



运动经外泌体防治肌少症的研究进展*

柯志飞¹⁾ 尚画雨²⁾ 雷槟恺¹⁾ 曹春霞¹⁾ 王 祯¹⁾ 王瑞元^{1)**} 李俊平^{1)**}

(¹⁾ 北京体育大学运动人体科学学院, 北京 100084; (²⁾ 成都体育学院运动医学与健康学院, 成都 610041)

摘要 肌少症 (sarcopenia) 是以骨骼肌质量和肌力进行性下降为特征的增龄性综合征, 探究其发病机理对于肌少症的预防与治疗具有重要意义。研究表明, 外泌体 (exosomes) 与肌少症关联密切, 可能是一种有益的削弱/防治手段, 但其机制尚未厘清。近期研究表明, 外泌体富含运动因子/细胞因子, 其不仅参与机体细胞与组织间的交互作用 (cross talk), 亦介导了包括骨骼肌细胞增殖与分化在内的诸多病理生理过程。此外, 运动可通过促进外泌体的释放并调节外泌体携带的 miRNAs 和/或蛋白质的表达, 从而有效改善肌少症。本文就外泌体及其生物学特性以及外泌体与肌少症之间的关系进行归纳梳理, 总结并分析运动对外泌体的影响及其可能机制, 以期对肌少症的防治提供新的策略。

关键词 外泌体, miRNAs, 运动, 肌少症, 防治, 策略

中图分类号 G80.23

DOI: 10.16476/j.pibb.2021.0085

人口老龄化是全球日益面临的一大挑战。据不完全统计, 2019 年全球老龄化人口已达 7.03 亿。截至 2020 年, 中国老龄化人口增至 2.48 亿, 约占总人口 17%^[1], 因此衰老及其相关疾病尤其是肌少症 (sarcopenia) 已成为亟待解决的公共健康问题之一。肌少症又称增龄性肌萎缩、衰老性肌萎缩或肌肉衰减症, 其主要表征为骨骼肌质量、力量与功能的进行性丢失, 与诸多因素包括体力活动不足、营养缺乏、骨骼肌功能下降、跌倒和骨折等密切相关^[2], 探究肌少症的发病机理及其治疗手段是防治肌少症的关键。

外泌体 (exosomes, EXOs) 是核内体 (endosome) 主动分泌的一类纳米级囊泡 (nanovesicles)^[3]。新近研究表明, 骨骼肌细胞分泌的 EXOs 及其携带的 miRNAs 可能是防治肌少症的关键因子, 其本身还具有性质稳定且易保存/提取等诸多优点, 故已被视为防治肌少症的新方向^[4-6]。另外, 目前临床治疗肌少症以药物、物理等手段为主, 但疗效甚微, 而运动作为一种新的防治肌少症的有效手段, 正逐渐受到学者关注。因此, 笔者就 EXOs 及其生物学特性以及 EXOs 与肌少症之间的关系进行归纳梳理, 总结并分析运动对 EXOs 的影响及其可能机制, 以期对肌少症的防治提供新的

策略。

1 外泌体

1.1 外泌体概述

EXOs 最初是在体外培养的绵羊红细胞上清液中被发现。后续研究显示, 机体大多数细胞例如心肌细胞、平滑肌细胞、内皮细胞, 间充质干细胞 (MSCs) 和单核细胞等均具有释放 EXOs 的能力^[7-9]。随着研究的深入, 学者在尿液、汗液、血液、唾液等生物液中亦探寻到了 EXOs 的痕迹^[10-12]。EXOs 是细胞主动分泌的“杯状”纳米级囊泡样小体, 大小较为均一, 直径为 30~150 nm (平均直径约 100 nm), 密度为 1.10~1.18 kg/L^[13]。此外, EXOs 内包含大量的蛋白质、脂质、DNA、mRNA、miRNA 和非编码 RNA (non-coding RNA, ncRNA) 等。其中的蛋白质主要包括凋亡相关基因 2 相互作用蛋白 x (Alix)、肿瘤抑制因子 101

* 国家自然科学基金 (31471133) 和中央高校基本科研业务费专项资金 (2019PT013, 校2020025, 20211014) 资助项目。

** 通讯联系人。

李俊平 Tel: 010-62989580, E-mail: doctorlj@126.com

王瑞元 Tel: 010-62989582, E-mail: wangruiyuan2018@sina.com

收稿日期: 2021-05-27, 接受日期: 2021-07-05

(Tsg101)、网格蛋白 (clathrin)、整合素 (integrins)、四跨膜家族蛋白 (CD9、CD63、CD81 和 CD82)、浮舰蛋白 1 (Flot-1)、热休克蛋白 70/90 (Hsp70/Hsp90) 及相关转运蛋白和融合蛋白 Ras 相关 GTPase 蛋白 AB 等^[14-15]; 其还含有多种脂质, 诸如神经酰胺、胆固醇以及磷酸甘油等^[16]。此外, EXOs 亦可作为一类区别于凋亡小体 (ABs) 的细胞外囊泡 (extracellular vesicles, EVs)。EVs 直径比 EXOs 直径略大, 约 100~1 000 nm, 而 ABs 更大, 约 500~5 000 nm。最近, 甚至有学者提议将 “exosomes” 更改为 “small extracellular vesicles”。

1.2 外泌体生物学特征

起初, EXOs 被认为是一种细胞清除自身不需要物质的一种方式^[17]。但近期研究表明, EXOs 可通过携带的核酸 (包括 mRNAs、miRNAs)、蛋白质和脂质等活性物质与细胞进行物质交换和信息交流, 并广泛参与机体病理和生理进程^[18-19]。其中, EXOs 的作用与母体细胞的功能密不可分, 通常认为, EXOs 在母体细胞中维持内外环境稳态, 在受体细胞中通过交互作用 (cross talk) 参与细胞、组织、器官交流^[20-22], 但其分子机制尚不明确。

EXOs 生物发生作为蛋白质质量控制的一种机制, 是一个复杂又连续的过程。首先, EXOs 是由内体分选复合物 (endosomal sorting complex required for transport, ESCRT) 经质膜出芽形成早期内体 (ESE), 随后 ESE 经两次内陷形成腔内囊

泡/小泡 (intraluminal vesicles, ILVs) 和多泡体 (multivesicular bodies, MVBs)^[23]。其中, 第一次内陷形成一种 “杯状” 或 “双凹碟” 样小泡; 第二次内陷会在内体腔内形成更小的囊泡, 最终生成成熟的 MVBs。最后, ILVs 通过 MVBs 与膜融合后以胞吞和胞吐的形式分泌出胞外, 即 EXOs^[24-25]。此外, EXOs 亦可经非 ESCRT 机制与膜上受体交互后形成神经酰胺等脂类物质, 再促使细胞内体限制性膜内陷形成 ILVs, 最终出芽形成 EXOs^[15, 26]。需注意的是, 经组装后的 MVBs 是由几十个晚期内体组成, 随后被运输至反式高尔基体 (trans-Golgi, TGN) 参与内体循环, 最终与溶酶体融合, 随后其自身降解或与质膜融合, 后者释放 EXOs 至胞外^[27-28]。另外, MVBs 与膜融合的过程是受机体精密调控的, 且该过程需要小分子 Rab GTPases 和 SNARE 复合体等充当媒介。当 EXOs 从胞内被释放出, 与相邻/远距的细胞、组织以内分泌和/或旁分泌的形式进行 “cross talk”。EXOs 的 “cross talk” 方式分为 3 种: a. 与细胞膜直接融合; b. 特异性受体与膜交互后内化 EXOs; c. 经内化后的 EXOs 与受体细胞交互后在靶细胞中被释放 (图 1)^[29-30]。可见, 一方面 EXOs 作为关键的 “cross talk” 载体, 将自身传递至靶细胞, 甚至改变自身生理状态及功能; 另一方面, EXOs 是机体细胞排泄废物的重要途径, 从而清除有害的或未经利用的蛋白质及 RNA。

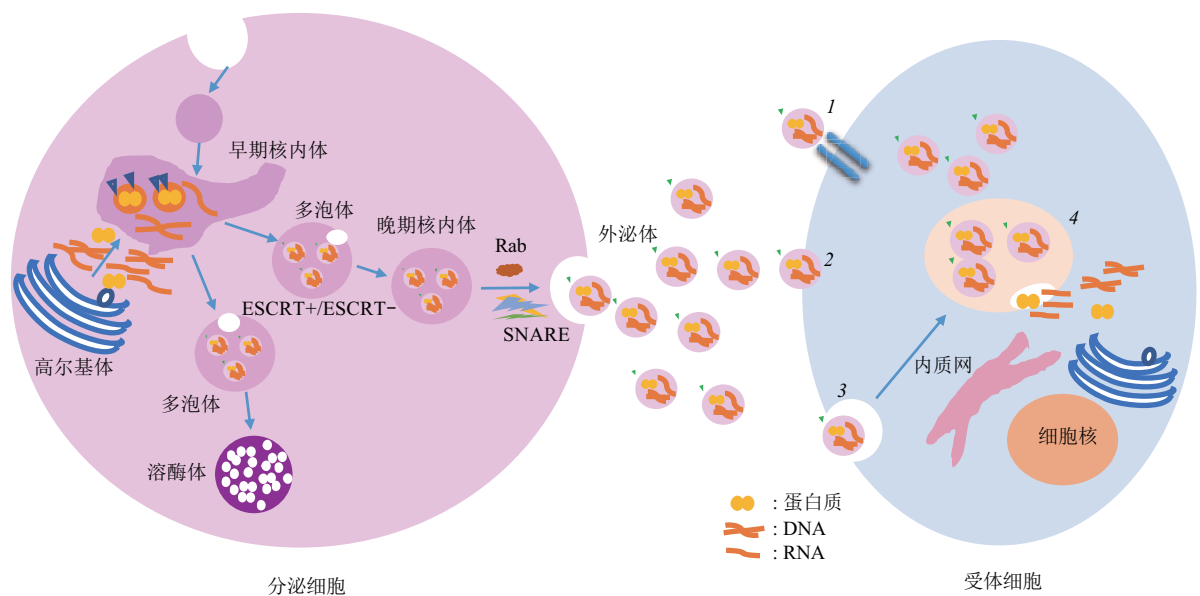


Fig. 1 The formation and biological function of EXOs^[29-31]

图1 EXOs的形成及生物学作用^[29-31]

1: 与细胞膜直接融合; 2: 特异性受体与受体膜相互作用后, 再通过内吞作用内化EXOs; 3: 内吞入细胞内; 4: 在细胞质内释放内容物。

2 外泌体与运动

研究表明,一方面运动可介导骨骼肌细胞分泌细胞因子/运动因子(exerkine),并将这些因子释放至循环中,促进器官、组织和细胞“cross talk”^[19, 32-33];另一方面EVs(包括EXOs)亦与运动因子一同分泌并充当细胞间通信的载体^[34],因此,学者逐渐聚焦这种由运动诱导的小分子物质在机体适应性反应包括释放、运输和/或细胞通讯中的作用。此外,运动可促进EXOs的释放与分泌,但不同的运动方式对EXOs的影响差异较大,这可能与运动方式、运动强度及个体差异等因素有关。基于此,本文从急性运动和长期运动两方面探讨对EXOs的影响(表1)。

2.1 外泌体与急性运动

研究表明,急性运动可促进EXOs释放,并增强机体组织、器官的通讯交流。就急性耐力运动而言,13名中青年受试者经一次20 min跑后,汗液中EXOs释放明显增加,且Alix、CD63和HSP70等蛋白质表达显著升高^[10]。Brahmer等^[35]研究表明,急性增量自行车运动后,血浆EXOs标志蛋白(CD9、CD63、CD81、Flot-1、Alix、Tsg101等)的表达明显增加,但EXOs数量及浓度无明显变化。Oliveira等^[36]发现Wistar大鼠经急性耐力运动后,与对照组相比,其血清EXOs浓度及CD63表达显著升高,且CD63表达随运动强度逐渐升高,提示EXOs释放可能与运动强度有关。此外,急性耐力运动后,男性运动员血小板EXOs增加2.9倍,骨骼肌EXOs标志蛋白Alix急剧下降,随运动时间增加循环EXOs数量及浓度逐渐升高^[37]。这些研究表明急性耐力运动可促进EXOs释放,且可能与运动强度有关,但能否引发EXOs量变仍存争议。

据报道,急性耐力运动也可促进循环中的免疫细胞如内皮细胞、单核细胞、血小板以及淋巴细胞等释放EXOs^[35]。例如,青年男性经一次60 min自行车骑行后,血浆中超过300种蛋白质、EXOs和EVs水平明显升高^[38]。Nair等^[39]近期报道以久坐和有训练史的老年男性为研究对象,行急性耐力运动干预观察运动后血浆EXOs变化。与久坐老年男性相比,有训练史的老年男性血浆EXOs释放显著增加,再经RNA测序发现血浆EXOs-miRNAs(包括miR-486-5p、miR-215-5p和miR-941)水平明显升高,而EXOs-miR-151b明显降低,提示急性运动能促进EXOs的释放,并可能改变某些特定

miRNAs的水平。

除急性耐力运动之外,学者亦探讨了急性抗阻运动对EXOs的影响。例如,Annibalini等^[40]以有抗阻运动史的青年男性为研究对象,发现急性抗阻运动2 h后血浆EXOs增加了2倍,说明急性抗阻运动能促进EXOs释放。但目前急性抗阻运动与EXOs的研究尚少,相关机制仍不清晰,故未来可进一步深入研究以厘清二者关系。除此之外,亦有研究探讨急性耐力+抗阻复合运动对EXOs的影响。如Garner等^[41]对久坐青年男性行一次急性耐力+抗阻运动,运动后血浆EXOs释放明显增加。此外,Lovett等^[42]对无训练史的青年男性受试者进行一项两次连续立定跳跃和下坡跑运动发现,运动后0~24 h内血浆EXOs数量无显著变化。说明急性复合运动与EXOs相互关系尚存争议。一方面EXOs变化可能与运动方式、运动强度有关,另一方面可能并非其数量改变,而是促进机体组织与器官通讯,从而促使EXOs发生质变,仍有待后续研究并证实。

2.2 外泌体与长期运动

除上述急性运动对EXOs的影响之外,有研究探讨了长期运动对EXOs的影响。例如,Chaturvedi等^[43]对db/db小鼠进行8周耐力运动干预,结果表明,与对照组相比,运动组心肌Flot-1和CD81蛋白表达显著升高,提示运动可促进EXOs释放与分泌。其他研究呈现了相似的变化^[44-46],Castano等^[46]发现,5周高强度间歇训练运动后小鼠血浆EXOs释放增加,CD63、CD9和HSP90蛋白表达升高。Bei等^[45]研究表明,经3周游泳运动后,小鼠血液中EXOs数量增加1.85倍。之后再通过IGF-1激活剂以模拟运动刺激H9C2细胞,结果显示,心肌细胞中EXOs数量及浓度明显升高。研究表明,运动还可促进内皮祖细胞释放EXOs, Ma等^[44]采用4周耐力运动试验,结果亦证明了EXOs释放增加。以上研究提示,长期耐力运动可促进EXOs释放。但也有研究报道了不一致的结果。例如,Hou等^[47]对青年男性赛艇运动员和不运动男性学员进行1年赛艇训练干预,结果表明,两组循环EXOs粒径均在50~200 nm内,循环EXOs粒径众数、平均数、浓度以及血清CD81和Tsg101表达均不具有显著差异($P>0.05$),与非运动组相比,运动组循环EXOs携带的miR-342-5p显著升高;体外实验结果与体内实验一致。这提示长期耐力运动可促进EXOs的释放,但数量和浓度可

能无明显变化。以上研究表明, 长期耐力运动可促进 EXOs 释放, 但能否引发 EXOs 量变尚存争议, 其可能与以下因素有关: a. 运动模式、运动方案迥异可能使相关蛋白质表达未出现变化; b. EXOs 标志蛋白表达检测手段不一, 例如, Chaturvedi 等^[43]利用心肌直接检测 EXOs 标志蛋白, 而 Hou 等^[47]则经差速离心后检测血清; c. EXOs 来源、分离技术及手段迥异亦可能成为影响因素。

除耐力运动外, 亦有研究探讨长期抗阻运动对 EXOs 的影响。例如, Estebanez 等^[48]对老年和青年受试者进行 8 周抗阻运动后, 与训练前相比, 训练后老年血浆 EXOs 标志蛋白 (Flot-1、CD9、CD81)、CD14、VDAC1 及 EXOs 携带的 miR-146a-5p 无明显变化; 而与对照组相比, 老年训练组 CD63 表达显著降低。结合前述结果, 提示长期运动促进 EXOs 释放, 但可能无法改变其数量和大小。此外, 目前抗阻运动与 EXOs 的报道尚少, 相关机制仍不明确, 故未来可深入探究长期抗阻运动对 EXOs 的影响, 进一步厘清 EXOs 的潜在作用及可能机制。

综上, 急性/长期运动 (耐力/抗阻) 均具有促进机体释放 EXOs 的潜力, 而能否诱使 EXOs 发生量变尚存争议。一方面基于运动与 EXOs 研究刚起步, 相关研究参差不齐; 另一方面可能与研究对象、研究种类及运动强度有关。故未来可进一步研究不同运动方式、运动强度与 EXOs 的关系, 为运动促进健康提供理论依据。

3 外泌体与肌少症

肌少症指随年龄增加机体蛋白质合成 (MPS) 受损或障碍, 细胞代偿性增强蛋白质降解 (MPB), 造成骨骼肌纤维减少、间质纤维及脂肪组织增多, 从而致使骨骼肌质量与力量丢失的一种病理现象^[2]。越来越多的研究表明, 肌少症与 EXOs 关联密切, 但其机制仍未厘清。通常认为, EXOs 作为衰老相关表型效应 (SASP) 的关键介质, 它可通过调控细胞增殖、MPB 与 MPS、炎症以及线粒体功能并以旁分泌形式将这一效应传至临近细胞^[49]。研究显示, 老年人血浆 EXOs 浓度及数量明显下降。体外实验报道了与之相似的结果, 将衰老细胞 EXOs 注入年轻细胞, 发现明显衰老样病灶, 包括 SA- β -Gal 活性增加、p16 表达上调及激活 Notch 通路^[50]。此外, 老年恒河猴脑脊液 EXOs 显著降低, 且 Alix、TSG101 蛋白表达明显降低^[51]。

Bertoldi 等^[52]发现 21、26 月龄小鼠较 3 月龄小鼠 EXOs 亦显著降低。可见 EXOs 可能参与肌少症发生, 且与年龄负相关。

3.1 外泌体与蛋白质降解

正常生理状态下, MPS 与 MPB 处于动态平衡; 而病理状态下, MPB 异常升高和/或 MPS 下降会打破平衡, 引起骨骼肌质量与力量下降, 诱发肌少症^[53]。研究表明, EXOs 可能通过调控与磷脂酰肌醇 3 激酶/蛋白激酶 B/哺乳动物雷帕霉素靶蛋白 (PI3K/PKB/mTOR) 通路参与骨骼肌细胞增殖与分化。例如, Kim 等^[54]发现, C2C12 细胞释放的炎症性 EXOs 样小泡可活化腺苷活化蛋白激酶 (AMPK) 和 PI3K/PKB/mTOR 通路调控成肌细胞分化, 从而下调 Myogenin、MyoD, 上调肌肉萎缩盒 F-box (muscle atrophy F-box, MAFbx) 表达, 促进萎缩发生。另外, MSCs 来源的 EXOs (MSCs-EXOs) 除了分泌细胞因子、趋化因子和生长因子之外, 亦可通过旁分泌作用介导骨骼肌细胞增殖。据报道, 体外注射 MSCs-EXOs 可促进 C2C12 细胞增殖, 同时该研究也发现 MSCs-EXOs 增加了 C2C12 细胞的核总数及融合蛋白的数量, 并显著上调 MyoG 和 MyoD1 的表达^[55], 说明 EXOs 可能削弱 MPB 以促进细胞增殖。

miRNAs 作为一类小的非编码 RNA, 长度约为 19~22 个核苷酸, 可通过翻译抑制或 mRNA 降解等途径调控蛋白质的表达, 从而发挥调控诸多信号传导的能力^[56]。研究表明, 循环 miRNAs 可与蛋白质一同包裹于 EXOs 中。miRNAs 如 miR-29b-3p、miR-182 等除了从组织细胞主动分泌至循环之外, 亦可被 EXOs 转移至受体细胞, 参与细胞间的通讯。通常而言, miR-29b-3p 水平在老年小鼠骨骼肌、血浆以及老年人中均有所升高。Yang 等^[57]为了证实萎缩的 C2C12 肌管分泌的 EXOs 是否包含 miR-29b-3p, 发现分化 8 d 后 EXOs 内的 miR-29b-3p 水平明显升高。他们还同时观察到, 与对照组相比, 血浆 EXOs-miR-29b-3p 水平升高显著。以上研究表明, miR-29b-3p 存于 EXOs 内, 且其从骨骼肌分泌至循环中, 因此极有可能被其他组织摄取或以自分泌方式作用于衰老的骨骼肌。此外, Huson 等^[58]研究显示, 地塞米松诱导 C2C12 细胞分泌的 EXOs 能携带 miR-182, 可激活 Foxo3 信号, 并抑制骨骼肌 MAFbx 和肌肉环指蛋白 1 (muscle finger ring 1, MuRF1) 的表达。研究表明, miRNA 能负向调控肌生成抑制蛋白 (MSTN) 以参与萎缩发生

与发展。例如,过表达的miR-34a可抑制MSTN表达使PI3K/PKB通路受抑制,从而加剧萎缩。进一步研究发现,EXOs携带的miR-34a可降低骨髓干细胞(BMSC)的活性并加速细胞老化^[59],其机制可能与EXOs-miR-34a抑制Sirt1表达,从而抑制萎缩发生有关。以上研究提示EXOs可能携带有益于萎缩蛋白代谢稳定的miRNAs调控MPB发生,从而改善肌少症病理。

综上,EXOs可能是机体改善肌少症病理的重要介质,其可能通过携带的miRNAs或自身直接调控MPB。适当提高骨骼肌细胞的EXOs浓度及数量可能是延缓肌少症MPB的有益策略,故未来可深入探究EXOs-miRNAs调控MPB的机制。

3.2 外泌体与炎症

EXOs作为调控衰老细胞微环境的重要载体,在炎症反应中亦具有重要作用。研究表明,MSCs-EXOs能促进巨噬细胞的炎症反应^[60],其机制可能是由TLR2/4(Toll like receptor 2/4)和MyD88信号调控。另有报道显示,肌肉注射MSCs-EXOs可减轻mdx小鼠骨骼肌炎症程度^[61]。体外实验亦证实了肌管来源的EXOs能调控衣霉素诱导的细胞焦亡,并下调白介素18/1 β (IL-18/1 β)、Caspase-1等炎症因子的表达^[62]。除此之外,肌细胞处于炎症状态下能分泌ELVs,从而抑制成肌细胞的分化。学者通过采用TNF- α 和INF- γ 双重处理完全分化的C2C12肌管诱导炎症,再将分离的ELVs与成肌细胞一同孵育,发现ELVs激活了AMPK、p38 MAPK和JNK信号,同时抑制了PKB信号以及上调MAFbx和MuRF1表达,说明炎性的ELVs可促进成肌细胞炎症,抑制骨骼肌的成肌细胞分化,从而促进萎缩。以上研究说明,EXOs参与炎症发生。此外,EXOs携带的miRNAs调控一类特定的肌源性因子如成纤维细胞生长因子21(FGF21)、肝细胞生长因子等,直接与骨骼肌通讯交流,这可为EXOs调控炎症发生提供有益参考。但目前关于EXOs、肌少症及炎症三者之间关系的研究较少,相关机制仍不清晰。需指出的是,衰老的骨骼肌伴有氧化应激和炎症的升高以及EXOs的释放减少,其还可能受多重因素的影响,这使得EXOs在炎症反应中的调控相对复杂。

综上,EXOs通过携带的miRNA或自身参与衰老发生、促进炎症因子分泌和削弱MPB途径等。衰老的骨骼肌可能同时受多重因素的影响,包括但不限于氧化应激和炎症反应的升高以及EXOs释放

减少等,这使得EXOs在炎症反应中的调控相对复杂。但不否认,EXOs可作为一种防治肌少症的有益策略。结合前述研究,笔者推测提高EXOs数量和浓度可能为肌少症的防治提供新的参考策略。

4 外泌体在运动防治肌少症的潜在作用

研究表明,EXOs是运动应激状态下机体分泌的适应性调节产物。一方面,EXOs可能直接作用于骨骼肌;另一方面,其可通过携带的miRNAs介导调控骨骼肌肥大与萎缩。运动不仅可作为防治肌少症的有效手段,亦可促进EXOs分泌并介导萎缩的发生发展^[6]。但EXOs在运动防治肌少症的机制尚不明确。

4.1 运动通过外泌体携带的miRNAs介导骨骼肌稳态以防治肌少症

运动促进骨骼肌健康的作用可能与EXOs携带的miRNAs有关。据报道,骨骼肌大约可分泌约437种蛋白质,其中一大半是包裹在EXOs内。事实上,EXOs可通过携带的miRNAs、运动状态下机体分泌的运动因子如鸢尾素(irisin)、脑源性神经营养因子(BDNF)等发挥保护作用。相关研究亦证实运动可调控包括循环EXOs内的322种蛋白质^[38]。

运动可能通过直接活化EXOs中的miRNAs,进而对骨骼肌产生保护作用,从而防治肌少症(表1)。最新证据表明,肌少症的发病机理与EXOs中的miRNAs水平密切相关。事实上,EXOs-miRNAs可通过调控转录降解和翻译抑制,从而调控基因表达。例如,Wang等^[63]认为,EXOs携带的miRNAs(包括miR-133、miR-141等)可改变基因表达,从而调节骨骼肌细胞增殖与分化。又如,D'Souza等^[64]发现,青年男性进行1次高强度间歇性运动,运动前、后及运动后4h采集外侧股静脉活检和血浆检测miRNAs水平变化,结果表明,29种miRNA中,肌肉、血浆和EXOs分别有11个、8个、9个明显变化。再如,大量研究已证明EXOs-miR-23a可抑制骨骼肌MAFbx和MuRF1的表达,抑制萎缩发生。可见,运动至少能部分提高循环EXOs-miRNAs水平。此外,EXOs还能携带肌肉特异性miRNAs(称myomiRs,例如miR-206、miR-146a、miR-1、miR-223),调控骨骼肌稳态。Annibalini等^[40]证实急性飞轮阻力训练后miR-206和miR-146a水平明显上升,表明EXOs携带的miRNAs在运动性肌肉适应中扮演关

键角色。故推测运动极有可能促使 EXOs-miRNAs 水平升高并调控骨骼肌稳态, 进而防治肌少症。

综上, 运动改善肌少症至少部分与运动阶段促进 EXOs 携带的 miRNAs 有关, 故 EXOs 携带的 miRNA 可能是运动防治肌少症的机制之一。但是, 一方面 EXOs-miRNAs 种类相对丰富; 另一方面鉴于运动促进 EXOs 携带的 miRNA 机制研究仍处于初级阶段, 因此关于运动促进何种组织释放 EXOs、调节何种 miRNA 以调控肌少症的相关研究尚少, 仍有待后续研究。

4.2 运动通过外泌体携带的miRNAs介导蛋白质降解以防治肌少症

MPB 与 MPS 之间平衡失调是诱发肌少症的机制之一。前面已归纳运动可促进 EXOs 的释放 (见 2.1 及 2.2)。研究表明, EXOs 可直接通过调控 PI3K/PKB/mTOR 通路参与骨骼肌肥大与萎缩。例如, Kim 等^[54]发现, C2C12 细胞释放的 ELVs 可直接激活 AMPK 和 PI3K/PKB/mTOR 通路调控成肌细

胞分化, 并显著下调 Myogenin、MyoD 及上调 MAFbx 表达, 促进萎缩发生。除此之外, EXOs 也可通过携带的循环 miRNAs 参与调控 MPB。作为 PI3K/PKB/mTOR 通路的重要底物, 叉头转录因子 3a (forkhead box O3, FoxO3a) 在肥大与萎缩中发挥关键作用, 其可促进自噬溶酶体系统 (ALS) 及泛素蛋白酶体 (UPS) 相关组分的表达。Huson 等^[58]研究显示, 地塞米松诱导 C2C12 细胞分泌的 EXOs 能携带 miR-182 可激活 FoxO3a 信号, 并抑制骨骼肌 MAFbx 和 MuRF1 的表达, 提示 EXOs 可能携带有益于萎缩蛋白代谢稳定的 miRNAs, 调控 PI3K/PKB/mTOR 通路, 从而调控 MPB。

综上, 笔者推测 EXOs 可直接和/或通过携带的 miRNAs 介导 PI3K/PKB/mTOR 通路, 从而参与 MPB, 进而削弱肌少症。鉴于 EXOs 通过携带的 miRNAs 作用的分子机制仍不明确, 故未来可进一步在体内、外实验上予以佐证, 以期对肌少症防治提供有益策略。

Table 1 Effect of excise of exosome
表1 运动对外泌体的影响

研究对象	EXOs 来源	运动方式/强度	检测手段/方法	研究结果	文献
有活动史的中年男性 (n=8, 每周>3次)	血浆	急性耐力运动, 90 min	UC+FT, NTA, WB, qPCR	平均粒径为120 nm; (↑) EXOs ^(90 min) 释放2.7倍; (↑) Flot-1、Hsp/Hsc70、Tsg101等 ^(90 min) 5.2倍; (=) EXOs ^(90+90 min)	[20]
有活动史的青年男性 (n=4, 每周>3次)		急性耐力运动, 360 min		平均粒径为164 nm; (↑) EXOs ^(360 min) 释放1.5倍, (↑) Flot-1、Hsp/Hsc70、Inta11b ^(360 min) ; Tsg101未检测到	
有活动史的非吸烟青年男性 (n=5, 每周>3次)	血浆	急性增量跑	UC+FT, WB, qPCR	在EVs相关成分中仅观察到EVs和EXOs含有少量DNA; (↑) Flot-1/HSP70 ^(10+/30+/90 min)	[65]
中青年受试者 (n=13, 10M/3F)	汗液	急性耐力运动	UC+FT, WB, qPCR, TEM, LC-MS, DLS	EXOs粒径在100 nm左右; (↑) Lactoferrin、Alix、CD63、HSP70; >896种蛋白质; (↓) α-Tubulin	[10]
7周龄雄性大鼠 (n=24)	血浆	急性耐力运动 (Rota-rod)	qPCR, WB, CM, TEM, IP, ELISA, UC, CM	(↑) Alix ^(0/15 min) 、Hsp70 ^(0/15 min) 、Hsp60 ^(0/15 min)	[66]
Wistar大鼠 (n=18)	血清	急性耐力运动 (14~16、20~22、24~26 m/min)	TRPS, TEM, WB, IM	与NE相比, L、M、H三组EVs浓度明显上升, 且EVs粒径均不具有显著性差异 (P>0.05); 但M组较H组EVs粒径明显升高 (P=0.028); CD63表达随运动强度逐渐升高; (=) ApoA-IV、大鼠血清中RNAs; Calnexin未检测到	[36]
青年肥胖和青年受试者 (n=23, 11M/12F)	血浆	急性中等强度跑 (60% VO _{2max})	NTA, UC+FT	(↑) 与肥胖组比较, 青年受试者运动后EVs明显升高; 男性受试者运动后EXOs和EVs平显著高于女性; EVs上调; (↓) 总EVs释放、CD61	[67]

续表1

研究对象	EXOs来源	运动方式/强度	检测手段/方法	研究结果	文献
青年男性受试者 (<i>n</i> =11)、8周龄 雌性/雄性C57 BL/6J小鼠 (<i>n</i> =12)	血浆	急性自行车运动	NTA, CEM, PCII, DPA, QFI, UC	(↑) >300种蛋白质、EXOs及EVs; 运动释放的EXOs主要定位在肝 脏中, 且EXOs可被转移	[35]
中年男性受试者 (<i>n</i> =21)	血浆	急性增量自行车 运动	SEC, NTA, WB, EM, MU- MA, MACSPlex	(↑) CD9、CD63、CD81、CD41b、Alix、CD14、CD142、Flot-1、 HSP70; (=) EXOs、Tsg101	[35]
久坐和有训练史 的老年男性 (<i>n</i> =10)	血浆	急性耐力运动	NTA, qPCR, Small RNA-seq	运动调节的EXOs-miRs与IGF1信号密切相关; (↑) miR-383-5p ^(0h) 、 miR-339-5p ^(0h) 、miR-874-3p ^(0h) ; miR-34b-3p ^(3h) 、miR-129-2- 3p ^(3h) 、miR-138-1-3p ^(3h) 、miR-671-3p ^(3h) 、miR-885-5p ^(3h) ; (↓) miR-206 ^(0h) 、miR-486-5p ^(0h) 、miR-148a-3p ^(0h) 、let-7b-5p ^(0h) 、 miR-486-5p ^(3h) 、miR-629-5p ^(3h) 、miR-16-2-3p ^(3h) 、miR-151b ^(0h)	[39]
有抗阻训练史的 青中年男性 (<i>n</i> =9)	骨骼肌, 血浆	急性抗阻运动	qPCR, UC, MB	(↑) miR-133a/206 ^(2h-M) 、miR-486/146a ^(4h-M) 、miR-133a/149/ 16 ^(4h-S) ; (↓) miR-378b ^(2h-M) 、miR-23a ^(2h/4h-M) ; (=) miR- 378b ^(4h-M) 、miR-1 ^(2h/4h-M) (<i>P</i> =0.059)	[64]
老年男性和女性 T2D, 非T2D受 试者 (<i>n</i> =23, T2D/C: 13/10)	全血	急性抗阻运动 (60%~70% HRR)	qPCR	(↑) miR-146a; (=) miR-126、miR-155	[68]
有抗阻运动史的 青年男性受试者 (<i>n</i> =8)	血浆	急性抗阻运动	UC, NTA, MB, qPCR, ELISA	(↑) EVs和EXOs增加2倍 ^(2h) , miR-206/146a ^(2h) ; (=) miR-16/126/ 133b ^(2h)	[40]
无训练史的青年 男性受试者 (<i>n</i> =9)	血浆	2次连续立定跳 跃+下坡跑	TEM, SEC, NTA, qPCR	EXOs粒径在30~150 nm; (↑) miR-206 ^(EVs) ; (=) EXOs ^(0-24h) 、 miR-1/133a/b/486/499a ^(EXOs) ; (↓) miR-31 ^(EVs)	[42]
久坐的健康青年 男性受试者 (<i>n</i> = 12, 每周<1 h)	股外 侧肌	急性耐力运动, 急性耐力+抗阻 运动	WB, qPCR, MB	(↑) PGC-1α/VEGF ^(AEx/A+REx) 、Alix mRNA; (=) CD63/ Tsg101 ^(AEx/A+REx)	[41]
<i>db/db</i> 小鼠 (<i>n</i> =6)	心脏, 血清	8周耐力运动	UC+FT, EM, WB, IHC	(↑) EXOs在心脏组织释放; CD81和Flot-1共定位	[43]
8~10周龄C57 BL/6J小鼠 (<i>n</i> =12~18)	内皮祖 细胞	4周耐力运动	NTA, WB, qPCR	(↑) EXOs释放 (S<L<M); EPCs-EXOs/EPCs值; EXOs-CD34 ⁺ ; (=) EXOs大小、数量、CD63、Tsg101、CD34、VEGFR2	[44]
3、21、26月龄 雄性Wistar大鼠 (<i>n</i> =12~18)	血清	2周中等强度跑	ELISA, UC, WB	(↑) CD63 ^(18h)	[52]
青年男性赛艇运 动员和不运动男 性学员 (<i>n</i> =32)	血浆	1年赛艇训练	UC, NTA, WB, qPCR, HTS	(=) EXOs数量、浓度、粒径、粒径众数	[47]
6周龄雄性SD大 鼠 (<i>n</i> =8)		4周游泳运动		EXOs粒径在50~100 nm; (↑) EXOs释放 ^(0h) ; (=) EXOs数量和大 小 ^(24h) 、TSG101/CD64 ^(24h)	
中年受试者 (<i>n</i> = 16, 13M/3F)	血浆	布鲁斯压力测试 (跑步)	NTA, Nano- FCM, TEM, WB, qPCR, UC	(↑) EVs	[45]

续表1

研究对象	EXOs来源	运动方式/强度	检测手段/方法	研究结果	文献
8周龄雄性C57BL/6小鼠 (n=4)	血清	3周游泳运动		EVs粒径在100 nm, 高度约为40~50 nm; (↑) EVs 1.85倍、CD63 ^(EVs) ; (=) EVs平均浓度和数量	
C57BL/6小鼠	脑组织、内皮祖细胞	4周耐力运动	qPCR, NTA, WB	(↑) EXOs、EPC-EXOs、miR-126 ^(B/EPCs)	[69]
9月龄雄性C57BL/6小鼠	血浆	4周耐力运动	TEM, WB, MS, Zetasizer Nano	(=) EXOs大小、数量、浓度、CD63、Tsg101、HSP70	[70]
老年受试者 (n=38, 16M/22F) 和青年男性受试者 (n=12)	血浆	8周抗阻运动	qPCR, WB, UC	(=) miR-146a-5p、cfDNA; Flot-1、CD9、CD81、CD14、VDAC1; (↓) CD63	[48]

(↑): 明显上升; (↓): 显著下降; (=): 无统计学意义; 右上标: 时相/组别/分类; UC: 超高速/差速离心 (ultracentrifugation); NTA: 纳米粒径跟踪分析 (nanoparticle tracking); FT: 过滤 (filtration); WB: 免疫印迹; qPCR: 定量聚合酶链反应; SEM: 平均数; Flot-1: 浮肌蛋白1 (flotillin-1); Tsg101: 肿瘤易感基因101蛋白 (tumor susceptibility gene 101 protein); Hsp/Hsc70: 热休克蛋白70 (heat shock protein 70); integrin αIIb: 整合素αIIb; TRPS: 可调节电阻式脉冲传感系统 (tunable resistive pulse sensing); TEM: 透射电镜 (transmission electron microscopy); L: 低强度组 (low intensity group); M: 中等强度组 (moderate intensity group); H: 高强度组 (high intensity group); NE: 非运动组 (non-exercise group); IM: 免疫电镜 (immunoelectron micrograph); calnexin: 钙调蛋白; M: 男性 (male); F: 女性 (female); CEM: 低温电子显微镜 (cryo electron microscopy); PCII: 脉搏追踪与活体成像 (pulse-chase and intravital imaging); DPA: 深度蛋白质组学分析 (deep proteomic analysis); QFI: 定量荧光光谱成像技术 (quantitative fluorescent imaging); MUMA: 多重表面标记分析 (multiplex surface marker analysis); MB: 肌肉活检 (muscle biopsy); ELISA: 酶联免疫吸附法; cfDNA: 游离DNA (cell free DNA); mtDNA: 线粒体DNA (mitochondrial DNA); LC-MS: 液相色谱-质谱 (liquid chromatography-mass spectrometry); DLS: 动态光散射 (dynamic light scattering); IHC: 免疫组织化学 (immunohistochemistry); EM: 电镜 (electron microscopy); Nano-FCM: 纳米流式细胞仪 (nano-flow cytometry); HTS: 高通量测序 (high-throughput sequencing); S: 久坐组 (sedentary/no exercise); AEx: 急性耐力运动组; A+REx: 急性耐力+抗阻运动组; small-RNA seq: 小RNA测序 (small RNA library sequencing); HRR: 最大心率储备 (heart rate reserve); EPCs: 内皮祖细胞 (endothelial progenitor cells); MS: 质谱分析 (mass spectrometry); Zetasizer Nano: 马尔文纳米显微镜; CM: 激光共聚焦显微镜 (confocal microscopy)。

5 总结与展望

肌少症作为一类复杂的、进行性的慢病,其发生发展与EXOs密切相关。无论是急性运动,抑或是长期耐力运动均可能促进EXOs释放,都可能诱使EXOs发生质变。运动可能通过活化EXOs/EXOs-miRNAs以调控PI3K/PKB/mTOR通路,从而削弱肌少症。因此,运动促进EXOs的释放可能作为防治肌少症的一种新型策略。但仍有如下关键问题尚待阐明: a. 在运动干预条件下,不同细胞类型衍生的EXOs是否均具有增龄性差异; b. 运动促进EXOs发生“质”变的具体机制; c. 长期抗阻运动对不同组织类型衍生的EXOs的影响及其与EXOs的相互关系; d. EXOs定位于肝脏,运动促进其与器官/组织交互作用的机制,以及能否与其他因子发生交互作用。未来可从这些角度探析其在

削弱/防治肌少症中的作用。尽管上述研究亟需阐明,但不可否认的是,EXOs这一特殊靶点可为临床防治肌少症提供新的策略和思路。

参 考 文 献

[1] 梁海艳. 中国人口的新特征,新趋势与思考——基于2020年第七次全国人口普查公报数据的分析. 曲靖师范学院学报, 2021,40(4):97-103
Liang H Y. Journal of Qujing Normal University, 2021, 40(4): 97-103

[2] Cruz-Jentoft A J, Sayer A A. Sarcopenia. Lancet, 2019, 393(10191):2636-2646

[3] Pegtel D M, Gould S. Exosomes. Ann Rev Biochem, 2019, 88(1): 487-514

[4] Wada S, Kato Y, Okutsu M, et al. Translational suppression of atrophic regulators by microRNA-23a integrates resistance to skeletal muscle atrophy. J Biol Chem, 2011, 286(44): 38456-38465

[5] Aoi W, Sakuma K. Does regulation of skeletal muscle function

- involve circulating microRNAs?. *Front Physiol*, 2014, **5**: 39
- [6] Rong S, Wang L, Peng Z, *et al.* The mechanisms and treatments for sarcopenia: could exosomes be a perspective research strategy in the future?. *J Cachexia Sarcopenia Muscle*, 2020, **11**(2): 348-365
- [7] Vrijssen K R, Maring J A, Chamuleau S, *et al.* Exosomes from cardiomyocyte progenitor cells and mesenchymal stem cells stimulate angiogenesis *via* EMMPRIN. *Adv Healthc Mater*, 2016, **5**(19): 2555-2565
- [8] Barile L, Moccetti T, Marban E, *et al.* Roles of exosomes in cardioprotection. *Eur Heart J*, 2017, **38**(18): 1372-1379
- [9] Garcia N A, Javier M A, Pilar S, *et al.* Cardiomyocyte exosomes regulate glycolytic flux in endothelium by direct transfer of GLUT transporters and glycolytic enzymes. *Cardiovasc Res*, 2015, **109**(3): 397-408
- [10] Wu C X, Liu Z F. Proteomic profiling of sweat exosome suggests its involvement in skin immunity. *J Invest Dermatol*, 2018, **138**(1): 89-97
- [11] Caradec J, Kharmate G, Hosseini-Beheshti E, *et al.* Reproducibility and efficiency of serum-derived exosome extraction methods. *Clin Biochem*, 2014, **47**(13-14): 1286-1292
- [12] Lasser C J. Human saliva, plasma and breast milk exosomes contain RNA: uptake by macrophages. *J Transl Med*, 2011, **9**(9): 9
- [13] Kalra H, Adda C G, Liem M, *et al.* Comparative proteomics evaluation of plasma exosome isolation techniques and assessment of the stability of exosomes in normal human blood plasma. *Proteomics*, 2013, **13**(22): 3354-3364
- [14] Kalluri R, Lebleu V S. The biology, function, and biomedical applications of exosomes. *Science*, 2020, **367**(6478): eaau6977
- [15] Juan T, Furthauer M. Biogenesis and function of ESCRT-dependent extracellular vesicles. *Semin Cell Dev Biol*, 2018, **74**: 66-77
- [16] Tore S, Hessvik N P, Kirsten S, *et al.* Exosomal lipid composition and the role of ether lipids and phosphoinositides in exosome biology. *J Lipid Res*, 2018, **60**(1): 9-18
- [17] Harding C V, Heuser J E, Stahl P D. Exosomes: looking back three decades and into the future. *J Cell Biol*, 2013, **200**(4): 367-371
- [18] Rodriguez-Miguel P, Fernandez-Gonzalo R, Almar M, *et al.* Role of Toll-like receptor 2 and 4 signaling pathways on the inflammatory response to resistance training in elderly subjects. *Age (Dordr)*, 2014, **36**(6): 9734
- [19] Whitham M, Febbraio M A. The ever-expanding myokinome: discovery challenges and therapeutic implications. *Nat Rev Drug Discov*, 2016, **15**(10): 719-729
- [20] Frühbeis C, Helmig S, Tug S, *et al.* Physical exercise induces rapid release of small extracellular vesicles into the circulation. *J Extracell Vesicles*, 2015, **4**(7): 28239
- [21] El Andaloussi S, MaGer I, Breakefield X O, *et al.* Extracellular vesicles: biology and emerging therapeutic opportunities. *Nat Rev Drug Discov*, 2013, **12**(5): 347-357
- [22] Tkach M, Thery C. Communication by extracellular vesicles: where we are and where we need to go. *Cell*, 2016, **164**(6): 1226-1232
- [23] Mcandrews K M, Kalluri R. Mechanisms associated with biogenesis of exosomes in cancer. *Mol Cancer*, 2019, **18**(1): 52
- [24] Wang J, Bonacquisti E E, Brown A D, *et al.* Boosting the biogenesis and secretion of mesenchymal stem cell-derived exosomes. *Cells*, 2020, **9**(3): 660
- [25] Kowal J, Tkach M, Thery C. Biogenesis and secretion of exosomes. *Curr Opin Cell Biol*, 2014, **29**: 116-125
- [26] Li Y, Han C, Wang J, *et al.* Exosomes mediate the beneficial effects of exercise. *Adv Exp Med Biol*, 2017, **1000**: 333-353
- [27] Peng X Q, Yang L, Ma Y B, *et al.* Focus on the morphogenesis, fate and the role in tumor progression of multivesicular bodies. *Cell Commun Signal*, 2020, **18**(1): 122
- [28] Hanson P I, Cashikar A. Multivesicular body morphogenesis. *Annu Rev Cell Dev Bi*, 2012, **28**: 337-362
- [29] Krause M, Samoylenko A, Vainio S J. Exosomes as renal inductive signals in health and disease, and their application as diagnostic markers and therapeutic agents. *Front Cell Dev Biol*, 2015, **3**: 65
- [30] Biol J C, Raposo G, Stoorvogel W. Extracellular vesicles: exosomes, microvesicles, and friends. *J Cell Biol*, 2013, **200**(4): 373-383
- [31] 董贵俊, 闫前, 吴燕, 等. 间充质干细胞来源外泌体在运动调节骨关节炎中的作用. *体育科学*, 2020, **40**(1): 91-99
Dong G J, Yan Q, Wu Y, *et al.* *China Sport Science*, 2020, **40**(1): 91-99
- [32] Huh J Y. The role of exercise-induced myokines in regulating metabolism. *Arch Pharm Res*, 2018, **41**(1): 14-29
- [33] Lourenco M V, Frozza R L, Freitas G D, *et al.* Exercise-linked FND5/irisin rescues synaptic plasticity and memory defects in Alzheimer's models. *Nat Med*, 2019, **25**(1): 165-175
- [34] Nederveen J P, Warnier G, Di Carlo A, *et al.* Extracellular vesicles and exosomes: insights from exercise science. *Front Physiol*, 2021, **11**(11): 604274
- [35] Brahmer A, Neuberger E, Esch-Heisser L, *et al.* Platelets, endothelial cells and leukocytes contribute to the exercise-triggered release of extracellular vesicles into the circulation. *J Extracell Vesicles*, 2019, **8**(1): 1615820
- [36] Oliveira G P J, Porto W F, Palu C C, *et al.* Effects of acute aerobic exercise on rats serum extracellular vesicles diameter, concentration and small RNAs content. *Front Physiol*, 2018, **9**: 532
- [37] Safdar A, Saleem A, Tarnopolsky M A. The potential of endurance exercise-derived exosomes to treat metabolic diseases. *Nat Rev Endocrinol*, 2016, **12**(9): 504-517
- [38] Whitham M, Parker B L, Friedrichsen M, *et al.* Extracellular vesicles provide a means for tissue crosstalk during exercise. *Cell Metab*, 2018, **27**(1): 237-251
- [39] Nair V D, Ge Y C, Li S, *et al.* Sedentary and trained older men have distinct circulating exosomal microRNA profiles at baseline and in response to acute exercise. *Front Physiol*, 2020, **11**: 605
- [40] Annibali G, Contarelli S, Lucertini F, *et al.* Muscle and systemic molecular responses to a single flywheel based iso-inertial training session in resistance-trained men. *Front Physiol*, 2019, **10**: 554
- [41] Garner R T, Solfest J S, Nie Y H, *et al.* Multivesicular body and

- exosome pathway responses to acute exercise. *Exp Physiol*, 2020, **105**(3): 511-521
- [42] Lovett J A C, Durcan P J, Myburgh K H. Investigation of circulating extracellular vesicle microRNA following two consecutive bouts of muscle-damaging exercise. *Front Physiol*, 2018, **9**(9): 1149
- [43] Chaturvedi P, Kalani A, Medina I, *et al.* Cardiosome mediated regulation of MMP9 in diabetic heart: role of mir29b and mir455 in exercise. *J Cell Mol Med*, 2015, **19**(9): 2153-2161
- [44] Ma C, Wang J, Liu H, *et al.* Moderate exercise enhances endothelial progenitor cell exosomes release and function. *Med Sci Sports Exerc*, 2018, **50**(10): 2024-2032
- [45] Bei Y H, Xu T Z, Lv D C, *et al.* Exercise-induced circulating extracellular vesicles protect against cardiac ischemia-reperfusion injury. *Basic Res Cardiol*, 2019, **114**(6): 44
- [46] Castano C, Mirasierra M, Vallejo M, *et al.* Delivery of muscle-derived exosomal miRNAs induced by HIIT improves insulin sensitivity through down-regulation of hepatic FoxO1 in mice. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2020, **117**(48): 30335-30343
- [47] Hou Z, Qin X, Hu Y, *et al.* Longterm exercise-derived exosomal miR-342-5p: a novel exerkine for cardioprotection. *Circ Res*, 2019, **124**(9): 1386-1400
- [48] Estebanez B, Visavadiya N P, De Paz J A, *et al.* Resistance training diminishes the expression of exosome CD63 protein without modification of plasma miR-146a-5p and cfDNA in the elderly. *Nutrients*, 2021, **13**(2): 665
- [49] Takasugi M. Emerging roles of extracellular vesicles in cellular senescence and aging. *Aging Cell*, 2018, **17**(2): e12734
- [50] Mao G, Xu X. Exosomes derived from senescent cells promote cellular senescence. *Innov Aging*, 2020, **4**(Suppl 1): 132-133
- [51] Yuyama K, Sun H, Usuki S, *et al.* A potential function for neuronal exosomes: sequestering intracerebral amyloid- β peptide. 2015, **589**(1): 84-88
- [52] Bertoldi K, Cechinel L R, Schallenger B, *et al.* Circulating extracellular vesicles in the aging process: impact of aerobic exercise. *Mol Cell Biochem*, 2018, **440**(1-2): 115-125
- [53] Li C, Wu Q, Li Z, *et al.* Exosomal microRNAs in cancer-related sarcopenia: tumor-derived exosomal microRNAs in muscle atrophy. *Exp Biol Med* (Maywood), 2021, **246**(10): 1156-1166
- [54] Kim S, Lee M J, Choi J Y, *et al.* Roles of exosome-like vesicles released from inflammatory C2C12 myotubes: regulation of myocyte differentiation and myokine expression. *Cell Physiol Biochem*, 2018, **48**(5): 1829-1842
- [55] Nakamura Y, Miyaki S, Ishitobi H, *et al.* Mesenchymal-stem-cell-derived exosomes accelerate skeletal muscle regeneration. *FEBS Lett*, 2015, **589**(11): 1257-1265
- [56] Aoi W, Sakuma K. Does regulation of skeletal muscle function involve circulating microRNAs?. *Front Physiol*, 2014, **5**: 39
- [57] Yang C P, Yang W S, Wong Y H, *et al.* Muscle atrophy-related myotube-derived exosomal microRNA in neuronal dysfunction: targeting both coding and long noncoding RNAs. *Aging Cell*, 2020, **19**(5): e13107
- [58] Hudson M B, Rahnert J A, Zheng B, *et al.* MiR-182 attenuates atrophy-related gene expression by targeting FoxO3 in skeletal muscle. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2014, **307**(4): C314-C319
- [59] Fulzele S, Mendhe B, Khayrullin A, *et al.* Muscle-derived miR-34a increases with age in circulating extracellular vesicles and induces senescence of bone marrow stem cells. *Aging (Albany NY)*, 2019, **11**(6): 1791-1803
- [60] Liu M, Wang Z, Ren S, *et al.* Exosomes derived from mycobacterium tuberculosis-infected MSCs induce a pro-inflammatory response of macrophages. *Aging (Albany NY)*, 2021, **13**(8): 11595-11609
- [61] Leng L, Dong X, Gao X, *et al.* Exosome-mediated improvement in membrane integrity and muscle function in dystrophic mice. *Mol Ther*, 2021, **29**(4): 1459-1470
- [62] Tavakoli Dargani Z, Singla R, Johnson T, *et al.* Exosomes derived from embryonic stem cells inhibit doxorubicin and inflammation-induced pyroptosis in muscle cells. *Can J Physiol Pharmacol*, 2018, **96**(3): 304-307
- [63] Wang H, Wang B. Extracellular vesicle microRNAs mediate skeletal muscle myogenesis and disease. *Biomed Rep*, 2016, **5**(3): 296-300
- [64] D'souza R F, Markworth J F, Aasen K M M, *et al.* Acute resistance exercise modulates microRNA expression profiles: combined tissue and circulatory targeted analyses. *PLoS One*, 2017, **12**(7): e0181594
- [65] Helmig S, Frubeis C, Kramer-Albers E M, *et al.* Release of bulk cell free DNA during physical exercise occurs independent of extracellular vesicles. *Eur J Appl Physiol*, 2015, **115**(11): 2271-2280
- [66] Barone R, Macaluso F, Sangiorgi C, *et al.* Skeletal muscle heat shock protein 60 increases after endurance training and induces peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1 α 1 expression. *Sci Rep*, 2016, **6**: 19781
- [67] Rigamonti A E, Bollati V, Pergoli L, *et al.* Effects of an acute bout of exercise on circulating extracellular vesicles: tissue-, sex-, and BMI-related differences. *Int J Obes (Lond)*, 2020, **44**(5): 1108-1118
- [68] Morais G S, Souza V C, Machado-Silva W, *et al.* Acute strength training promotes responses in whole blood circulating levels of miR-146a among older adults with type 2 diabetes mellitus. *Clin Interv Aging*, 2017, **12**: 1443-1450
- [69] Wang J J, Liu H, Chen S Z, *et al.* Moderate exercise has beneficial effects on mouse ischemic stroke by enhancing the functions of circulating endothelial progenitor cell-derived exosomes. *Exp Neurol*, 2020, **330**: 113325
- [70] Xiang H K, Chen S S, Zhou J H, *et al.* Characterization of blood-derived exosomal proteins after exercise. *J Int Med Res*, 2020, **48**(9): 300060520957541

Research Progress on Prevention and Treatment of Sarcopenia by Exercise Induced Exosomes*

KE Zhi-Fei¹⁾, SHANG Hua-Yu²⁾, LEI Bin-Kai¹⁾, CAO Chun-Xia¹⁾, WANG Zhen¹⁾,
WANG Rui-Yuan^{1)**}, LI Jun-Ping^{1)**}

¹⁾School of Sports and Human Sciences, Beijing Sport University, Beijing 100084, China;

²⁾School of Sports Medicine and Health, Chengdu Institute of Physical Education, Chengdu 610041, China)

Abstract Sarcopenia is an aging syndrome characterized by progressive decline of skeletal muscle mass and strength. It is a great significance to explore its pathogenesis for the treatment and prevention of sarcopenia. Studies have shown that exosomes are closely related to sarcopenia, and may be a useful means of weakening/preventing sarcopenia, but its underlying mechanism remains unclear. Recent studies have shown that exosomes are rich in exerkines/cytokines, which not only participate in the “cross talk” between cells and tissues, but also mediate many pathophysiological processes including the proliferation and differentiation of skeletal muscle cells. Moreover, exercise can effectively improve sarcopenia by promoting the release of exosomes and regulating the expression of miRNAs and/or proteins carried by exosomes. In this paper, we summarized the exosomes and their biological characteristics, as well as the relationship between exosomes and sarcopenia. Firstly, exosomes themselves or the carried mRNA are involved in the aging, promoting the secretion of inflammatory factors and weakening the muscle protein breakdown (MPB) pathway, indicating the exosomes is important to improve the pathology of sarcopenia. There is a strategy for delaying MPB in sarcopenia by increasing the concentration and number of exosomes in skeletal muscle cells. Secondly, exosomes are closely associated with exercise. Both acute and long-term endurance exercise may promote the release of exosomes and induce a “qualitative” change in exosomes. Moreover, we also analyzed the influence of exercise on exosomes and its underlying mechanism. The underlying mechanism is that exercise would improve skeletal muscle homeostasis through activation of exosomes/exosomes-derived miRNAs or mediate protein degradation through activation of the PI3K/PKB/mTOR pathway, ultimately weakening sarcopenia.

Key words exosomes, miRNAs, exercise, sarcopenia, prevention and treatment, strategy

DOI: 10.16476/j.pibb.2021.0085

* This work was supported by grants from The National Natural Science Foundation of China (31471133) and Basic Scientific Research of Central University (2019PT013, School2020025, 20211014).

** Corresponding author.

LI Jun-Ping. Tel: 86-10-62989580, E-mail: doctorljp@126.com

WANG Rui-Yuan. Tel: 86-10-62989582, E-mail: wangruiyuan2018@sina.com

Received: May 27, 2021 Accepted: July 5, 2021