



# 脂肪组织源外泌体对机体生理和病理的影响

**卢荣华**

Rong-Hua Lu

**河南师范大学**

Henan Normal University

**2017.3.19**





# 目录

概述

脂肪组织的外泌体

脂肪组织外泌体的功能

结论和前景

# 一、外泌体的概述

外泌体是一种纳米囊泡，作为转运蛋白质和**RNAs**的新的细胞间通讯系统出现，近期的研究表明，外泌体在如免疫调节、细胞分化、炎症和肿瘤等许多生理和病理过程中发挥重要作用。通过转运蛋白质、**mRNAs**和**miRNAs**，外泌体作为信息载体改变受体细胞的行为。相比于直接的细胞与细胞接触或分泌因子，外泌体可以以更有效的方式影响受体细胞。

# 一、外泌体的概述

在脂肪组织中，已经有数据表面外泌体存在于脂肪细胞和脂肪基质细胞上清中。脂肪细胞外泌体与脂质代谢和肥胖相关的胰岛素抵抗有关联，脂肪和脂肪基质细胞分泌的外泌体参与血管生成、免疫调节以及肿瘤发展。本次报告介绍了**脂肪组织外泌体的特点**，**总结了他们在不同生理和病理过程中的功能**，提供了对外泌体用于疾病诊断和治疗可能应用的进一步理解。

# 一、外泌体的概述

脂肪组织由约50%成熟脂肪细胞以及基质细胞例如**脂肪母细胞**，前体脂肪细胞，成纤维细胞，免疫细胞，内皮细胞和平滑肌细胞组成。

脂肪组织与其他器官（脑，肝，骨骼肌）系统性地和其他细胞（前脂肪细胞，内皮细胞和单核细胞/巨噬细胞）通过分泌产物进行局部交流，**被认为是机体的一个内分泌器官**。

分泌大量在血管生成，免疫调节，伤口愈合和组织再生中具有作用的蛋白质。除了分泌蛋白质，细胞还可以分泌外泌体，一种胞外囊泡（EV），其可以通过旁分泌或内分泌信号传导修饰和激活靶细胞。

# 一、外泌体的概述



外泌体作为载体通过运输转移蛋白质，mRNA和microRNAs来影响或改变受体细胞的行为（Camussi *et al.*,2013）。外泌体能够被大多数细胞分泌，其形态大小均一、直径为30~100 nm，密度为1.10~1.18 g/ml的脂质双层膜囊泡样小体。

已经显示，外泌体的大小分布不受不同的分离方法影响，但它们的直径可以随着亲本细胞状态的变化而改变。微粒体，微泡，逆转录病毒样颗粒和凋亡小体，其直径与外泌体的直径重叠（表1）

Table 1. Comparison of extracellular vesicles

Extracellular vesicles	Biogenesis	Size	Density	Surface markers	References
Exosomes	Endocytosis and fusion with plasma membrane	30–100 nm	1.10–1.21 g/ml	CD9,63, Alix	(43,44)
Microsomes	Fragments of endoplasmic reticulum	80–120 nm	Average: 1.20 g/ml	GRP78, PDI	(45)
Microvesicles	Outward budding and fission of plasma membrane	50–2000 nm	1.25–1.30 g/ml	ARF6, VCAMP3	(32,46)
Retrovirus-like particles	Direct budding from the plasma membrane	90–100 nm	1.17 g/ml	Gag	(47–49)
Apoptotic bodies	Programmed cell death, disintegration of the cellular content	50–5000 nm	1.18–1.28 g/ml	TSP, C3b	(50)

**Table 1. 胞外囊泡（微粒体，微泡，逆转录病毒样颗粒和凋亡小体）的组成**

# 一、外泌体概述



外泌体中的CD9，CD63，CD81或CD82特别丰富，并且经常用于外泌体生物标记。但CD9也已经在较大的囊泡中检测到。外泌体生物相关蛋白（例如Alix，TSG101，Rab GTPases），热休克蛋白（HSP 60,70,90），细胞骨架蛋白（例如肌动蛋白，微管蛋白，合成素）和粘附蛋白，例如，乳脂肪球-EGF因子VIII（MFG-E8）]也包括在外泌体中。丰富的脂质是外泌体的另一个显著特征。寻找特异性的标记，尤其水产动物组织分泌的外泌体标记，是一个亟待解决的关键问题。



## 二、脂肪组织外泌体

体外研究表明，在脂肪组织（Deng *et al.*,2009），脂肪细胞（Ogawa *et al.*,2010; Koeck *et al.*,2014）和脂肪干细胞（adipose-derived stem cells, ADSC）（Lin *et al.*,2013）的培养液中存在外泌体。Katsuda等人通过纳米颗粒跟踪系统分析发现，ADSC衍生的外泌体有150-200nm，其大于先前报道的。虽然这些直径不符合外泌体的共同标准，但是标记物例如CD63，HSP-70被阳性表达，因此表明外泌体的大小范围可因特定细胞类型而变化。

## 二、脂肪组织外泌体

在外泌体的包含物方面，在正常氧和缺氧培养条件下，在3T3-L1外泌体中鉴定出231种蛋白质。已经在脂肪细胞衍生的外泌体中报道了可能导致脂肪酸产生的酶（脂肪酸合酶（FASN），乙酰辅酶A羧化酶（ACC）和葡萄糖-6-磷酸脱氢酶（G6PD））。类似的研究发现从脂肪细胞释放的外泌体具体抗脂解和增强脂肪生成的作用（Muller *et al.*,2010

231!

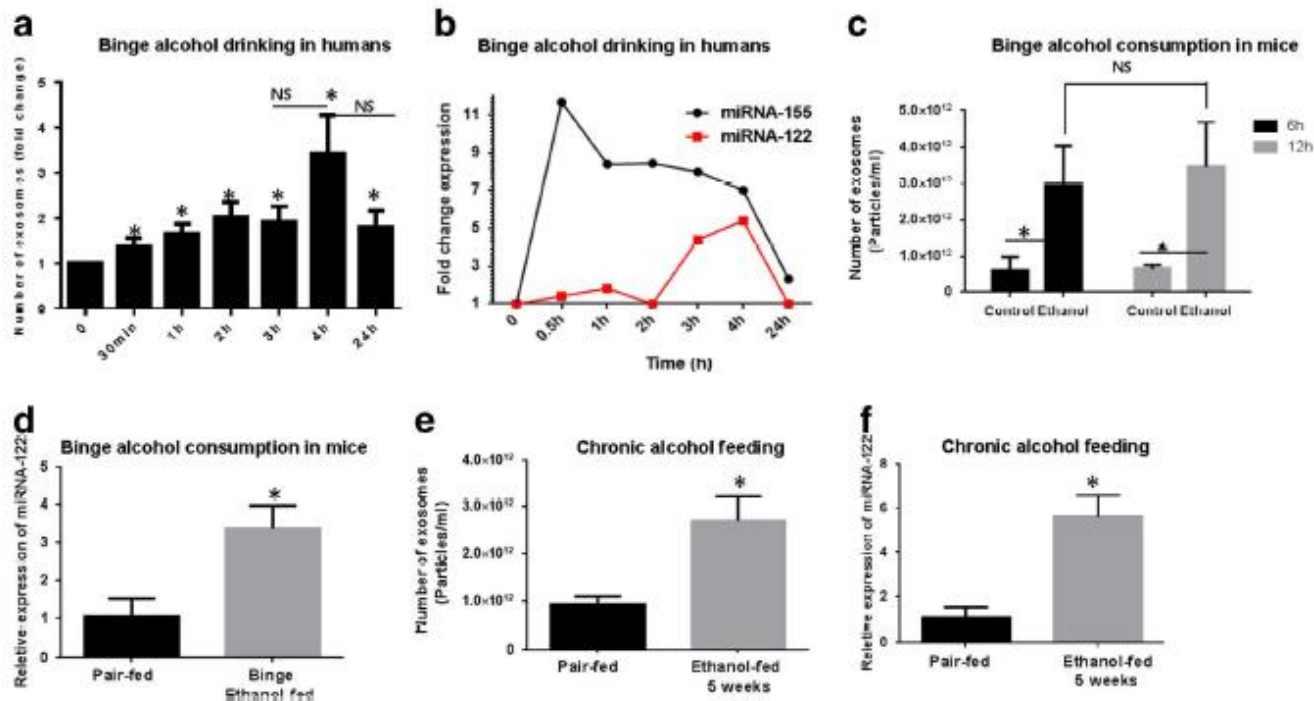
## 二、脂肪组织外泌体

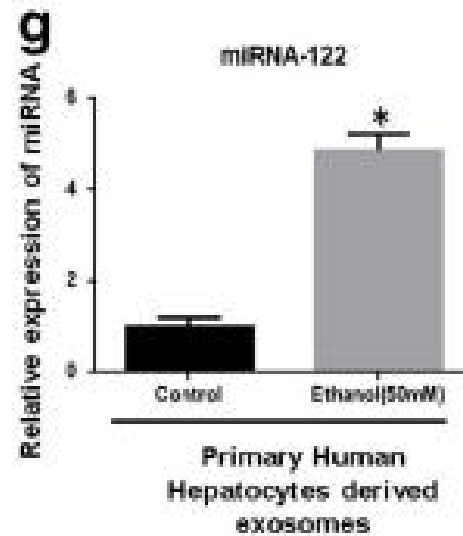
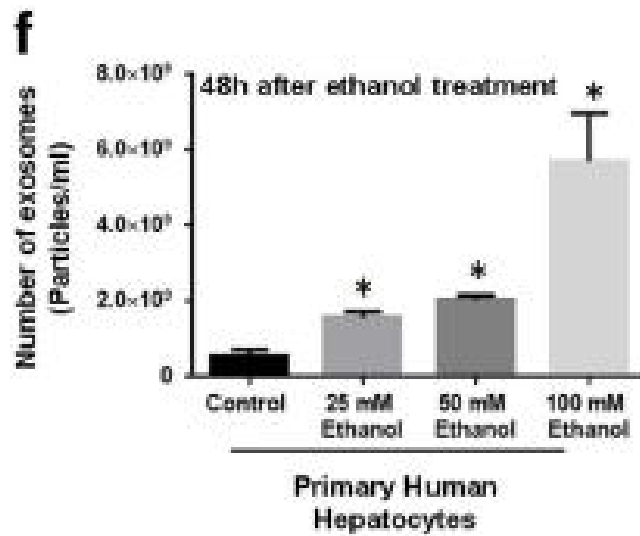
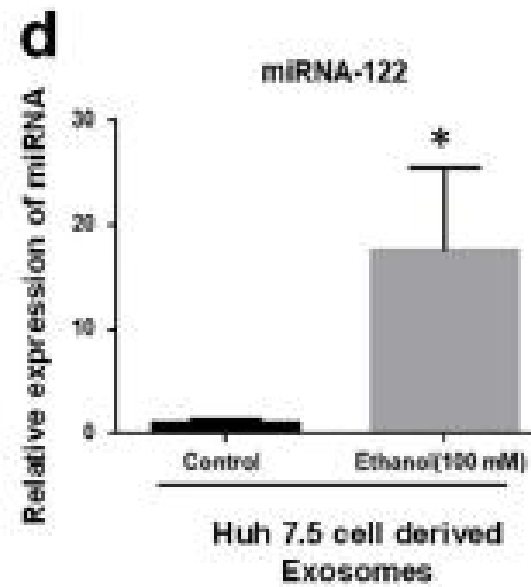
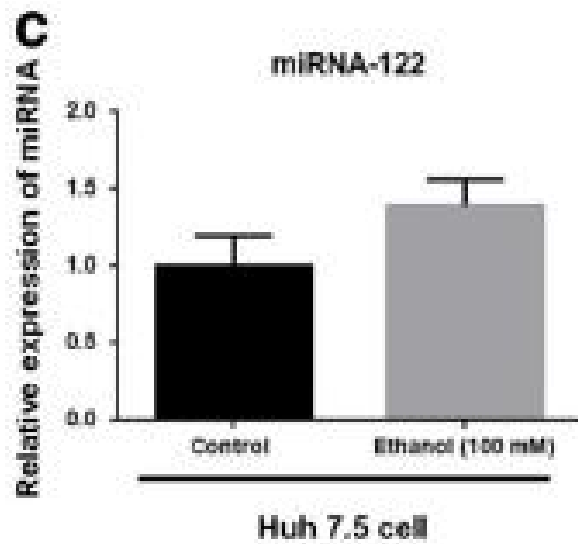
在诱导成脂的3T3-L1细胞或来自血清的外泌体中也发现了一些脂肪形成关键转录因子或细胞因子（例如PPAR $\gamma$ 2，脂联素，瘦素，抵抗素），这些基因的表达随着诱导时间的增加而增加（Ogawa *et al.*, 2010; Phoonsawat *et al.*, 2014）。鉴于脂联素仅由脂肪细胞产生，血清中的脂联素相关外泌体可能来源于脂肪细胞。这也证明了外泌体发挥调控脂肪代谢作用是通过运输传递这些关键脂肪代谢因子发挥作用。

**再联想到miRNA**，miRNA一般结合到靶基因的3'非翻译区域（3'UTR），抑制靶基因的翻译或者引起靶基因转录产物的快速降解（Ambros, 2004）。陆生动物的研究中已证明其是调控肝脏脂代谢的关键因子（Esau *et al.*, 2006; Cheun *et al.*, 2008; Fernández-Hernando *et al.*, 2011）。在研究调控全局基因表达的转录机制中，miRNA在控制mRNA的表达上与转录因子同等重要。???

## 二、脂肪组织外泌体

外泌体除了聚集这些关键脂代谢基因和细胞因子，还含有丰富的miRNA和一些特异性调节机制，如调节脂肪生成的miRNA如miR-122, miR-103, miR-146b, miR-148a在脂肪细胞介导的外泌体中显著上升(Momen-Heravi et al.,2015;Chen et al.,2014,Li et al.,2014;Londono et al.,2013)。外泌体发挥作用和miRNA密不可分。





## 二、脂肪组织外泌体

外泌体除了聚集这些关键脂代谢基因和细胞因子、**miRNA等**，研究还报道了外泌体中存在免疫调节蛋白如肿瘤坏死因子 $\alpha$ （**TNF $\alpha$** ），巨噬细胞集落刺激因子（**MCSF**）和视黄醇结合蛋白4（**RBP-4**）。

有研究表明在脂肪肝变性直至形成脂肪性肝炎的过程中，肝脏受到损伤是一个先决条件（*Petrasek et al., 2013*），而外泌体在肝细胞与免疫细胞之间的相互作用中可能发挥着重要作用，如小鼠酒精性肝炎中**miR-122**由外泌体介导从肝细胞进入到单核细胞中参与免疫调节（*Momen-Heravi et al., 2015*）；

### 三、脂肪组织外泌体功能



外泌体作为载体通过运输转移蛋白质，mRNA和microRNAs来影响或改变受体细胞的行为（Camussi *et al.*,2013）。外泌体能够参与机体多种生理和病理功能，如脂肪代谢、细胞增殖和分化、免疫调节、肿瘤发生（Melo *et al.*,2014）以及血管发生等。此外，外泌体可以作为疾病诊断的生物标志物(Tickner *et al.*,2014;Taylor *et al.*,2014)。

这都是在哺乳动物研究中得出的结论。

### 三、脂肪组织外泌体功能

在肥胖及脂肪合成的作用：有报道显示，来自**肥胖和瘦个体的内脏脂肪组织的外泌体的miRNA谱是不同的**。各种miRNA涉及转化生长因子 $\beta$ （TGF- $\beta$ ）和Wnt /  $\beta$ -连环蛋白信号传导途径，其在慢性炎症的发展以及抑制ADSC的脂肪形成分化中发挥重要作用。与瘦个体的内脏外来体相比，miR-148b和miR-4269在肥胖个体的外来体中被显著地下调，而miR-23b和miR-4429被上调。这两种改变的miRNA靶向**TGF- $\beta$** 和Wnt /  $\beta$ -连环蛋白信号通路中的mRNA。在肝脏中，已经证明来自肥胖个体的内脏脂肪组织的外泌体可能影响非酒精性脂肪肝病的形成（图2c）。



### 三、脂肪组织外泌体功能

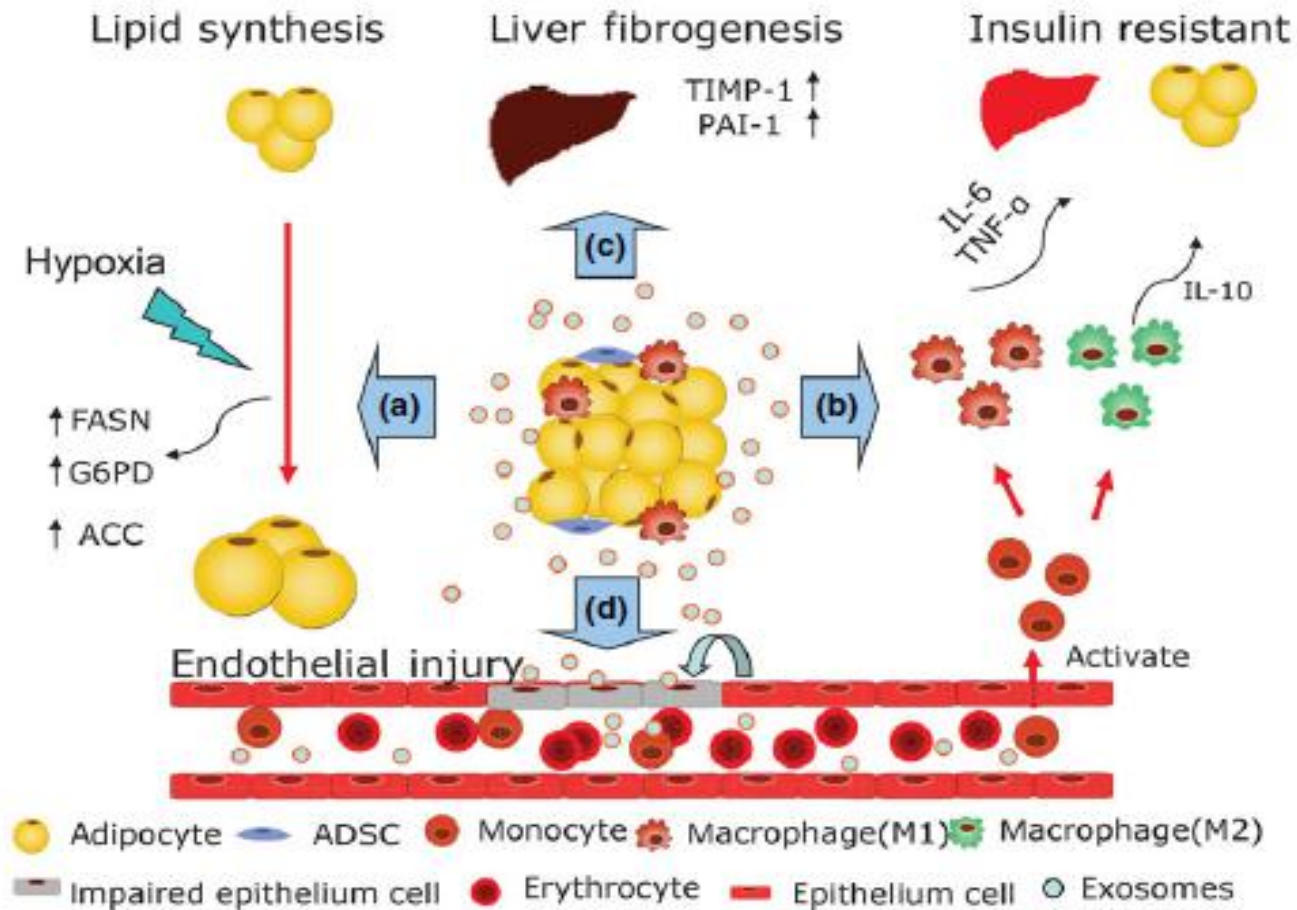


图1. 外泌体在肥胖相关疾病中的作用。(a) 小脂滴摄取外泌体导致脂滴变大。在缺氧条件下，外泌体增加了脂肪中生脂酶(如FAS、G6PD、ACC)基因的表达和脂滴的大小；(b) 肥胖者的脂肪组织分泌的外泌体能激活单核细胞分化为巨噬细胞，并促进炎症因子IL-6和TNF- $\alpha$ 的分泌，导致脂肪细胞和肝脏出现胰岛素抵抗；(c) 肥胖者的脂肪细胞外泌体可增加TIMP-1和PAI-1的分泌进而引起肝纤维化；(d) 功能障碍和肥大的脂肪细胞分泌的外泌体会损害血管内皮细胞。(Zhang et al.,2016)

### 三、脂肪组织外泌体功能

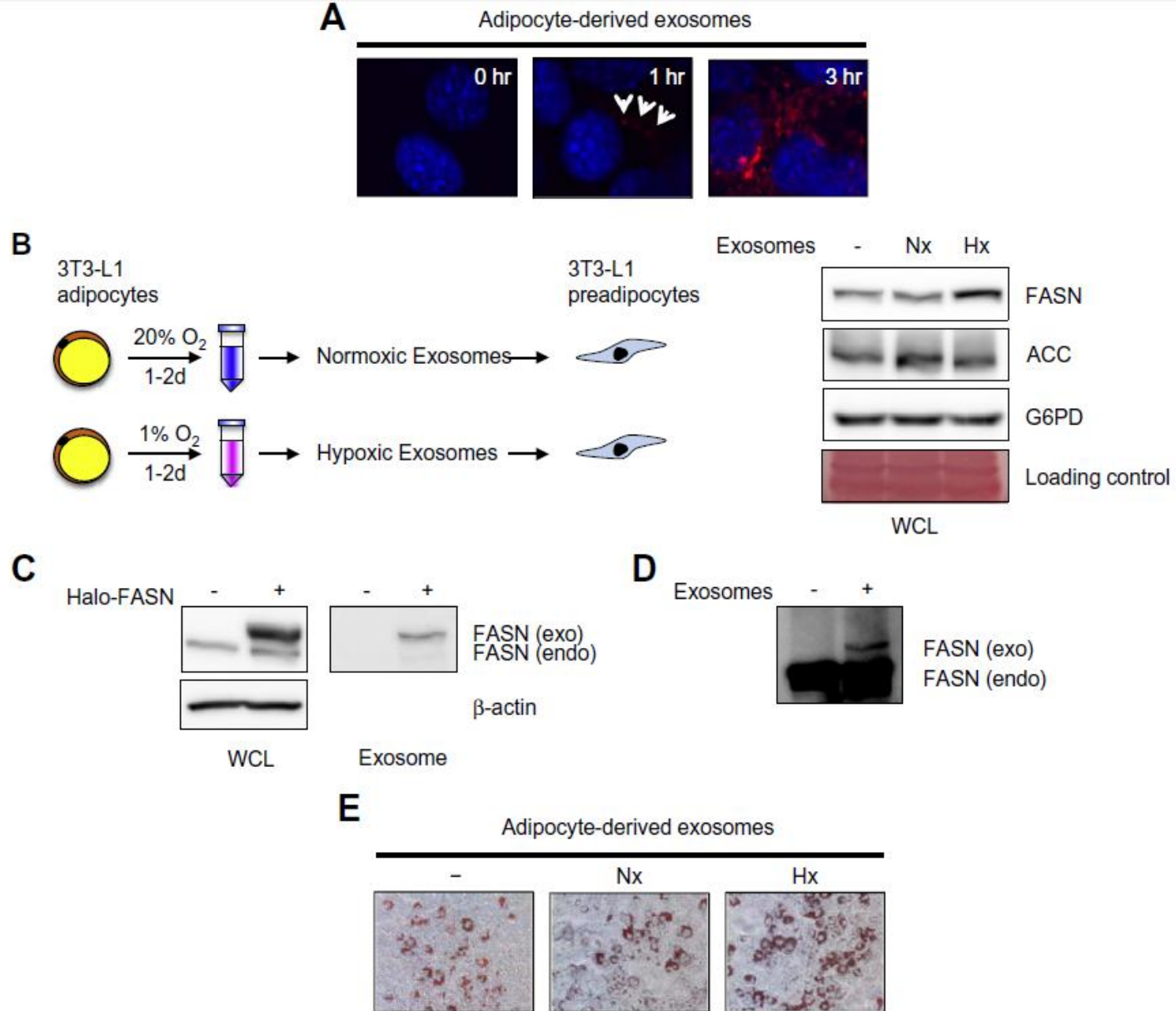
脂肪细胞外泌体激活TGF- $\beta$ 途径并增加抑制细胞外基质降解的蛋白质的表达，例如TIMP-1，MMP-7和PAI-1。这导致细胞外基质的积累和破坏肝脏结构。

从功能失调和肥大的脂肪细胞释放的外泌体损害血管内皮细胞的功能，它们在肥胖相关并发症的发展中的功能应引起注意（图2d）。在肥胖症中，脂肪组织的炎症增加单核细胞的迁移。来自单核细胞的外泌体可以附着于血管内皮细胞并穿透它们，并且可以破坏上皮（EC）的完整性，导致细胞凋亡和细胞表面血栓形成。

**Table 1 – Changes in expression of TGF- $\beta$  pathway mediators in HepG2 cells exposed to visceral adipocyte exosomes (Data represent mean fold change  $\pm$  standard deviation).**

Mediator	0.1% dilution		1% dilution		Both doses	
	Fold change	P	Fold change	P	Fold change	P
<b>TMP-1</b>						
Obese 1	2.82 $\pm$ 1.91	0.24	2.64 $\pm$ 1.14	<b>0.04</b>	2.73 $\pm$ 1.41	<b>0.02</b>
Obese 2	1.74 $\pm$ 0.83	0.31	2.01 $\pm$ 0.91	0.16	1.94 $\pm$ 0.76	0.08
Obese 3	3.13 $\pm$ 1.21	0.08	4.78 $\pm$ 0.66	<b>0.004</b>	4.36 $\pm$ 0.99	<b>0.002</b>
Obese 4	4.69 $\pm$ 0.003	<b>0.01</b>	3.36 $\pm$ 0.27	<b>0.01</b>	4.02 $\pm$ 0.78	<b>0.004</b>
All obese	3.24 $\pm$ 1.54	<b>0.008</b>	3.18 $\pm$ 1.34	<b>0.003</b>	3.21 $\pm$ 1.38	<b>0.026</b>
Lean 1	7.51 $\pm$ 1.05	<b>0.002</b>	0.93 $\pm$ 1.48	0.29	5.32 $\pm$ 3.87	0.19
<b>MMP-7</b>						
Obese 1	0.44 $\pm$ 0.07	0.46	0.41 $\pm$ 0.20	0.41	0.42 $\pm$ 0.14	<b>0.0008</b>
Obese 2	0.84 $\pm$ 0.003	0.6	0.51 $\pm$ 0.39	0.69	0.51 $\pm$ 0.39	0.40
Obese 3	0.56 $\pm$ 0.34	0.62	1.07 $\pm$ 0.23	0.85	0.95 $\pm$ 0.16	0.62
Obese 4	0.61 $\pm$ 0.28	0.51	0.97 $\pm$ 0.31	0.74	0.85 $\pm$ 0.31	0.41
All obese	0.50 $\pm$ 0.10	0.31	0.74 $\pm$ 0.38	0.70	0.66 $\pm$ 0.33	<b>0.03</b>
Lean 1	0.96 $\pm$ 0.23	0.55	1.17 $\pm$ 0.78	0.94	1.07 $\pm$ 0.23	0.80
<b>PAI-1</b>						
Obese 1	0.50 $\pm$ 0.10	0.06	1.08 $\pm$ 0.26	0.80	0.79 $\pm$ 0.36	0.24
Obese 2			0.32 $\pm$ 0.06	<b>0.03</b>	0.32 $\pm$ 0.06	<b>0.03</b>
Obese 3	0.50 $\pm$ 0.18	0.17	0.67 $\pm$ 0.13	0.15	0.60 $\pm$ 0.16	0.08
Obese 4	0.82 $\pm$ 0.14	0.38	0.76 $\pm$ 0.22	0.29	0.79 $\pm$ 0.17	0.30
All obese	0.62 $\pm$ 0.20	0.09	0.74 $\pm$ 0.32	0.18	0.70 $\pm$ 0.27	<b>0.003</b>
Lean 1	1.00 $\pm$ 0.05	0.99	1.11 $\pm$ 0.19	0.66	1.06 $\pm$ 0.13	0.80
<b>Integrin <math>\alpha\beta</math>-5</b>						
Obese 1	1.60 $\pm$ 0.24	0.14	1.79 $\pm$ 0.21	0.12	1.71 $\pm$ 0.22	0.14
Obese 2			0.94 $\pm$ 0.48	0.69	0.94 $\pm$ 0.48	0.69
Obese 3	1.31 $\pm$ 0.42	0.19	0.95 $\pm$ 0.38	0.74	1.04 $\pm$ 0.35	0.96
Obese 4	2.00 $\pm$ 0.11	0.13	1.34 $\pm$ 0.45	0.43	1.68 $\pm$ 0.48	0.11
All obese	1.75 $\pm$ 0.32	0.13	1.26 $\pm$ 0.49	0.53	1.44 $\pm$ 0.49	<b>0.027</b>
Lean 1	1.17 $\pm$ 0.29	0.56			1.17 $\pm$ 0.29	0.56

Bold values indicate statistical significance.



3. Increased lipid accumulation in adipocytes treated with hypoxic adipocyte-derived exosomes (Sano et al., 2014)

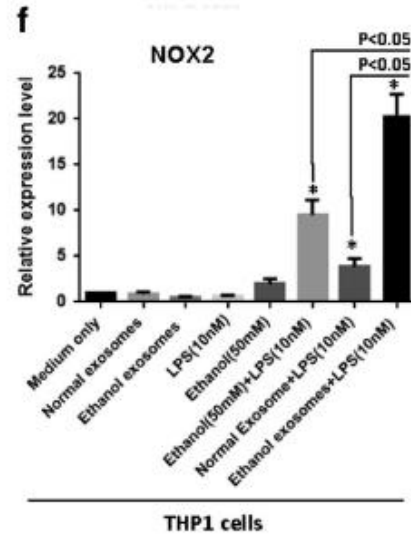
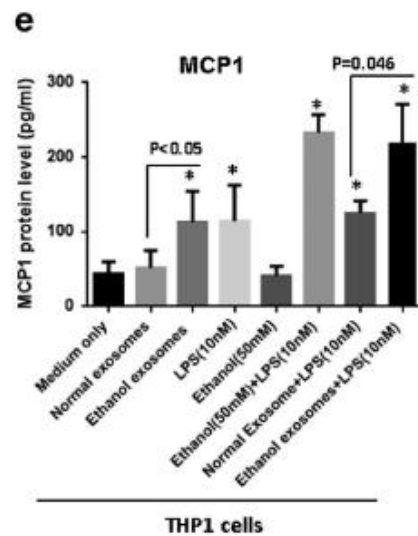
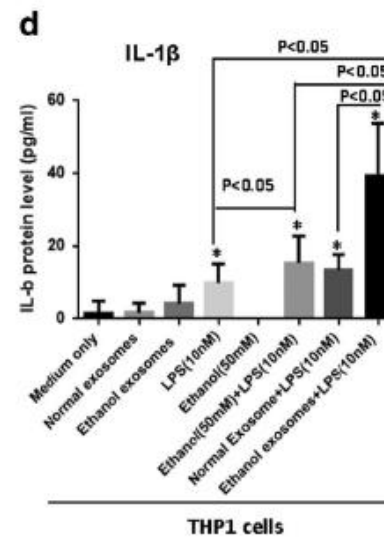
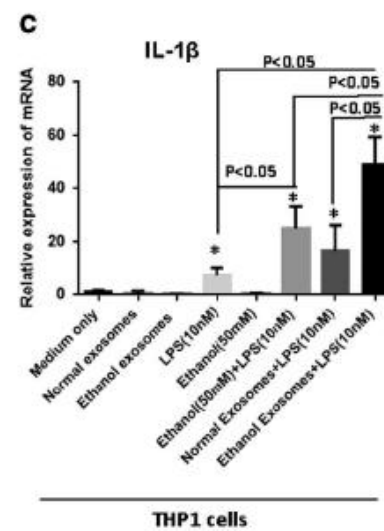
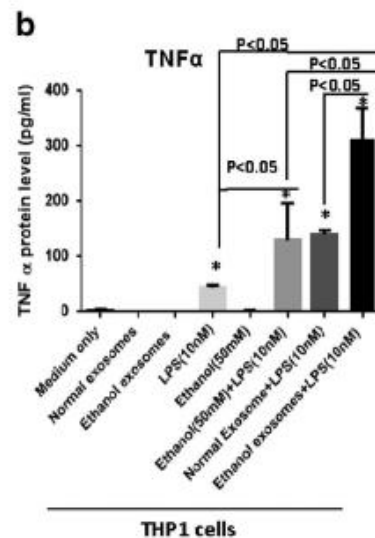
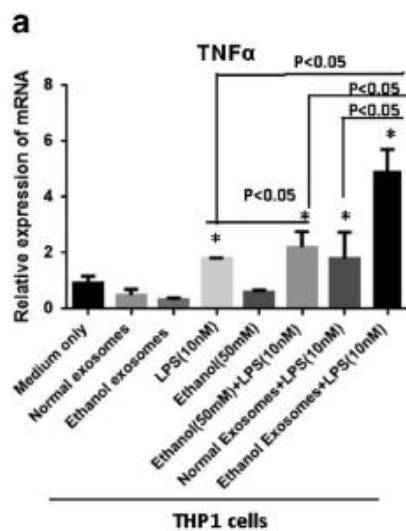
### 三、脂肪组织外泌体功能

脂肪组织外泌体调节机体的免疫功能：外泌体含有许多免疫抑制因子并且已显示在免疫调节中起作用。外泌体中还存在有与调节免疫相关的蛋白如TNF $\alpha$ 和巨噬细胞集落刺激因子（MCSF）等(Kranendonk *et al.*, 2014)。来自ADSC的外泌体能降低体外刺激的T淋巴细胞的增殖速率（Blazquez *et al.*, 2014）。此外，ADSC衍生的外泌体还通过减少干扰素- $\alpha$ (interferon alpha, IFN- $\alpha$ )的分泌来抑制T细胞活化（Blazquez *et al.*, 2014）。然而，外泌体对免疫系统的影响仍有争议。一些报道表明ADSC衍生的外泌体不能抑制淋巴细胞增殖。

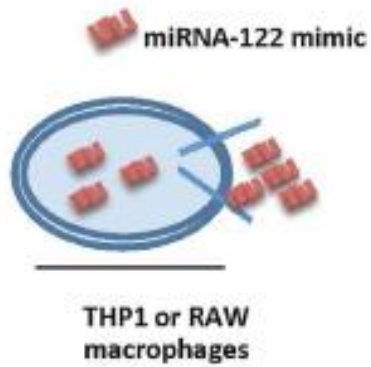
### 三、脂肪组织外泌体功能

有研究表明在外泌体在肝细胞与免疫细胞之间的相互作用中可能发挥着重要作用，如小鼠酒精性肝炎中miR-122由外泌体介导从肝细胞进入到单核细胞中参与免疫调节（Momen-Heravi *et al.*,2015）；Bala *et al*（2012）研究发现外泌体中富集的miR-122和脂肪肝炎等密切相关，在酒精性脂肪肝病血清中miR-122显著增多；Wu *et al*（2012）等研究发现miR-122转染后脂多糖(LPS)处理斑马鱼肝脏细胞，随着时间的延长其TLR1、TLR3、TLR4a和TNF $\alpha$ 的表达量均显著降低。

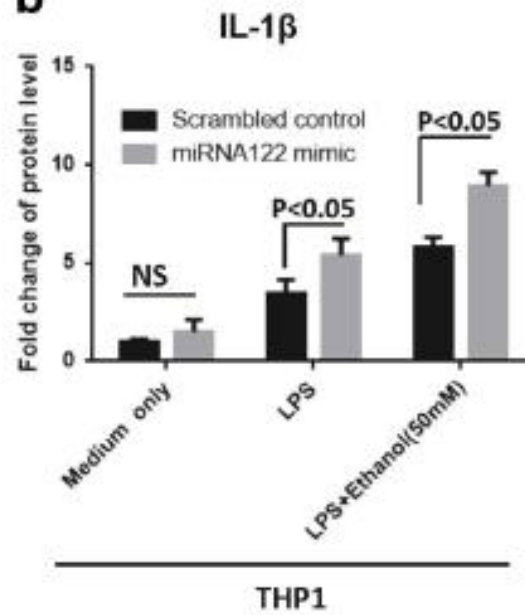
Toll样受体（TLR）信号通路是炎症反应的重要通路，是非特异性免疫中一类重要的模式识别受体，经过接头蛋白的介导激活相关信号激酶，导致转录因子活化，诱导炎症细胞因子表达，引起炎症反应。



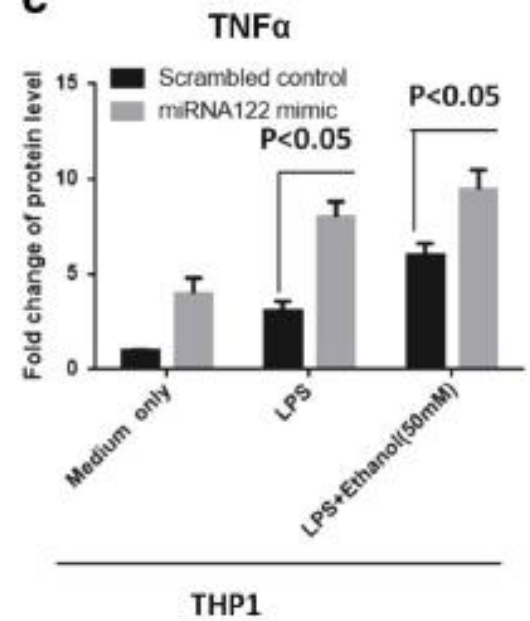
**a**



**b**



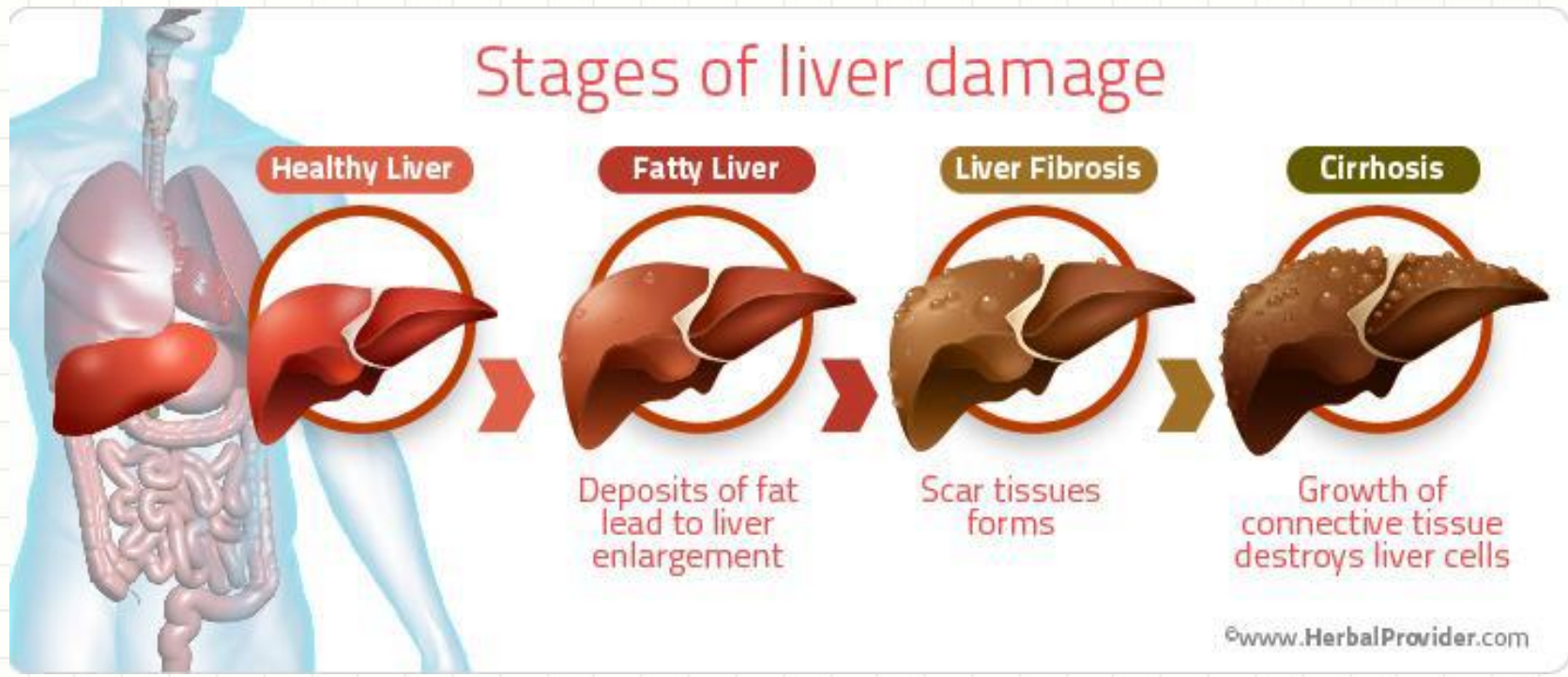
**c**



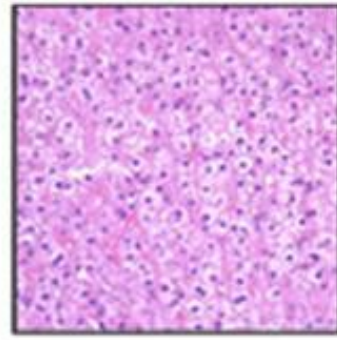
(Momen-Heravi *et al.*,2015)



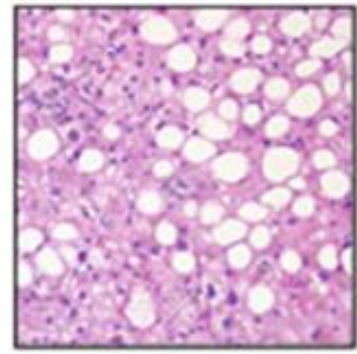
# Stages of liver damage



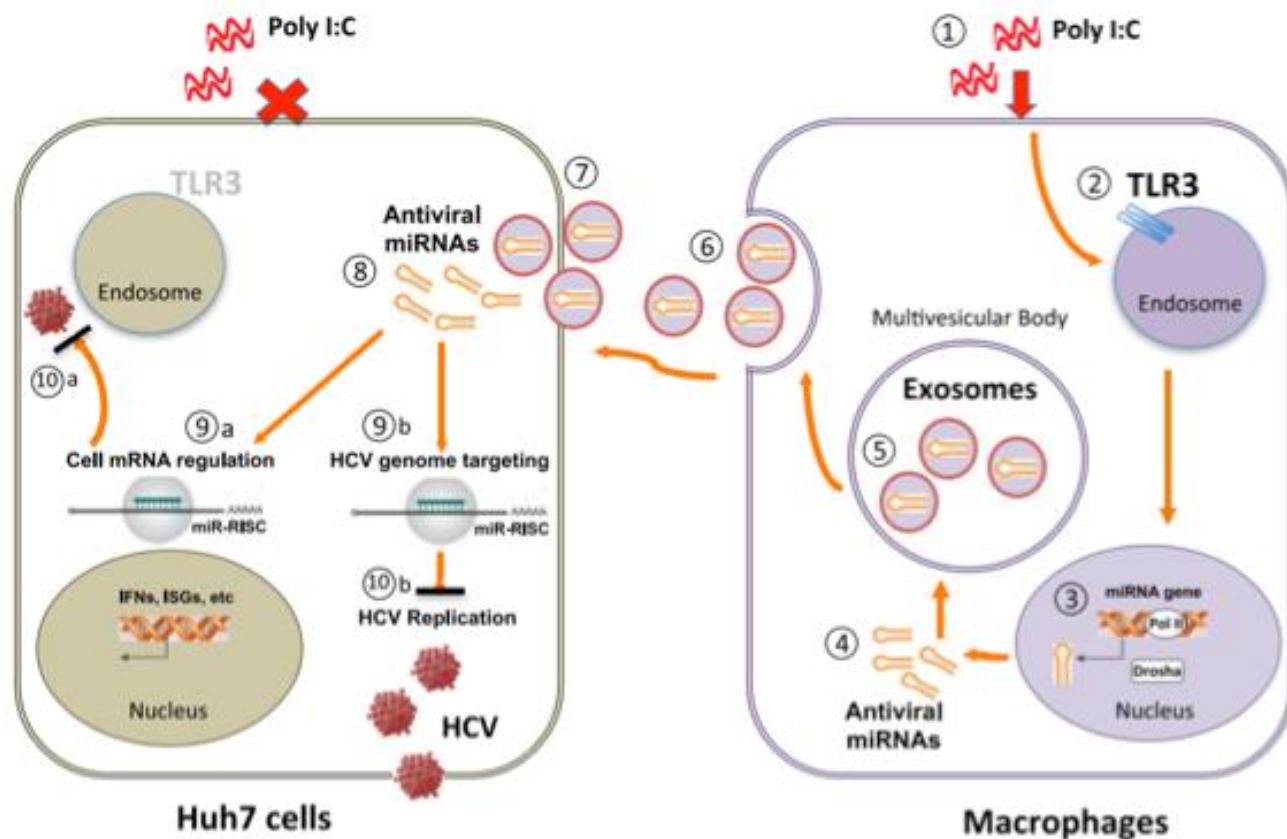
**Normal liver**



**Fatty liver**



## 2. 武汉大学霍文哲教授团队：TLR3激活的巨噬细胞通过外泌体赋予肝细胞抗丙肝病毒的能力



Zhou, Y., et al. (2016). "Toll-like receptor 3-activated macrophages confer anti-HCV activity to hepatocytes through exosomes." *FASEB J.* IF = 5.299

### 三、脂肪组织外泌体功能

#### 脂肪组织外泌体参与肿瘤调节：

脂肪组织在某些肿瘤的发展中起作用特别是与其具有密切关系的乳腺癌和恶性黑色素瘤。脂肪细胞促进在乳腺癌和恶性黑色素瘤的迁移。已报道来自人类ADSC的外泌体促进乳腺癌细胞的迁移和增殖，如来自前脂肪细胞

(3T3-L1)的外泌体促进乳腺癌细胞的肿瘤发生(mammospheres 乳腺癌细胞球增多)。

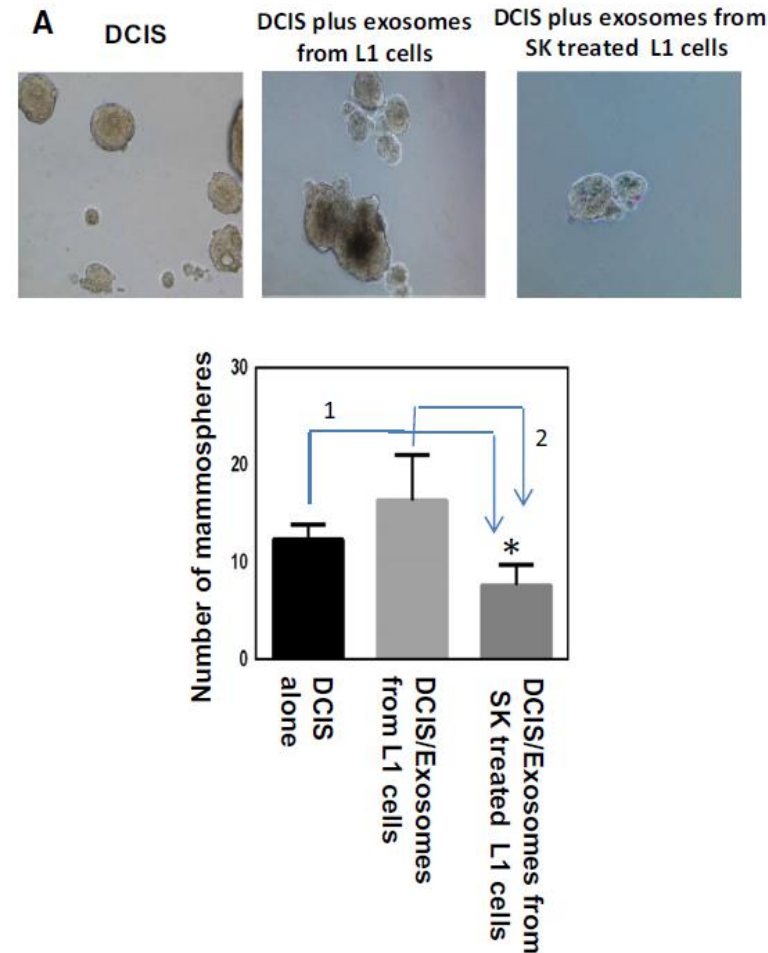


Fig. 3 Preadipocyte-derived exosomes can modify DCIS (导管原位癌) stem cell renewal and shikonin treatment can alter exosomal signaling inhibiting DCIS stem cells. a MCF10DCIS (DCIS) mammosphere cultured with exosomes from preadipocytes (L1 cells) with or without 2 IM shikonin treatment for 48 h. Exosomes were stained with PKH26, a red fluorescent dye to visualize uptake into DCIS cells.

### 三、脂肪组织外泌体功能

脂肪组织外泌体参与血管以及神经生成：

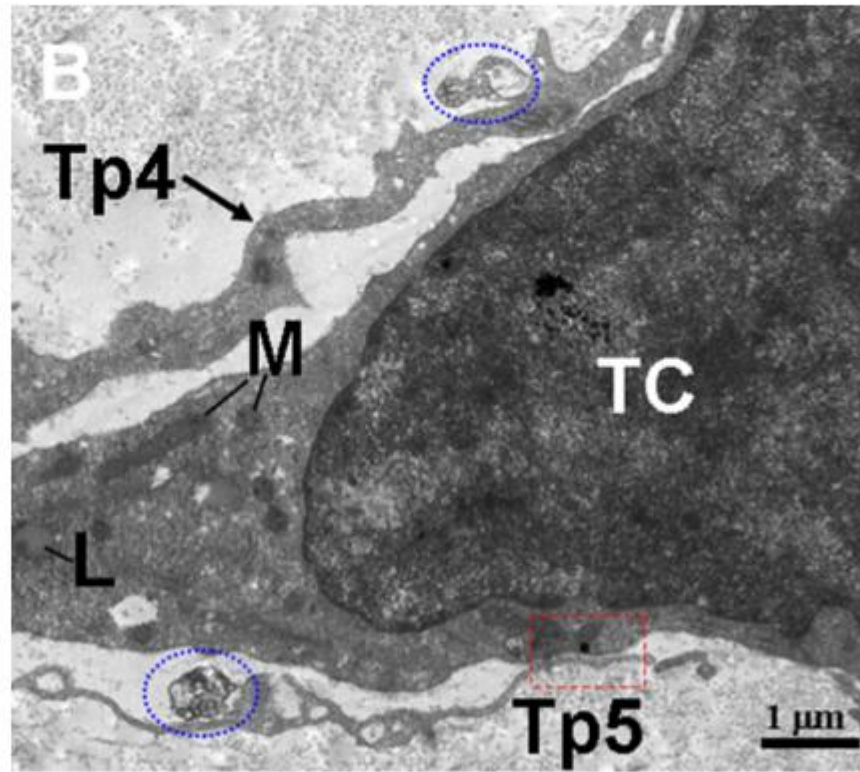
有证据表明MSC衍生的外泌体通过增强细胞增殖和血管生成促进伤口愈合和肌肉再生。外泌体通过多种机制诱导血管生成，包括主要细胞内激酶途径的活化，促血管生成蛋白和miRNA的转移和内皮细胞衰老的抑制。ADSC是脂肪组织的组分，分泌膜囊泡（包括外泌体），促进血管内皮细胞迁移和增殖并刺激新血管形成。

除了它们在血管生成中的应用外，外泌体还在神经再生中具有作用，低剂量的ADSC衍生的外泌体通过在氧化应激损伤条件下抑制凋亡级联显著降低神经细胞对H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>的易感性。

# 外泌体在鱼类中的研究

外泌体在鱼类中的研究还非常少，仅有几篇文献。在虹鳟的血液中使用差速离心、透射电镜以及标记（热休克蛋白70(Hsp70)和乙酰胆碱酯酶）的方法分离鉴定了外泌体（Faught et al.,2017）；在斑马鱼中的研究发现大脑内皮细胞提取的外泌体可以作为载体携带抗癌药物通过血脑屏障治疗脑癌（Yang et al.,2015）；在鲑鱼的研究中发现白细胞来源的外泌体中含有主要组织相容性复合体II类（MHCII）（Iliev et al.,2010）。

4. 江西农业大学郭小权教授团队：中国大鲵的胃telocytes (TCs) 和telopodes (Tps)附近的外泌体可能参与细胞间交流



Zhang, H., et al. (2016). "Telocytes in gastric lamina propria of the Chinese giant salamander, *Andrias davidianus*." *Sci Rep* 6: 33554. IF=5.228

在这项研究中利用光镜、免疫组织化学和透射电子显微镜（TEM）的方法对中国大鲵的胃telocytes（间质细胞TCs）进行识别。其中的电镜结果显示，TCs/Tps附近的外泌体。TCs/Tps及其附近的干细胞可能利用外泌体间接进行细胞与细胞间的交流。

## 四、结论和前景

外泌体作为细胞交流的重要手段，参与一系列生理过程，例如细胞代谢，增殖和分化。另一方面，它们还参与肥胖相关疾病如糖尿病和心血管病的发展。来自脂肪组织的外泌体是用于诊断和治疗的标记物，并且来自脂肪组织的研究可以帮助进一步理解代谢性疾病的机制。

考虑到外泌体在不同生理活动中的显著作用以及在诊断、药物释放方面潜在的价值，其应用前景非常广阔。

谢谢！

