

外泌体miRNA的生物学功能及其在肺纤维化疾病中的调控作用*

张华伟 于丽佳 张春民 张岩松 师晓栋**

(国家卫生健康委职业安全卫生研究中心, 北京 102308)

摘要 外泌体是一种微型纳米级细胞外囊泡, 由于能够直接参与细胞间信息的传递和物质的运输, 被认为是细胞间通讯、免疫调节、疾病诊断和预后循环生物学标志物的重要载体, 其携带的核酸和蛋白质等内含物能够影响受体细胞的生理状态. 作为一种内源性非编码微小RNA, microRNA (miRNA) 对疾病诊断和治疗有着重要的研究价值, 有大量证据表明该类分子对肺部疾病的发病进程起着控制调节作用. 本文聚焦于近年来细胞外泌体来源miRNA的生物学特性和功能领域, 综述了近年来生物医学研究中的热点分子外泌体miRNA在肺部疾病尤其是肺纤维化中调控功能和机制的研究, 因此不仅能为肺纤维化疾病的诊断提供新的标志物分子, 并且还能够为肺纤维化的外泌体干预治疗建议新的干预策略.

关键词 细胞外囊泡, 外泌体, miRNA, 肺纤维化, 调控功能

中图分类号 Q5, Q7, R56

DOI: 10.16476/j.pibb.2019.0110

细胞间通讯 (intercellular communication) 是多细胞生物体的重要标志性功能, 可以通过细胞与细胞的直接接触或分泌分子的转移来介导. 细胞外囊泡 (extracellular vesicles, EVs) 是一种重要的细胞间通讯方式, 可作为细胞间蛋白质、脂质和核酸物质传递的载体^[1]. 外泌体 (exosome) 是一种能被大多数细胞分泌的EVs家族成员, 具有脂质双层膜结构, 直径为40~150 nm^[1-2]. 作为一种微型胞外囊泡, 外泌体在绵羊网织红细胞中被首次发现, 1987年科学家将其命名为“exosome”^[3]. 2013年诺贝尔生理学 and 医学奖授予美国罗斯曼等三位分子细胞科学家以表彰他们发现包括外泌体在内的细胞囊泡的运输调控机制, 随后多年来外泌体研究成为细胞学和生物医学科研的热点领域. 近年来, 外泌体及其内含物微小RNA (microRNA, miRNA) 在肿瘤、心血管、肝、肺、肾、血液系统和免疫系统损伤疾病领域的诊断、预后和治疗方面逐渐显示出良好的研究前景, 且外泌体miRNA也极有潜力成为人类重大疾病的新颖分子标志物和治疗靶标.

肺纤维化 (pulmonary fibrosis, PF) 是一种严重的慢性纤维化肺间质损伤性疾病, 是以成纤维

细胞增殖及大量细胞外基质聚集并伴随炎症损伤和组织结构破坏为特征的肺功能损伤. 由于其发病机制复杂, 确诊后中位生存期短, 目前缺乏确切有效的治疗方法^[4]. 因此, 明确肺纤维化疾病的发病和分子调控机制对于寻找有效的治疗靶点十分重要. 本文综述了外泌体及其miRNA的生物学特性和功能, 并结合国内外肺纤维化疾病相关外泌体的最新研究进展, 对外泌体源miRNA在肺纤维化发生发展中的调控作用及诊治价值进行了系统阐述.

1 外泌体的生物学特性和功能

1.1 外泌体富集和分析方法

细胞外囊泡 (EVs) 是细胞主动释放分泌的纳米级膜囊泡, 根据其生物合成、颗粒大小和生物物理性质不同, 可以进一步分为外泌体 (exosomes)、微泡 (microvesicles, MVs) 和凋亡小体

* 国家卫生健康委职业安全卫生研究中心重点研究项目(2019013)资助.

**通讯联系人.

Tel: 010-56153680, E-mail: xdshi_7603@sina.com

收稿日期: 2019-05-17, 接受日期: 2019-10-14

(apoptotic bodies, Abs)^[5] 三大主要亚群以及直径更小的纳米级外泌颗粒亚群 (exomeres)^[6] (表1)。目前可以通过超速离心、超滤法、共沉淀、亲和层析、流式细胞分选、密度梯度离心、微流控和免疫吸附等多种手段富集并大致分离不同的细胞外囊泡亚群, EVs的分离和富集程度被认为是生物医学研究和临床治疗所必需的前期分析要求^[7]。其中超速离心和密度梯度离心是最重要的外泌体囊泡初始分离方法, 根据分离机制的原理, 上述方法可分为3大类: 密度、亲和力和颗粒大小^[8]。外泌体的主要分离方法的优缺点总结见表2, 但是这些方法都不能完全纯化到特定的亚群, 分离

到的通常是富集了某一个亚群同时带有其他细胞外囊泡亚群。通过现代生物电镜技术可以对细胞外囊泡家族进行物理形态结构的观察和分析, 主要包括扫描电镜、透射电镜、冷冻电镜、原子力显微镜等技术方法。此外, 利用纳米颗粒示踪分析 (nanoparticle tracking analysis, NTA)、动态光散射 (dynamic light scattering, DLS)、可调电阻脉冲传感技术 (tunable resistive pulse sensing, TRPS) 和单一EV分析技术 (single EV analysis, SEA) 等物理方法也可以检测外泌体的浓度和颗粒粒径分布^[7]。这些新型检测技术的迅速发展使得外泌体成为被广泛关注的疾病相关生物学标志物。

Table 1 Major type of extracellular vesicles

表1 胞外囊泡主要成员类型

成员	分类	颗粒直径	超速离心转速	蛋白质标记分子	内含物	生物合成途径
外泌体	小型囊泡	40~150 nm	100 000~200 000 g	CD63、CD81、CD9、Alix、TSG101、HSP70	DNA、RNA、胞质蛋白、膜蛋白等	多泡内体途径
微泡	大型囊泡	100~1 000 nm	10 000~20 000 g	整合素、选择素、CD40L、Annexin A1	RNA、胞浆蛋白	质膜出芽途径
凋亡小体	凋亡囊泡	1~5 μ m	1 000~10 000 g	Annexin V、组蛋白H3	核蛋白、细胞器	细胞凋亡途径
外泌颗粒	纳米囊泡	35~50 nm	100 000~200 000 g	HSP90、HSPA13	酶、蛋白质、脂质、RNA和DNA	未知

Table 2 Comparison of exosome preparation methods

表2 外泌体的主要分离方法比较

分离方法	富集原理	技术优点	局限性
超速离心	密度	现行金标准; 已建立详细的技术方案	分离持续时间长 (>4 h); 要求样品体积大; 需要超速离心; 回收率低; 纯度低
蔗糖密度梯度离心	密度	现行金标准; 高纯度	持续时间长 (>4 h); 样品体积大; 需要超速离心; 回收率低
共沉淀法	表面电荷	处理方法简单易用	分离缺乏特异性, 扩大制备规模困难
分子排阻层析	颗粒大小和分子质量	产率高; 洗脱液种类广泛	分离缺乏特异性, 扩大制备规模困难
场流分离法	颗粒大小和分子质量	分离范围广泛; 洗脱液种类广泛	持续时间长; 需要分流设备

1.2 外泌体的生物学合成和分泌特性

外泌体的生物学合成过程是一种内体 (endosome) 依赖的渐进细胞学过程^[9]。该过程开始于以细胞膜内陷为特征的内吞作用, 随之形成带有脂质双分子层的内吞囊泡, 最终形成早期内体^[1] (图1)。随后核内体膜再次内陷并脱落形成一系列腔内小囊泡 (intraluminal vesicles, ILVs), 并通过内体分选蛋白转运复合物 (endosomal sorting complex required for transport, ESCRT) 协助, 能够选择性地包裹细胞浆内的蛋白质与脂质以

及核酸物质而形成晚期内体^[10-11] (图1)。成熟的管腔状晚期内体以内体膜发生向内出芽为特征, 也称为多囊泡体 (multi-vesicle bodys, MVBs)^[12]。ESCRT 是一个蛋白质家族, 包括 ESCRT-0、ESCRT-I、ESCRT-II 和 ESCRT-III 等成员, 该复合物在 MVBs 膜上与多泡体相关蛋白质结合, 参与调节细胞货物分子靶向运送到 ILV 中并参与 ILV 的形成。参与 MVBs 的形成还包括 TSG101 (tumour susceptibility gene 101 protein) 和其他 ESCRT 蛋白辅助分子, 比如 ALIX (ALG-2 interacting protein

X) 和 VPS4 (vacuolar protein sorting-associated protein 4), 进而导致胞外囊泡的释放^[5] (图1)。

MVBs在细胞内主要有两种去向: 一种是与溶酶体融合, 其内含物被溶酶体内部的酸性水解酶降解; 另一种方式是与细胞膜的再次融合, 进而导致MVBs以膜性小囊泡的形式向细胞外释放, 从而产生外泌体颗粒^[13] (图1)。此外, 最新报道认为外泌体的生物发生还有两种其他模式: a. 通过直接从细胞膜出芽的立即释放; b. 通过在细胞内质膜连接隔室 (intracellular plasma membrane connected compartments, IPMC) 中出芽而延迟释放^[14]。研究者已经发现多种蛋白质可以控制外泌体分泌, 例如外泌体释放的调节与 GTP 结合蛋白 Rab27a 和 Rab27b 密切相关, 敲低 Rab27 或其效应因子突触结合蛋白的表达可显著抑制细胞外泌体的分泌, 而

抑癌蛋白 P53 和其下游效应物 TSAP6 能够促进外泌体的成熟和产生^[15-16]。此外在MVBs与质膜融合的过程中, SNARE 复合物 (soluble N-ethylmaleimide-sensitive fusion attachment protein receptor) 的辅助和协同作用也非常重要^[5]。影响外泌体分泌的其他小 GTP 酶的活性, 例如 Rab11a 和 Rab35 的活性对于质膜分泌来源的微泡形成也至关重要, 如果活性受到抑制将导致同样源自早期内体的微泡分泌量减少^[5]。在通过早期内体-再循环内体-质膜出芽途径生成微泡的形成过程中, ADP 核糖化因子 6 (ADP-ribosylation factor 6, ARF6) 能够作为选择性募集蛋白的调节分子, 随之伴随有微泡主要膜蛋白整合素、选择素和 Annexin A1 的生成^[17-18] (图1)。

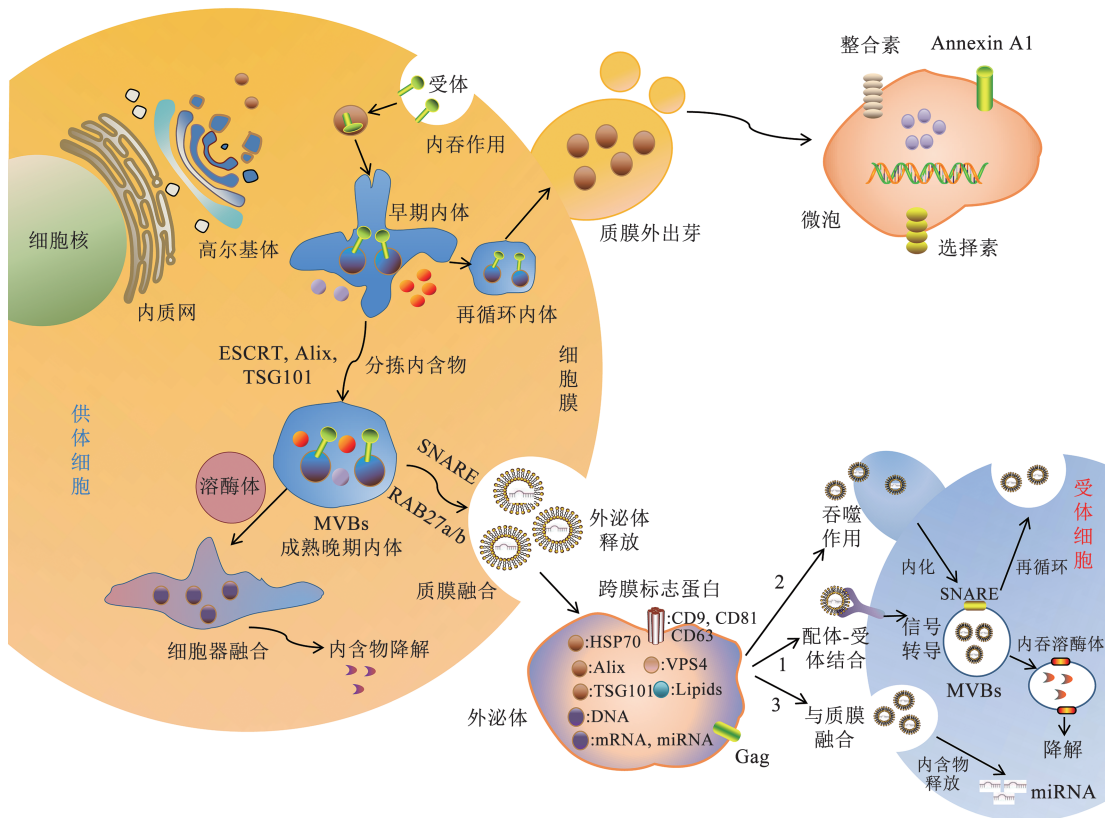


Fig. 1 Schematic intracellular pathways of exosomes biogenesis, secretion and uptake
图1 细胞外泌体合成、分泌和摄取的途径示意图

外泌体是由内体途径生成, 源于细胞质膜内陷形成早期内体, 而后成熟晚期内体膜向内出芽形成管腔状囊泡, 转变为多囊泡体 (MVBs), 同时胞质成分及跨膜蛋白等成分进入囊泡之中。然后MVBs与胞膜融合后其内囊泡再次凹陷, 以内出芽的方式形成颗粒状小囊泡, 并释放进入细胞外环境, 即外泌体。外泌体到达受体细胞后通过配体结合、吞噬作用和与质膜融合的方式在目标细胞内释放内含物, 从而改变细胞生理状态。

从供体细胞运输到目标位置后,外泌体进入受体细胞发挥作用首先需要锚定细胞膜,才能引发表面受体激活和信号传导以及囊泡内化等后续步骤.外泌体进入受体细胞的方式分为3种:a.通过自身表面的配体介导与受体细胞表面受体(整合素和蛋白聚糖等)分子的结合,通过信号传导和抗原提呈等方式改变细胞的生理和病理状态;b.外泌体被受体细胞吞噬,通过内体途径以及内体逃逸的间接方式释放其内含物影响细胞状态;c.外泌体膜与靶细胞的质膜融合再释放内含物到胞质中,其中包括miRNA^[5, 19](图1).通过这种分子机制,外泌体能够完成细胞间的核酸信息等物质交流,从而改变受体细胞的生理状态和功能特点.

1.3 外泌体的内含物分析和生物学功能

外泌体最早被发现时被认为是细胞的废弃物从而导致功能被低估,随后几十年来大量研究表明,外泌体作为一种细胞分泌的膜性小囊泡,可通过靶细胞内化、受体和配体间相互作用或者脂质膜融合,运载传递包裹于脂质双分子层的内源性蛋白

质、脂质、核酸RNA等生物活性物质,是细胞间通信的重要介质^[20].

不同细胞来源的外泌体组成具有共同的蛋白质成分,包括膜转运和融合相关蛋白、热休克蛋白(heat shock protein, HSP)、整合素和跨膜蛋白超家族(CD63、CD9、CD81)等,后3种CD家族蛋白和HSP70分子也用来作为鉴定外泌体的蛋白质标志物^[21](表1).外泌体蛋白质的定性和定量分析不仅有利于鉴定外泌体的来源和内容物,对于外泌体引起的细胞生理状态改变的分析也具有重要作用.根据功能的不同,外泌体蛋白质分析分为跨膜蛋白质和囊泡内蛋白质分析,后者包括TSG101、ALIX、Annexins、Rabs以及HSPs家族蛋白.外泌体蛋白质分析的传统方法包括蛋白质印迹(WB)、ELISA、质谱等技术,近年来研发的蛋白质分析新方法有小颗粒流式细胞仪、微核磁共振、纳米等离子外泌体(nPLEX)传感器、集成磁电化学外泌体(iMEX)传感器和高敏感ExoScreen技术等^[7].几种外泌体蛋白质检测方法的区别参见表3.

Table 3 Comparison of new technologies for exosome protein detection

表3 外泌体蛋白质检测新技术比较

检测方法	传感机制	检测极限	技术优点	局限性
普通流式细胞仪	囊泡捕捉微球和荧光标记	-	高通量,方法可靠	仪器相对成本较高
小颗粒流式细胞仪	颗粒散射和荧光	-	单囊泡分子鉴定分析	需要专门的仪器,对于小型EV的识别不敏感
ExoScreen	光敏传感器微球	-	无需清洁;高通量	检测颗粒直径<200 nm
微核磁共振	核磁共振	10 ⁴ EVs	天然的生物学背景低	检测通量低
nPLEX	等离子共振	10 ³ EVs	无标签检测,高灵敏度,高通量	需要专用等离子芯片
iMEX	电化学原理	10 ⁴ EVs	使用方便,设备成本低	检测通量中等

RNA是外泌体囊泡中的主要核酸种类,与细胞RNA组分相比,外泌体运输的RNA大小一般较短,通常小于200个核苷酸,但也可延伸至5 kb长度大小^[22].它们主要包括非编码RNA,包括微RNA(miRNA)、tRNA、长链非编码rRNA(lnc RNA)和片段化的mRNAs.研究表明,某些外泌体可能含有DNA片段,这些DNA是双链片段,从100 bp到2.5 kb不等.这些片段代表整个基因组DNA特征,可用于鉴定母代肿瘤细胞中的基因突变^[23-24].外泌体核酸的固有量比较低,经典的有效抽提和检测方法有沉淀自旋柱法和核酸扩增以及测序法,近年新开发的检测技术有液滴式数字PCR、基于芯片上RNA提取和检测的微流体技术、离子交换纳米检测器和局域表面等离子共振(LSPR)分析等技术方法^[7].最近有研究者采用新免疫亲和

层析技术对外泌体内的生物信息组分进行重新评估,阐述了细胞外囊泡与非囊泡细胞外组分之间蛋白质、RNA和DNA的差异分布,并确定外泌体不是能释放活性DNA的载体,细胞可以通过自噬等其他非外泌体形式释放胞外活性DNA成分,因此外泌体具有高度异质性^[17].

现今外泌体越来越被认为是细胞间通讯、免疫调节、疾病诊断和预后循环生物学标志物的重要载体^[25].在许多病理和生理状态下,例如在肿瘤发生、免疫应答、心血管疾病、急性器官损伤、再生医学和干细胞疗法等医学诊断和治疗过程中,外泌体可发挥多种功能^[26-27].肿瘤学家发现,肿瘤来源的外泌体能够靶向巨噬细胞递送表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)分子而发挥抑制宿主抗病毒固有免疫应答的功能,从而为

外泌体新的功能分析和免疫调控作用提供了新的探索方向^[28]. 此外免疫学家也发现, 适应性免疫的启动和维持需要不同类型免疫细胞之间多种类型的通讯方式, 其中包括细胞间直接接触、分泌的可溶性信号分子和细胞外囊泡, 其中外泌体的分泌对于专职抗原提呈细胞 (antigen presenting cells, APCs) 的抗原提呈功能至关重要, 提示外泌体等胞外囊泡可能对癌症的免疫治疗具有潜在的科研价值^[29]. 最新研究发现, 肿瘤来源的外泌体上 PD-L1 分子参与了肿瘤细胞的免疫治疗逃逸. 对于 PD-L1 抗体治疗效果不佳的肿瘤类型, 通过抑制外泌体 PD-L1 分泌并同时进行 PD-L1 抗体治疗, 能够实现良好的抗肿瘤免疫治疗效果^[30]. 近年来大量研究报道证明, 外泌体功能领域的研究已经成为未来生物医学基础和应用研究的新方向.

2 外泌体miRNA与肺部疾病

2.1 外泌体miRNA的形成和整合

外泌体中除了蛋白质和脂类成分以外, 还含有双链 DNA、mRNAs 和多种非编码 RNA, 例如 miRNAs. 有报道认为外泌体介导的供体与受体细胞之间的核酸转移是“遗传交换”的一种新型分子机制^[12, 20]. 2007年 Valadi 等^[20]首次发现小鼠和人肥大细胞外泌体均含有 mRNAs 和 miRNAs, 并且可转移到受体细胞并在受体细胞发挥生理功能. miRNA 是一种进化过程中高度保守的内源性非编码小 RNA, 广泛地分布于植物、动物和 DNA 病毒中. miRNA 属于单链 RNA 分子, 由 19~25 个核苷酸组成, 通过降解目的 mRNA 或是抑制翻译从而引起基因沉默, 对细胞分化、增殖、凋亡和遗传性状进行调控. miRNAs 最初转录产物为带发卡结构的 pri-miRNAs, 核糖核酸酶 III (Drosha) 释放出 pri-miRNAs 的发卡结构形成前体 miRNA (pre-miRNAs), 核酸内切酶 Dicer 负责清除 pre-miRNAs 上 3' 和 5' 臂上的环状结构形成 miRNAs 双链, miRNAs 双链与 Ago 蛋白质家族成员结合, 丢弃随从链、向导链与 miRNAs 诱导沉默复合体 (RNA-induced silencing complex, RISC) 形成互补, 最终产生成熟的 miRNAs 以调控目标基因 mRNA 的表达^[31]. 外泌体在细胞间的信息物质交流过程中, 将含量丰富的内含物 miRNA 传递到靶细胞胞质中, 再特异性结合到对应 mRNA 的 3' 端非编码区序列, 进而调控靶基因的翻译表达.

有证据显示, miRNA 并不是随机整合入外泌

体中的. 在所有小 RNA 中, miRNA 在外泌体中所占的比例比它们的来源细胞更高. 有研究者分析了许多不同细胞系和它们各自分泌的外泌体中 miRNA 表达水平, 发现一些 miRNA 亚群, 如 miR-150、miR-142-3p、miR-451 更偏好于进入外泌体^[32]. 外泌体 miRNA 的表达水平在不同生理条件下是会变化的. 在健康人血清外泌体中, miR-21 的水平比那些恶性胶质瘤患者更低. 在非小细胞肺癌患者血浆囊泡中, let-7f、miR-20b 和 miR-30e-3p 的水平比正常对照组更低^[19]. 外泌体如何装载 RNAs 内含物存在有多种不同的机制, 不同的 RNA 亚群与不同的外泌体靶向 RNA 结合蛋白 (RBPs) 相结合. 例如 miRNA 的效应相关蛋白 Ago2, 在几种细胞类型中作为外泌体内含物的报道还较少, 但是有研究发现癌症组织释放的外泌体 miRNA 及其 Ago2 蛋白在乳腺癌肿瘤恶性转移中发挥重要的调节作用^[33]. 不但外泌体 miRNA 的含量在某种程度取决于外泌体 Ago2 的丰度水平, 外泌体还普遍富集含有 GGAG 序列特征的 miRNA, 并且伴随有 RNA 连接蛋白 hnRNP A2/B1 的广泛结合. 此外, 苏素化的 hnRNP 能够有效地控制分拣特异性 miRNA 整合进入外泌体^[34].

2.2 外泌体miRNA在疾病诊断中的生物学标志物功能

关于 miRNA 在肺部疾病中的研究报道已有不少, 近期发现 miR-486-5p 在肺部疾病中的功能研究较多. 例如该分子能够在肺纤维化小鼠模型中通过下调 TGF- β 1 水平发挥抗纤维化功效^[35]. 此外该分子可作为非小细胞肺癌 (non-small cell lung cancer, NSCLC) 早期诊断和复发预测的潜在血液生物学标志物, 还可以通过影响 PTEN-PI3k/AKT 信号在 NSCLC 的进展过程中发挥癌基因的作用, 因此也可提供潜在肺部肿瘤的治疗靶点^[36].

肿瘤细胞可以产生大量特异性外泌体, 其中的 miRNA 可作为肿瘤诊断的分子标志物. 大量研究已经报道, 肿瘤细胞外泌体内含物 miRNA 在肝癌、肺癌、结直肠癌、前列腺癌、胰腺癌和胃癌等疾病中都可以作为癌症早期无创诊断及预后的生物标志物^[37-39]. 例如在肺癌患者外泌体 RNA 测序结果中显示, 腺癌特异性的外泌体 miR-181-5p、miR-30a-3p、miR-30e-3p、miR-361-5p, 还有鳞癌特异性的外泌体 miR-10b-5p、miR-15b-5p、miR-320b 异常表达, 通过诊断准确性评估后证明, 这些 miRNAs 可能是开发高灵敏度和无创生物学标记物用于早期

NSCLS 诊断的有效候选分子^[39]。

除肿瘤细胞外,还有多种类型的细胞包括干细胞、血管内皮细胞、成纤维细胞等都能释放外泌体。外泌体广泛存在于血液、尿液、唾液、乳汁和腹水等体液中并且状态稳定,例如血浆中 miRNA 主要富集于外泌体。深度测序分析发现,在人类血浆外泌体 RNA 中 miRNAs 的含量最为丰富,约有 593 种,5 种最常见的 miRNAs (miR-99a-5p、miR-128、miR-124-3p、miR-22-3p 和 miR-99b-5p) 占了总量的 48.99%^[22]。外泌体脂质双分子外膜可以保护其内 miRNA 不被 RNA 酶降解,为标本采集和储存提供便利,因此可作为肺部疾病诊断的生物学标志物。近期研究发现,利用特发性肺纤维化 (idiopathic pulmonary fibrosis, IPF) 病人唾液外泌体中 miRNA 的定量 PCR 技术,可以将外泌体源 miR-142-3p、miR-33-5p 和 let-7d-5p 作为 IPF 肺部疾病诊断的潜在生物学标志物^[40]。在慢性阻塞性肺病患者中,活化的多形核白细胞 (PMN) 分泌的病理性外泌体能够通过中性粒细胞弹性蛋白酶 (neutrophil elastase, NE) 的降解作用来显著破坏细胞外基质,从而加重肺组织损伤,因此该种外泌体可作为一种标志性肺炎致病因子^[41]。在呼吸道过敏性肺炎疾病中,血源性免疫细胞分泌的胞外 miRNA 和 EVs 囊泡水平与肺泡周围的炎症反应程度成正相关关系,其中 miR-223 和 miR-142a 在肺部炎症细胞浸润过程中起重要作用^[42]。因此,针对外泌体的细胞学和生理学功能水平研究对于肺部炎症疾病的诊断具有非常重要的科研价值。

2.3 外泌体 miRNA 对肺纤维化疾病的干预和预后标志物研究

多年来利用细胞分泌的外泌体 miRNA 对组织纤维化疾病的干预研究已有大量报道。间充质干细胞 (mesenchymal stem cells, MSCs) 是一种能够发育成硬骨、软骨、脂肪和其他类型细胞的成体干细胞,因其具有多向分化潜能、免疫调控和自我复制等特点在炎症损伤疾病中的重要作用日益凸显^[43]。有报道认为,利用 MSCs 来源的外泌体能够通过运输的 miRNA 来影响纤维化疾病的预后^[44]。例如,经过 miR-181-5p 修饰过的脂肪干细胞来源的外泌体能够通过激活自噬信号通路来抑制肝脏组织纤维化进程^[45]。对于肺组织纤维化的干细胞治疗已有科学家证明其良好的治疗效果与其释放的细胞微囊泡有关^[46]。人骨髓间充质干细胞 (bone marrow mesenchymal stem cells, BMSCs) 不仅能

通过 EVs 运输线粒体调控巨噬细胞的活性和肺组织的功能,干细胞来源的含有 miRNA 外泌体处理还能减轻实验性矽尘诱导肺纤维化的损伤,其中外泌体源 miR-451 在矽肺巨噬细胞活性的调控方面起重要作用^[47]。研究者对人 BMSCs 的外泌体中 miRNA 表达谱做了高通量基因分析,发现人 BMSCs 外泌体中含量最高的前 3 种 miRNA 为 miR-1246、miR-23a-3p 和 miR-451a,而且这些外泌体处理能明显抑制人心肌成纤维细胞胶原的生成^[48]。该结果也进一步确定外泌体中 miR-451 等非编码 RNA 分子在肺纤维化中具有重要的调控功能。此外,利用人脂肪间充质干细胞 (adipose-derived mesenchymal stem cells, ADSCs) 产生的 EVs 对矽肺纤维化小鼠进行气管内注射治疗,能够在胶原纤维含量、肺组织肉芽肿大小、肺泡中巨噬细胞数目、肺组织 IL-1 β 和 TGF- β 水平等指标上显著降低肺纤维化程度,并且在高剂量注射情况下比干细胞注射的干预效果更好^[49]。由于相关成熟的报道不多,ADSCs 的细胞学特性使利用该来源的外泌体治疗肺纤维化等炎症损伤疾病仍是比较前沿的医学热点领域。

除干细胞外泌体外,其他来源的外泌体在肺纤维化中的作用也有报道。在特发性肺纤维化病人的支气管肺泡灌洗液中,外泌体来源的 miR-30a 水平与纤维化程度成负相关,提示可以作为一种 IPF 疾病的预后生物学标志物。同时体外实验也证明过表达该种 miRNA 分子可以降低肺上皮 A549 细胞中 TGF- β 和 α 平滑肌蛋白的表达,提示可以延缓肺纤维化的进程^[50]。此外有细胞实验发现,miR-1343 能够被 HL-60 细胞的外泌体包装运载到肺上皮细胞中,并通过抑制 TGF- β 信号通路来缓解肺纤维化进程,结果表明 miR-1343 可以作为肺纤维化疾病的治疗新靶标分子^[51]。虽然有一些报道发现外泌体 miRNA 能够调节肺纤维化等肺部疾病的进程,但是针对不同细胞来源和不同的 miRNA 种类,作用效果和作用靶基因以及调节的信号通路有所差别,需要进一步系统地分析研究。

3 外泌体 miRNA 调控肺纤维化的机制

肺纤维化是一种发病机制复杂的肺部间质性疾病,主要是由肺泡上皮损伤引起的细胞外基质胶原蛋白沉积,从而导致不可逆性损伤的纤维化疾病。由于外泌体 miRNA 在疾病中的作用成为研究热点,越来越多的证据也表明,外泌体运输的 miRNA 可通过调控纤维化相关细胞功能和靶蛋白的表达以及

调节炎症免疫信号通路的方式参与肺纤维化进程.

3.1 对上皮-间充质细胞转分化的调控

上皮-间充质细胞转分化 (epithelial-mesenchymal transition, EMT), 是指上皮细胞通过特定程序转化为具有间质表型细胞的生物学过程, 是恶性肿瘤、器官纤维化和伤口愈合发生的细胞学基础, 有证据表明多种 miRNA 能够通过抑制病灶组织的 EMT 作用来发挥有效的抑制肿瘤转移的功能, 并且 TGF- β 也是关键调控因子^[52].

EMT 过程在肺间质纤维化生成中同样非常重要, 该领域也是肺纤维化发病机制的研究热点. 空气中 PM2.5 颗粒与肺纤维化疾病密切相关, 粉尘能够靶向肺上皮细胞、巨噬细胞和成纤维细胞发挥致纤维化的病理作用^[53]. 最新研究表明, 在低剂量 PM2.5 颗粒的暴露条件下, 人肺上皮细胞系 BEAS-2B 的 EMT 作用被刺激加强, 利用 RNA 测序发现上皮细胞源的外泌体中含有 32 种新型 miRNA 的表达和 843 种差异表达的蛋白质基因, 系统转录组学研究证明, PM2.5 引起的肺纤维化和肺癌等肺部疾病的致病机制中, 外泌体源 miRNA (exo-MiRs) 能够发挥潜在和强大的基因调控功能^[54]. 在 IPF 病人的痰液外泌体标志物的研究中首次发现, 外泌体中 miR-142-3p 水平升高可能导致间充质细胞增殖和分化的平衡关系改变, 该转变也是 IPF 进展过程中的重要特征. 此外, 外泌体 let-7d-5p 下调也与 IPF 病理进程和 EMT 过程发生密切相关^[40]. 基于对肺组织 EMT 过程的负向调控功能, 外泌体 miRNA 分子已经具有潜力能够作为肺纤维化疾病的新型治疗手段.

3.2 对成纤维细胞增殖和胶原生成的调控

正常生理情况下, 肺组织中成纤维细胞生长存在精确的调控, 肺内胶原的合成与降解处于平衡状态. 肺组织纤维化的特征是细胞外基质 (ECM) 新陈代谢的失衡导致胶原的大量过度沉积, 其中普遍伴随有致纤维因子 TGF- β 的明显上调. 多年来对 miRNA 影响胶原生成导致肺纤维化的报道已有很多, 但是对于外泌体中 miRNA 的调控功能还报道甚少^[55]. 有研究者在大鼠博来霉素诱导肺纤维化模型中发现, 上调的 M2 型巨噬细胞来源外泌体 miR-328 能够通过靶向负调控 FAM13A 基因表达促进肺间质成纤维细胞增殖, 并提高胶原蛋白 1A、胶原蛋白 3A 和 α -SMA 的表达量, 从而加快肺纤维化疾病的进程^[56]. 对 IPF 病人的支气管肺泡灌洗液 (BALF) 中外泌体 miRNA 进行基因芯片分析发现,

miR30a5p 表达水平明显下调, 利用双荧光素酶报告系统分析下游的调控靶基因为 TGF- β 活化激酶结合蛋白 3 (TGF- β activated kinase 1/MAP3K7 binding protein 3, TAB3), 功能实验表明 miR30a5p 能够负向调节 TAB3 基因表达, 促进 α -SMA 和纤维连接蛋白的产生, 进而促进肺纤维化的进程^[50].

巨噬细胞来源的外泌体 miR-155 能够通过调控成纤维细胞增殖和促进细胞炎症反应以及胶原蛋白生成来影响器官纤维化疾病的进程, 提示对肺纤维化治疗具有潜在价值^[57]. 此外有报道认为, 人 BMSCs 分泌的胞外囊泡干预能够阻断 TGF- β 1 诱导的肌纤维母细胞分化, 并且在细胞间的囊泡吸收过程可能是 Thy-1 表面糖蛋白依赖方式, 囊泡中 miR-630 等 miRNA 靶向调节下游促纤维化的基因表达是主要的调控机制^[58]. 以上证据间接提示, 外泌体 miRNA 很可能通过影响成纤维细胞的增殖和分化来调控肺纤维化进程.

3.3 对巨噬细胞极化和活化过程的调控

肺纤维化的病理生物学过程是由 EMT 过程信号异常引起的, 但炎症细胞由于参与了伤口早期的正常愈合, 因而也起着重要的作用^[4]. 巨噬细胞由于在炎症和创伤愈合中发挥重要作用, 是肺纤维化的核心调控细胞. 成熟巨噬细胞能够在多种因素诱导下呈现出表型和功能分化, 即极化现象, 该极化过程在多种疾病的免疫病理学进程中有重要作用. 例如, LPS 预处理 MSCs 能够通过外泌体运送 let-7b 来调控巨噬细胞极化过程, 进而可以抑制慢性炎症反应达到促进伤口愈合的目的^[59]. 活化的肺泡巨噬细胞 (alveolar macrophage, AM) 释放的细胞因子和炎性递质在早期肺损伤中起主要作用. 在 IPF 发展过程中, AM 在不同发病阶段向不同细胞表型极化, 其极化表型包括 M1 型和 M2 型, 极化机制与 TGF- β 1/Smad 途径关系密切^[60]. 最近在利用 BMSCs 治疗 IPF 疾病的研究中发现, 干细胞外泌体对肺纤维化的免疫调控作用主要通过系统性调节肺泡中单核细胞表型来进行, 其中减轻肺部炎症的分子机制可能包括外泌体中的多种蛋白质和 miRNA 分子调节^[61]. 已有学者证明, 利用血清来源的外泌体作为载体运送特定 miRNA 分子到患者的肺巨噬细胞内, 可能是一种新的肺部炎症疾病的基因治疗策略^[62].

肺上皮细胞和肺泡巨噬细胞的细胞间通讯交流作用在宿主对抗急性肺损伤中作用非常重要. 肺上

皮细胞释放的富含 miRNA 微泡能够引发高氧导致的肺部炎症,这种递送过程是通过巨噬细胞的激活来介导的,其中 miR-320a 和 miR-221 是重要的促炎效应分子^[63].但是也有报道认为,MSCs 来源的外泌体治疗可抑制高氧导致的肺部炎症,这对缓解高氧所致的支气管肺发育不良症(BPD)和改善肺纤维化以及肺血管重构有重要作用,其作用机制与肺巨噬细胞极化过程介导的免疫调控有关^[64].在肺纤维化疾病中,外泌体 miRNA 对肺泡巨噬细胞的调控功能和机制研究报道还比较少,亟待更多的研究者深入探索.

3.4 对肺组织细胞损伤和衰老的调控

肺泡上皮细胞(alveolar epithelial cells, AECs)的损伤和异常修复也是导致肺纤维化的重要机制.损伤发生后,修复过程不能完成正常的再上皮化过程,从而导致肺泡毛细血管损伤^[65].有研究发现,内皮前体细胞(EPC)分泌的外泌体能够通过特异性运载 miR-126 分子来减轻 LPS 引起的小鼠急性肺损伤^[66].最新证据表明,MSCs 源外泌体能够通过 miR-30b-3p 的调节作用为急性肺损伤疾病提供保护功能,体外和体内实验均证明过表达 miR-30b-3p 的外泌体能够抑制血清淀粉样蛋白 3(SAA3)的表达水平,进而缓解 LPS 引起的 II 型 AECs 肺组织细胞损伤^[67].miR-1343 的调控对肺上皮细胞系 A549 下游 TGF- β 通路的激活非常重要,并且它能够以外泌体内含物的形式运载到原代肺成纤维细胞内从而明显缓解受体细胞的 TGF- β 介导的纤维化进程,因此提示了一种新型抗肺纤维化的治疗策略^[51].

有研究表明细胞衰老参与了 IPF 疾病的发病过程并起重要的作用,肺部 AECs 衰老的机制及 AECs 衰老在 IPF 病理中的作用尚不十分清楚^[68].调查显示患者老龄现象是 IPF 疾病发展的主要危险因素,其发病率和患病率随年龄的增长而显著增加,患者肺部上皮细胞和成纤维细胞的功能缺陷也能加速衰老进程^[69].细胞分泌的衰老相关分泌表型(senescence-associated secretory phenotype, SASP)因子(例如 IL-1 β)与外泌体囊泡及其内含物 miRNA 在衰老相关的肺部疾病中均具有重要的调节作用,具体机制可能与细胞自噬有关^[70].此外报道显示,由于 miR-21-5p 在细胞衰老相关炎症过程中起重要的调控作用,并且 IPF 患者血清外泌体中 miR-21-5p 的水平与健康对照相比呈明显升高趋势,因此有可能作为 IPF 诊断和预后的标志物分

子^[71-72].虽然 miRNA 分子对肺组织细胞的衰老调节机制已有一些报道,但是对于外泌体 miRNA 是否影响肺纤维化患者 AECs 的衰老进程还知之甚少,需要今后加强该领域的进一步研究.

4 展 望

外泌体作为一种携带蛋白质、核酸和脂类等内含物的纳米级细胞外囊泡,在人体复杂的病理和生理网络中发挥着重要的细胞间通讯作用.外泌体携带的各种活性组分不但代表了来源组织细胞的功能状态,也对受体细胞的功能表型及其体内微环境具有及其重要的调节作用.由于能够通过靶基因结合来调节蛋白质的翻译表达,外泌体 miRNA 不但作为生物学标志物与多种肿瘤疾病的发生发展有着密切关系,对于多种原因诱发的肺部疾病尤其是肺组织纤维化也具有多层次和多途径的干预调控功能,但是具体调节机制尚不十分清楚,亟待深入探索研究.

近年来高特异性的外泌体富集分离技术和高灵敏外泌体检测分析方法突飞猛进,随着第三代高通量单分子 RNA 测序技术的发展,外泌体 miRNA 在重大疾病中的生物学特性和功能研究日益被人们所重视并成为热点领域.目前,IPF 和矽尘诱导肺纤维化疾病还没有明确的液体诊断分子标志物.外泌体由于独特的膜结构使其内部的 miRNA 稳定性大大增强,可以抵抗恶劣的环境干扰,例如低 pH 值和 RNA 酶介导的降解反应.外泌体作为一种新型非编码 RNA 的运载工具,具有高效的运载效能,因而也能够为高效药物投递策略提供天然的内源性纳米载体.综上所述,外泌体来源的 miRNA 不仅能够作为潜在肺纤维化疾病的诊断和预后的生物学标志物,该领域研究对未来利用干细胞源外泌体干预肺纤维化的医学研究也将奠定重要的理论基础和提供新的策略思路.

参 考 文 献

- [1] Raposo G, Stoorvogel W. Extracellular vesicles: exosomes, microvesicles, and friends. *J Cell Biol*, 2013, **200**(4): 373-383
- [2] Mathivanan S, Ji H, Simpson R J. Exosomes: extracellular organelles important in intercellular communication. *J Proteomics*, 2010, **73**(10): 1907-1920
- [3] Johnstone R M, Adam M, Hammond J R, *et al*. Vesicle formation during reticulocyte maturation. Association of plasma membrane activities with released vesicles (exosomes). *J Biol Chem*, 1987, **262**(19): 9412-9420

- [4] Kinoshita T, Goto T. Molecular mechanisms of pulmonary fibrogenesis and its progression to lung cancer: a review. *Int J Mol Sci*, 2019, **20**(6). pii: E1461
- [5] Mathieu M, Martin-Jaular L, Lavieu G, *et al.* Specificities of secretion and uptake of exosomes and other extracellular vesicles for cell-to-cell communication. *Nat Cell Biol*, 2019, **21**(1): 9-17
- [6] Zhang H, Freitas D, Kim H S, *et al.* Identification of distinct nanoparticles and subsets of extracellular vesicles by asymmetric flow field-flow fractionation. *Nat Cell Biol*, 2018, **20**(3): 332-343
- [7] Shao H, Im H, Castro C M, *et al.* New technologies for analysis of extracellular vesicles. *Chem Rev*, 2018, **118**(4): 1917-1950
- [8] Taylor D D. Isolation and molecular characterization of extracellular vesicles. *Methods*, 2015, Oct **1**(87): 1-2
- [9] Thery C, Zitvogel L, Amigorena S. Exosomes: composition, biogenesis and function. *Nat Rev Immunol*, 2002, **2**(8): 569-579
- [10] Trajkovic K, Hsu C, Chiantia S, *et al.* Ceramide triggers budding of exosome vesicles into multivesicular endosomes. *Science*, 2008, **319**(5867): 1244-1247
- [11] Van Niel G, Porto-Carreiro I, Simoes S, *et al.* Exosomes: a common pathway for a specialized function. *J Biochem*, 2006, **140**(1): 13-21
- [12] Aghabozorgi A S, Ahangari N, Eftekhaari T E, *et al.* Circulating exosomal miRNAs in cardiovascular disease pathogenesis: new emerging hopes. *J Cell Physiol*, 2019, **234**(12): 21796-21809
- [13] Colombo M, Raposo G, Thery C. Biogenesis, secretion, and intercellular interactions of exosomes and other extracellular vesicles. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 2014, **30**(10): 255-289
- [14] Pegtel D M, Gould S J. Exosomes. *Annu Rev Biochem*, 2019, **88**(6): 487-514
- [15] Ostrowski M, Carmo N B, Krumeich S, *et al.* Rab27a and Rab27b control different steps of the exosome secretion pathway. *Nat Cell Biol*, 2010, **12**(1): 19-30; suppl 11-13
- [16] Yu X, Harris S L, Levine A J. The regulation of exosome secretion: a novel function of the p53 protein. *Cancer Res*, 2006, **66**(9): 4795-4801
- [17] Jeppesen D K, Fenix A M, Franklin J L, *et al.* Reassessment of exosome composition. *Cell*, 2019, **177**(2): 428-445 e418
- [18] Van Niel G, D'angelo G, Raposo G. Shedding light on the cell biology of extracellular vesicles. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2018, **19**(4): 213-228
- [19] Zhang J, Li S, Li L, *et al.* Exosome and exosomal microRNA: trafficking, sorting, and function. *Genomics Proteomics Bioinformatics*, 2015, **13**(1): 17-24
- [20] Valadi H, Ekstrom K, Bossios A, *et al.* Exosome-mediated transfer of mRNAs and microRNAs is a novel mechanism of genetic exchange between cells. *Nat Cell Biol*, 2007, **9**(6): 654-659
- [21] Alipoor S D, Mortaz E, Garssen J, *et al.* Exosomes and exosomal miRNA in respiratory diseases. *Mediators Inflamm*, 2016, **2016**: 5628404
- [22] Huang X, Yuan T, Tschannen M, *et al.* Characterization of human plasma-derived exosomal RNAs by deep sequencing. *BMC Genomics*, 2013, **14**: 319
- [23] Kahlert C, Melo S A, Protopopov A, *et al.* Identification of double-stranded genomic DNA spanning all chromosomes with mutated KRAS and p53 DNA in the serum exosomes of patients with pancreatic cancer. *J Biol Chem*, 2014, **289**(7): 3869-3875
- [24] Thakur B K, Zhang H, Becker A, *et al.* Double-stranded DNA in exosomes: a novel biomarker in cancer detection. *Cell Res*, 2014, **24**(6): 766-769
- [25] Tkach M, Thery C. Communication by extracellular vesicles: where we are and where we need to go. *Cell*, 2016, **164**(6): 1226-1232
- [26] Boelens M C, Wu T J, Nabet B Y, *et al.* Exosome transfer from stromal to breast cancer cells regulates therapy resistance pathways. *Cell*, 2014, **159**(3): 499-513
- [27] Pitt J M, Kroemer G, Zitvogel L. Extracellular vesicles: masters of intercellular communication and potential clinical interventions. *J Clin Invest*, 2016, **126**(4): 1139-1143
- [28] Gao L, Wang L, Dai T, *et al.* Tumor-derived exosomes antagonize innate antiviral immunity. *Nat Immunol*, 2018, **19**(3): 233-245
- [29] Lindenbergh M F S, Stoorvogel W. Antigen presentation by extracellular vesicles from professional antigen-presenting cells. *Annu Rev Immunol*, 2018, **36**: 435-459
- [30] Poggio M, Hu T, Pai C C, *et al.* Suppression of exosomal PD-L1 induces systemic anti-tumor immunity and memory. *Cell*, 2019, **177**(2): 414-427. e413
- [31] Schirle N T, Sheu-Gruttadauria J, Macrae I J. Structural basis for microRNA targeting. *Science*, 2014, **346**(6209): 608-613
- [32] Guduric-Fuchs J, O'connor A, Camp B, *et al.* Selective extracellular vesicle-mediated export of an overlapping set of microRNAs from multiple cell types. *BMC Genomics*, 2012, **13**: 357
- [33] Melo S A, Sugimoto H, O'connell J T, *et al.* Cancer exosomes perform cell-independent microRNA biogenesis and promote tumorigenesis. *Cancer Cell*, 2014, **26**(5): 707-721
- [34] Villarroya-Beltri C, Gutierrez-Vazquez C, Sanchez-Cabo F, *et al.* Sumoylated hnRNPA2B1 controls the sorting of miRNAs into exosomes through binding to specific motifs. *Nat Commun*, 2013, **4**: 2980
- [35] Ji X, Wu B, Fan J, *et al.* The anti-fibrotic effects and mechanisms of microRNA-486-5p in pulmonary fibrosis. *Sci Rep*, 2015, **5**: 14131
- [36] Gao Z J, Yuan W D, Yuan J Q, *et al.* miR-486-5p functions as an oncogene by targeting PTEN in non-small cell lung cancer. *Pathol Res Pract*, 2018, **214**(5): 700-705
- [37] Capello M, Vykoukal J V, Katayama H, *et al.* Exosomes harbor B cell targets in pancreatic adenocarcinoma and exert decoy function against complement-mediated cytotoxicity. *Nat Commun*, 2019, **10**(1): 254
- [38] Jalalian S H, Ramezani M, Jalalian S A, *et al.* Exosomes, new biomarkers in early cancer detection. *Anal Biochem*, 2019,

- 571: 1-13
- [39] 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. *Clin Cancer Res*, 2017, **23**(17): 5311-5319
- [40] Njock M S, Guiot J, Henket M A, *et al.* Sputum exosomes: promising biomarkers for idiopathic pulmonary fibrosis. *Thorax*, 2019, **74**(3): 309-312
- [41] Genschmer K R, Russell D W, Lal C, *et al.* Activated PMN exosomes: pathogenic entities causing matrix destruction and disease in the lung. *Cell*, 2019, **176**(1-2): 113-126. e115
- [42] Pua H H, Happ H C, Gray C J, *et al.* Increased hematopoietic extracellular RNAs and vesicles in the lung during allergic airway responses. *Cell Rep*, 2019, **26**(4): 933-944. e4
- [43] Shi Y, Wang Y, Li Q, *et al.* Immunoregulatory mechanisms of mesenchymal stem and stromal cells in inflammatory diseases. *Nat Rev Nephrol*, 2018, **14**(8): 493-507
- [44] Qiu G, Zheng G, Ge M, *et al.* Mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles affect disease outcomes *via* transfer of microRNAs. *Stem Cell Res Ther*, 2018, **9**(1): 320
- [45] Qu Y, Zhang Q, Cai X, *et al.* Exosomes derived from miR-181-5p-modified adipose-derived mesenchymal stem cells prevent liver fibrosis *via* autophagy activation. *J Cell Mol Med*, 2017, **21**(10): 2491-2502
- [46] Choi M, Ban T, Rhim T. Therapeutic use of stem cell transplantation for cell replacement or cytoprotective effect of microvesicle released from mesenchymal stem cell. *Mol Cells*, 2014, **37**(2): 133-139
- [47] Phinney D G, Di Giuseppe M, Njah J, *et al.* Mesenchymal stem cells use extracellular vesicles to outsource mitophagy and shuttle microRNAs. *Nat Commun*, 2015, **6**: 8472
- [48] Ferguson S W, Wang J, Lee C J, *et al.* The microRNA regulatory landscape of MSC-derived exosomes: a systems view. *Sci Rep*, 2018, **8**(1): 1419
- [49] Bandeira E, Oliveira H, Silva J D, *et al.* Therapeutic effects of adipose-tissue-derived mesenchymal stromal cells and their extracellular vesicles in experimental silicosis. *Respir Res*, 2018, **19**(1): 104
- [50] Liu B, Jiang T, Hu X, *et al.* Downregulation of microRNA30a in bronchoalveolar lavage fluid from idiopathic pulmonary fibrosis patients. *Mol Med Rep*, 2018, **18**(6): 5799-5806
- [51] Stolzenburg L R, Harris A. Microvesicle-mediated delivery of miR-1343: impact on markers of fibrosis. *Cell Tissue Res*, 2018, **371**(2): 325-338
- [52] Micalizzi D S, Christensen K L, Jedlicka P, *et al.* The Six1 homeoprotein induces human mammary carcinoma cells to undergo epithelial-mesenchymal transition and metastasis in mice through increasing TGF-beta signaling. *J Clin Invest*, 2009, **119**(9): 2678-2690
- [53] Xu Z, Li Z, Liao Z, *et al.* PM2.5 induced pulmonary fibrosis *in vivo* and *in vitro*. *Ecotoxicol Environ Saf*, 2019, **171**: 112-121
- [54] Xu Z, Wang N, Xu Y, *et al.* Effects of chronic PM2.5 exposure on pulmonary epithelial transcriptome analysis of mRNA-exosomal miRNA interactions. *Toxicol Lett*, 2019, **316**: 49-59
- [55] Guiot J, Struman I, Louis E, *et al.* Exosomal miRNAs in lung diseases: from biologic function to therapeutic targets. *J Clin Med*, 2019, **8**(9). pii: E1345
- [56] 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. *Exp Mol Med*, 2019, **51**(6): 63
- [57] Wang C, Zhang C, Liu L, *et al.* Macrophage-derived mir-155-containing exosomes suppress fibroblast proliferation and promote fibroblast inflammation during cardiac injury. *Mol Ther*, 2017, **25**(1): 192-204
- [58] Shentu T P, Huang T S, Cernelc-Kohan M, *et al.* Thy-1 dependent uptake of mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles blocks myofibroblastic differentiation. *Sci Rep*, 2017, **7**(1): 18052
- [59] Ti D, Hao H, Tong C, *et al.* LPS-preconditioned mesenchymal stromal cells modify macrophage polarization for resolution of chronic inflammation *via* exosome-shuttled let-7b. *J Transl Med*, 2015, **13**: 308
- [60] Zhang L, Wang Y, Wu G, *et al.* Macrophages: friend or foe in idiopathic pulmonary fibrosis? *Respir Res*, 2018, **19**(1): 170
- [61] Mansouri N, Willis G R, Fernandez-Gonzalez A, *et al.* Mesenchymal stromal cell exosomes prevent and revert experimental pulmonary fibrosis through modulation of monocyte phenotypes. *JCI Insight*, 2019, pii: 128060
- [62] Zhang D, Lee H, Wang X, *et al.* Exosome-mediated small RNA delivery: a novel therapeutic approach for inflammatory lung responses. *Mol Ther*, 2018, **26**(9): 2119-2130
- [63] Lee H, Zhang D, Zhu Z, *et al.* Epithelial cell-derived microvesicles activate macrophages and promote inflammation *via* microvesicle-containing microRNAs. *Sci Rep*, 2016, **6**: 35250
- [64] Willis G R, Fernandez-Gonzalez A, Anastas J, *et al.* Mesenchymal stromal cell exosomes ameliorate experimental bronchopulmonary dysplasia and restore lung function through macrophage immunomodulation. *Am J Respir Crit Care Med*, 2018, **197**(1): 104-116
- [65] Leung J, Cho Y, Lockey R F, *et al.* The role of aging in idiopathic pulmonary fibrosis. *Lung*, 2015, **193**(4): 605-610
- [66] Wu X, Liu Z, Hu L, *et al.* Exosomes derived from endothelial progenitor cells ameliorate acute lung injury by transferring miR-126. *Exp Cell Res*, 2018, **370**(1): 13-23
- [67] Yi X, Wei X, Lv H, *et al.* Exosomes derived from microRNA-30b-3p-overexpressing mesenchymal stem cells protect against lipopolysaccharide-induced acute lung injury by inhibiting SAA3. *Exp Cell Res*, 2019, **383**(2): 111454
- [68] Miao C, Xiong Y, Zhang G, *et al.* MicroRNAs in idiopathic pulmonary fibrosis, new research progress and their

- pathophysiological implication. *Exp Lung Res*, 2018, **44**(3): 178-190
- [69] Minagawa S, Araya J, Numata T, *et al.* Accelerated epithelial cell senescence in IPF and the inhibitory role of SIRT6 in TGF-beta-induced senescence of human bronchial epithelial cells. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2011, **300**(3): L391-401
- [70] Kadota T, Fujita Y, Yoshioka Y, *et al.* Emerging role of extracellular vesicles as a senescence-associated secretory phenotype: insights into the pathophysiology of lung diseases. *Mol Aspects Med*, 2018, **60**: 92-103
- [71] Makiguchi T, Yamada M, Yoshioka Y, *et al.* Serum extracellular vesicular miR-21-5p is a predictor of the prognosis in idiopathic pulmonary fibrosis. *Respir Res*, 2016, **17**(1): 110
- [72] Olivieri F, Albertini M C, Orciani M, *et al.* DNA damage response (DDR) and senescence: shuttled inflamma-miRNAs on the stage of inflamm-aging. *Oncotarget*, 2015, **6**(34): 35509-35521

Study on The Biological Function of Exosomal miRNA and Its Regulation in Pulmonary Fibrosis Disease^{*}

ZHANG Hua-Wei, YU Li-Jia, ZHANG Chun-Min, ZHANG Yan-Song, SHI Xiao-Dong^{**}

(National Center for Occupational Safety and Health, National Health Commission of the People's Republic of China, Beijing 102308, China)

Abstract Exosome is a kind of micro and nanometer level extracellular vesicles. Because it can directly participate in the transmission of information between cells and the transport of substances, exosome is considered to be an important carrier of biomarkers for intercellular communication, immunomodulation, disease diagnosis and prognosis. In addition, the nucleic acid and protein contained in exosome can affect significantly the physiological state of recipient cells. As an endogenous non-coding microRNA, miRNA is of great value in the diagnosis and treatment of diseases. There is a great deal of evidence that these molecules play a role in controlling and regulating the pathogenesis of lung diseases. This review article focuses on the biological characteristics and functional fields of exosome derived miRNA in recent years, and summarizes the regulation function and mechanism of exosomal miRNA in lung diseases, especially pulmonary fibrosis, which is a hot topic in biomedical research in recent years. Therefore, it can not only act as a new molecular biomarker for the diagnosis of pulmonary fibrosis, but also suggest a new therapy strategy for exosomal intervention of pulmonary fibrosis.

Key words extracellular vesicles, exosome, miRNA, pulmonary fibrosis, regulation function

DOI: 10.16476/j.pibb.2019.0110

* This work was supported by a grant from Key Research Project of National Center for Occupational Safety and Health, NHC (2019013).

** Corresponding author.

Tel: 86-10-56153680, E-mail: xdshi_7603@sina.com

Received: May 17, 2019 Accepted: October 14, 2019