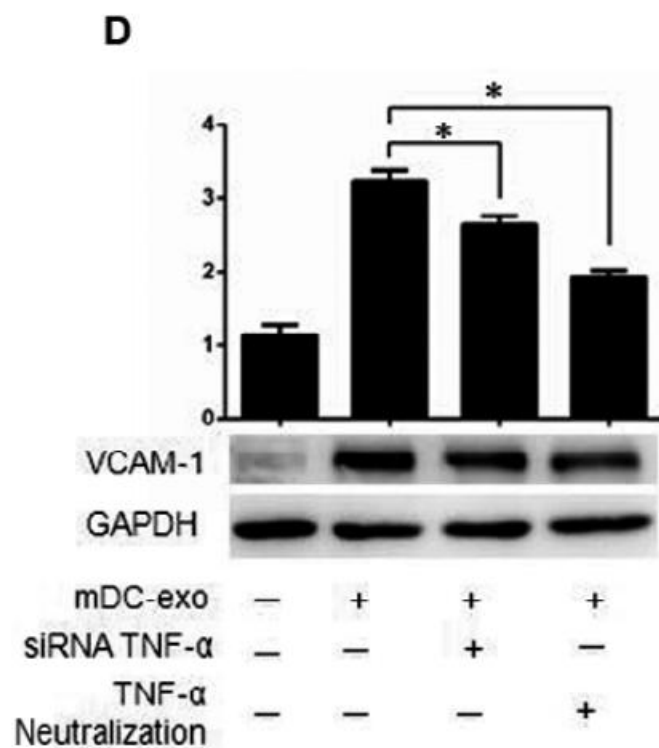
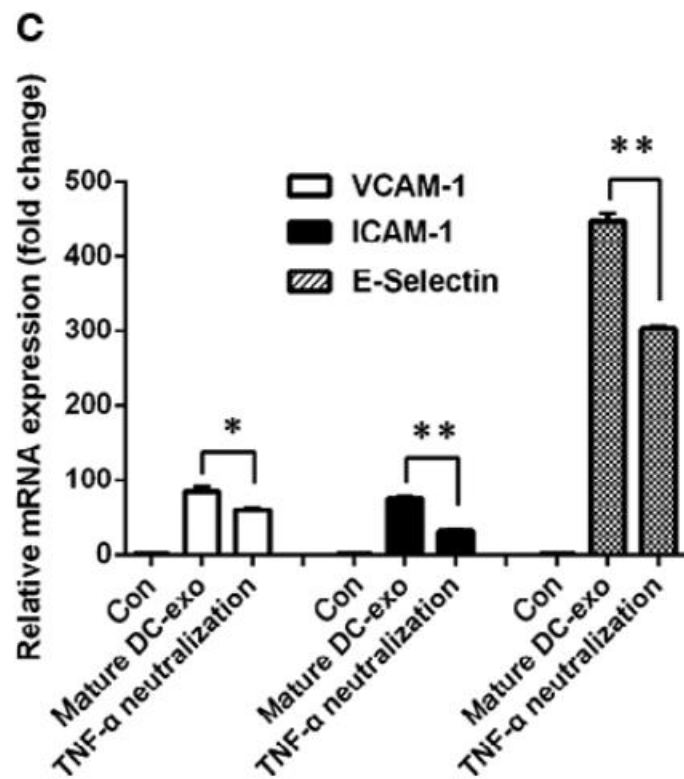


**C****D****E****F****G**

# 实验结果

外泌体膜上的TNF- $\alpha$ 介导NF- $\kappa$ B途径参与HUVECs的激活

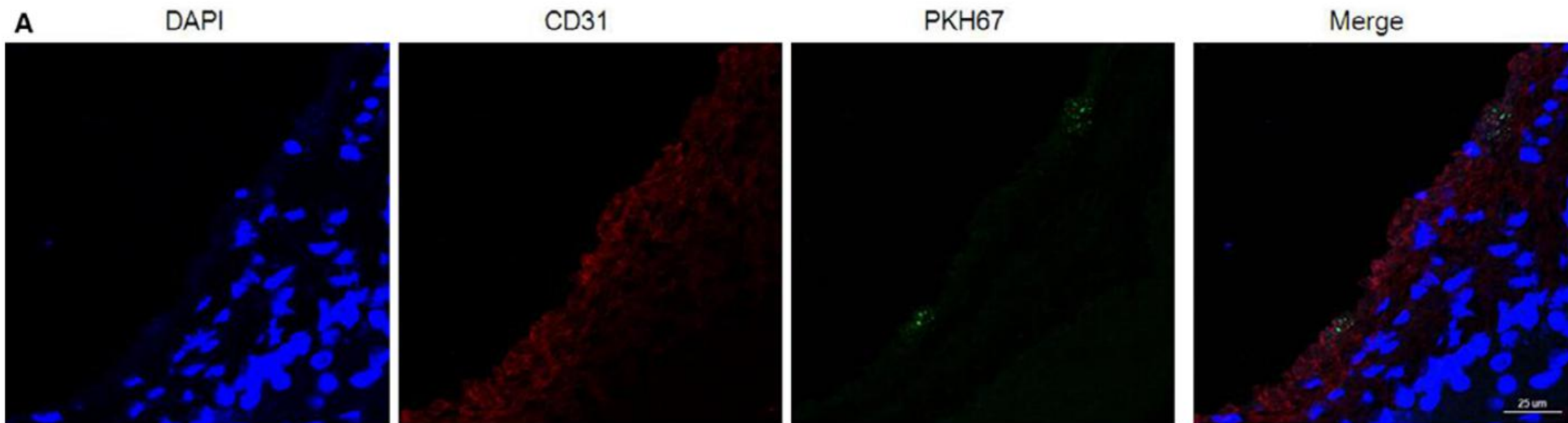


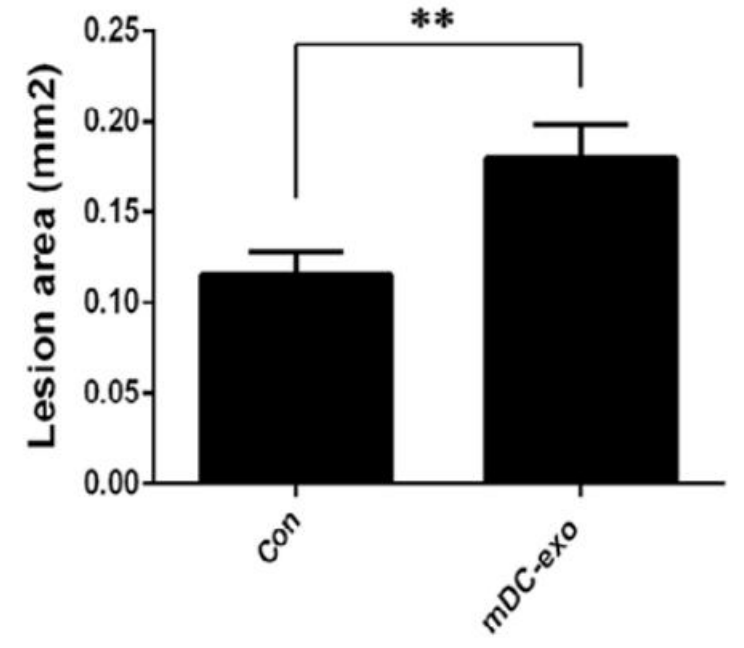
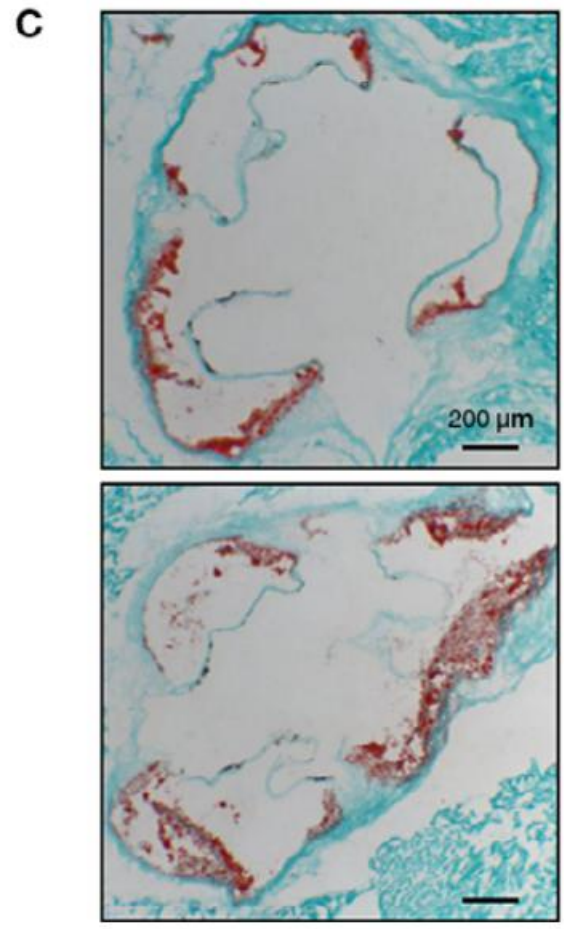
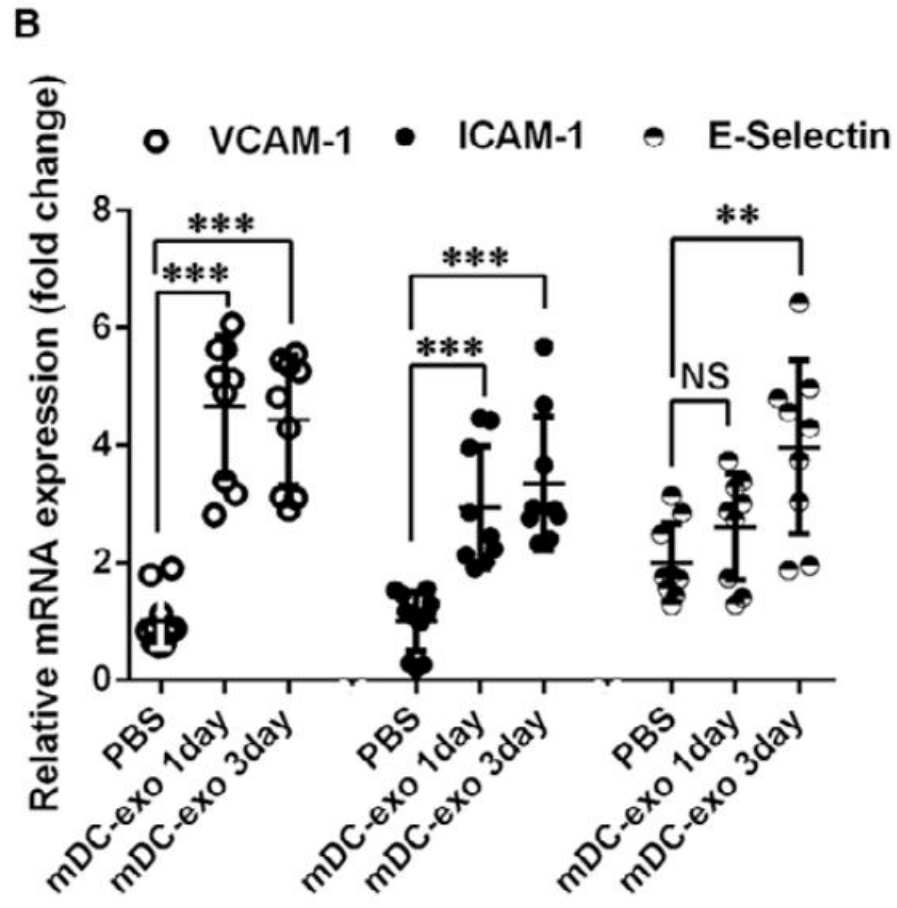




# 实验结果

成熟DC-exos的静脉内给药诱导小鼠内皮炎症和动脉粥样硬化







# 04

## 讨论分析



# 总结

- 这项研究中，首先证明了DC-exos通过膜上TNF- $\alpha$ 介导的NF- $\kappa$ B途径参与内皮炎症。另外，体内研究表明，外泌体可以被主动脉内皮细胞摄取并诱导炎症和动脉粥样硬化。这些发现突出了DC-exos诱导内皮损伤和炎症的新机制。在从母细胞释放后，外泌体分布在体液中并远程发挥生物学功能。该特征提供了树突细胞可以在不直接接触的情况下影响内皮细胞的可能性。

# 讨论

- mDC-exos通过TNF- $\alpha$ 介导NF- $\kappa$ B途径活化内皮细胞，而不是通过miRNA的原因。

mDC-exos激活HUVECs是一个快速的过程。

TNF- $\alpha$ 在mDC-exos中有较高的表达，并且主要表达在外泌体膜上。

下调mDC-exos中TNF- $\alpha$ 的表达，HUVECs的粘附分子表达减弱，表明两者之间存在直接的相互作用。

靶细胞对外泌体的摄取也要经过膜融合，这就要求两种融合膜之间具有相似的流动性。当一个功能分子通过外泌体进行传递时，它可能比它的可溶性形式更活跃。一个明显的例子就是死亡受体的配体，它们在膜上表达的功能比它们的可溶形式更有功能。

- 外泌体阻断剂GW 4869的应用。



欢迎各位老师同学批评指正！

