

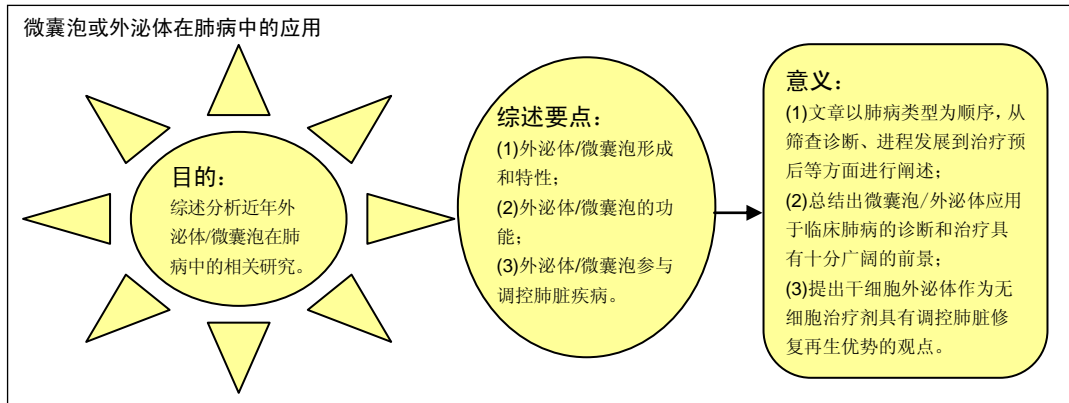
# 细胞微囊泡/外泌体在肺部疾病中的应用

罗登<sup>1</sup>, 冉文卓<sup>2</sup>, 叶迎春<sup>1</sup>, 高凌<sup>1</sup>(<sup>1</sup>武汉大学人民医院东院内分泌科, 湖北省武汉市 430000; <sup>2</sup>武汉市第一医院中心实验室, 湖北省武汉市 430023)

DOI:10.3969/j.issn.2095-4344.0516

ORCID: 0000-0003-2928-779X(罗登)

文章快速阅读:



罗登, 男, 1984 年生, 湖北省钟祥市人, 汉族, 2015 年上海交通大学医学院毕业, 博士, 主治医师, 主要从事内分泌与代谢病、干细胞与组织再生工程研究。

通讯作者: 叶迎春, 硕士, 主治医师, 武汉大学人民医院东院内分泌科, 湖北省武汉市 430000

中图分类号: R394.2

文献标识码: A

稿件接受: 2018-03-27



文题释义:

**细胞微囊泡/外泌体:** 其源于细胞膜, 具有与母细胞膜类似的组成成分, 在正常及特定条件下皆可释放, 因携带生物活性物质可作为细胞间信号传递的分子, 近年来受到广泛关注, 成为研究热点。

**外泌体与微粒/微囊泡的异同:** 两者都属于细胞外囊泡的范畴, 虽然功能类似, 但有差异。外泌体是由细胞内的多泡小体与细胞膜融合后以外分泌的形式释放到细胞外, 直径为 40-100 nm; 微囊泡是细胞激活、损伤或凋亡后从细胞膜脱落的小囊泡, 直径为 100-2 000 nm。

摘要

**背景:** 相关研究已表明微囊泡/外泌体可以利用其在细胞间信息传递的优势改善受体细胞的功能、保护损伤组织、提示疾病发生发展, 有望成为多种肺病防治的新策略。

**目的:** 探讨微囊泡或外泌体在肺病中的应用进展。

**方法:** 在标题和摘要中, 以“exosome, microvesicle, microparticle, extracellular vesicles, lung, pulmonary, pneumonic, pulmonary, pulmonic”或“细胞微囊泡, 外泌体, 肺”为检索词, 检索 PubMed 数据库、中国期刊全文数据库(CNKI)和万方数据库中 2007 年 1 月至 2017 年 12 月关于细胞来源微囊泡/外泌体应用于肺脏疾病治疗的中英文文献, 排除重复及不相关研究。

**结果与结论:** ①根据纳入和排除标准, 最终纳入 68 篇文献进行整理和进一步分析; ②微囊泡、外泌体因直径小可避免被吞噬, 能维持所携带的 mRNA, microRNA 和蛋白的活性, 便于与周围细胞组织进行信息交流, 可作为参与肺脏生理和病理微环境的新型旁分泌介质, 在肺脏疾病中的应用颇具前景; ③有些微囊泡、外泌体含有肺病的特定标志物, 可作为诊断疾病或判断预后的依据; ④有些微囊泡、外泌体携带的生物活性物质有促进血管生成、促细胞增殖、迁移的作用, 或可作为调控肺病发生发展的潜在靶点; ⑤有些微囊泡、外泌体应用于实验动物呼吸系统疾病模型, 可减轻水肿, 减少促炎因子分泌, 促进损伤修复, 较细胞移植法更具优势; ⑥目前临床上对于微囊泡、外泌体的应用还仅停留在肺病的诊断和预后判断, 用于调控干预肺病发展的微囊泡、外泌体仍处在实验室阶段, 还需大量基础实验来明确, 包括用于治疗肺病的微囊泡、外泌体来源, 活性成分, 用量疗程等系列问题。

**关键词:**

微囊泡; 外泌体; 慢性阻塞性肺病; 肺栓塞; 肺损伤; 弥漫性实质性肺病; 肺动脉高压; 哮喘; 肺癌; 干细胞; 湖北省自然科学基金

**主题词:**

外泌体; 肺疾病; 综述; 组织工程

**基金资助:**

武汉大学自主科研资助项目(2042017kf0084); 湖北省自然科学基金项目(2018CFB230)

## Microvesicles and exosomes in the lung diseases

Luo Deng<sup>1</sup>, Ran Wen-zhuo<sup>2</sup>, Ye Ying-chun<sup>1</sup>, Gao Ling<sup>1</sup> (<sup>1</sup>Department of Endocrinology, Eastern Branch of Renmin Hospital, Wuhan University, Wuhan 430000, Hubei Province, China; <sup>2</sup>Clinical Laboratory, Wuhan No. 1 Hospital, Wuhan 430023, Hubei Province, China)

Luo Deng, Ph.D., Attending physician, Department of Endocrinology, Eastern Branch of Renmin Hospital, Wuhan University, Wuhan 430000, Hubei Province, China

Corresponding author: Ye Ying-chun, Master, Attending physician, Department of Endocrinology, Eastern Branch of Renmin Hospital, Wuhan University, Wuhan 430000, Hubei Province, China

## Abstract

**BACKGROUND:** Microvesicles/exosomes as mediators for intercellular transfer can improve function of recipient cells, protect damaged tissues and predict the development of diseases. They have the potential to become a new treatment strategy for a variety of lung diseases.

**OBJECTIVE:** To explore the application of microvesicles/exosomes in lung diseases.

**METHODS:** The authors retrieved PubMed, CNKI and WanFang databases for relative articles addressing the application of stem cell-derived microvesicles/exosomes in lung diseases published from January 2007 to December 2017. The keywords were "exosome, microvesicle, microparticle, extracellular vesicles, lung, pulmonary, pneumonic, pulmonary, pulmonic" in English and Chinese, respectively. The irrelative and repetitive literatures were excluded.

**RESULTS AND CONCLUSION:** Finally 68 eligible literatures were enrolled based on the inclusion and exclusion criteria. Microvesicles/exosomes cannot be phagocytosed because of their small diameter. They play a pivotal role in cell-to-cell communication depending on mRNAs, microRNAs and proteins within them. As a new paracrine protein involved in the physiological and pathological microenvironment, microvesicles/exosomes may be the promising strategy for the diagnosis or prognostic prediction of lung diseases. Microvesicles/exosomes carrying bioactive substances promote angiogenesis, cell proliferation and migration. They are deemed to be a potential target for the modulation of lung diseases. In addition, microvesicles/exosomes can relieve edema, reduce pro-inflammatory cytokine secretion and promote injury repair in animal respiratory disease models. Compared to the traditional therapy, they have more advantages in diagnosis and prognosis of lung diseases. However, the use of microvesicles/exosomes is still at its initial stage. A series of problems, including sources, active constituent and dosage of microvesicles/exosomes, are needed to be resolved in the future.

**Subject headings:** Exosomes; Lung Diseases; Review; Tissue Engineering

**Funding:** Independent Research Project of Wuhan University of China, No. 2042017kf0084; Natural Science Foundation of Hubei Province, No. 2018CFB230

## 0 引言 Introduction

细胞微囊泡首次记载要追溯到1967年<sup>[1]</sup>, 只是由于当时没有意识到它的重要作用而将其视为细胞代谢产生的垃圾废物或碎片。直至近期人们才开始关注它在诸多生理病理环境下(如凝血、炎症、细胞间信号传递及肿瘤细胞生长等)所发挥的作用。细胞微囊泡既可来源于细胞上清, 也可源于多种生物体液(如血液、尿液、痰液、肺泡灌洗液和乳汁等), 不同细胞来源的囊泡可能在大小、组成及产生机制上不尽相同, 根据这些特点的不同, 可将其分为外泌体和微粒/微囊泡两个主要类别(图1)。

文章首先介绍微囊泡、外泌体的形成和特性, 简述其作用方式及功能, 并详述这些囊泡在呼吸系统疾病中作为潜在介质、生物标志物及治疗手段等方面的应用。

## 1 资料和方法 Data and methods

**1.1 资料来源** 由作者应用计算机检索CNKI数据库(<http://www.cnki.net/>); 万方数据库(<http://www.wanfangdata.com.cn/>); PubMed数据库(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>)相关文献。

**检索时间范围:** 2007年1月至2017年12月。

**检索词:** 中文检索词为细胞微囊泡, 外泌体, 肺; 英文检索词为exosome, microvesicle, microparticle, extracellular vesicles, lung, pulmonary, pneumonic, pulmonary, pulmonic。共检索到文献262篇。

### 1.2 入选标准

**纳入标准:** 论点、论据可靠且权威、专业杂志的文献。

**排除标准:** 重复或与研究内容无关的研究。

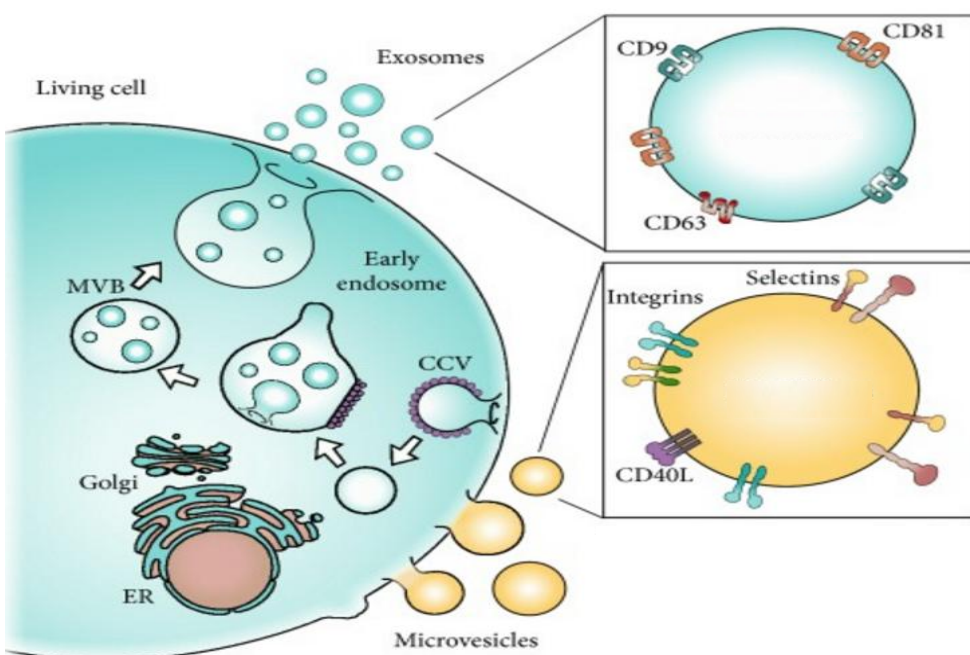


图1 细胞外囊泡(外泌体、微囊泡)示意图<sup>[2]</sup>  
图注: 外泌体和微囊泡分别通过多泡小体与细胞膜融合、直接由细胞膜脱落从活细胞中分泌释放。

1.3 质量评估 初检得到英文文献255篇,中文文献7篇,查阅全文,选择与研究目的相符、与研究内容联系紧密的68篇文献进行整理分析。

## 2 结果 Results

2.1 微囊泡/外泌体的形成和特性 生理和病理情况下,多种细胞(如上皮细胞、成体干细胞、肿瘤细胞等)都可产生微囊泡/外泌体<sup>[2]</sup>。细胞在受到物理化学刺激后,胞吞形成早期胞内体,随着与高尔基体和内质网的相互作用,包膜内发生内陷,形成多囊泡体,多囊泡体与细胞膜融合后再通过胞吐作用,将多囊泡体中的囊泡释放到胞外而形成了直径不同的微囊泡(100-2 000 nm)或外泌体(40-100 nm)。外泌体的分泌依赖于骨架蛋白的活化,微囊泡的释放除了依赖于骨架蛋白活化外,还需借助于胞内钙离子浓度。微囊泡富含磷脂酰丝氨酸,外泌体富含四分子交联体蛋白(CD63、CD81和CD9)、热休克蛋白(HSP60、HSP70和HSP90)、肿瘤易感基因101(TSG101)等特异性表面分子,微囊泡/外泌体可以通过细胞的生物活性分子(胞内体蛋白、膜蛋白、核酸等)直接与受体细胞之间实现信息传递<sup>[3]</sup>。

2.2 微囊泡/外泌体的功能 微囊泡/外泌体的主要功能是细胞间的信息传递,由于其具有脂质双分子层包膜,可有效避免所运载生物活性物质的降解,通过受体与靶细胞相互作用或直接与细胞膜融合或胞吞作用,将内含物传递到受体细胞。具体主要通过以下几种方式作用于受体细胞。

2.2.1 作为复合物信号直接刺激靶细胞 血小板来源的微囊泡因其膜上具有丰富的磷脂酰丝氨酸,因此在凝血过程中可为凝血因子的聚集提供磷脂表面<sup>[4-6]</sup>。血小板活化后,会释放携带组织因子的微囊泡,这些微囊泡可与巨噬细胞、中性粒细胞和其他表达P-选择素的血小板相互作用<sup>[7]</sup>。

2.2.2 在细胞间传递受体或活性脂质 微囊泡可以将黏附分子CD41从血小板转移到内皮细胞或肿瘤细胞中<sup>[8-9]</sup>,便赋予内皮细胞或肿瘤细胞黏附特性。源于肿瘤细胞的微囊泡携带Fas配体可诱导活化的T细胞发生凋亡,从而实现肿瘤细胞的免疫逃逸<sup>[10]</sup>。

2.2.3 通过传递胞内蛋白调节靶细胞功能 内毒素刺激单核细胞后,通过释放包含caspase-1的微囊泡诱导血管平滑肌细胞死亡,这种细胞间诱导凋亡的实质便是微囊泡将caspase-1蛋白的功能直接作用于靶细胞上<sup>[11]</sup>。

2.2.4 介导遗传信息水平传递 共培养条件下,表观遗传变化这一现象时有报道,它发生的机制便可用遗传信息在细胞间发生转移及传递来解释。而且有研究显示,肿瘤细胞来源的微囊泡不仅可以传递表面决定簇,还可以将mRNA传递给单核细胞<sup>[12]</sup>。内皮祖细胞来源的微囊泡与内皮细胞表面的整合素发生作用,使mRNA在两者

间往复传递,从而激活血管生成程序<sup>[13]</sup>。

## 2.3 微囊泡/外泌体参与的肺脏疾病

2.3.1 慢性阻塞性肺病 最近研究发现内皮微囊泡可作为肺气肿和慢性阻塞性肺病的致病效应物或预后指征<sup>[14]</sup>,研究将受试者分为健康非吸烟者及吸烟者,其中吸烟者又分为肺功能、一氧化碳扩散量正常者和肺功能正常但一氧化碳扩散量低者。肺功能正常但一氧化碳扩散量低的吸烟者正处于肺气肿初期,此时发现这些吸烟者的内皮微囊泡水平明显升高,因此内皮微囊泡水平升高或许可视为早期肺气肿的标志。

另有研究发现在慢性阻塞性肺病恶化时,凋亡和活化的内皮微囊泡明显增加<sup>[15]</sup>,进一步研究发现内皮微囊泡中CD62E<sup>+</sup>基线水平高,提示内皮细胞更易活化,换句话说,这样的慢性阻塞性肺病患者病情恶化的可能性增加。

Takahashi团队<sup>[15]</sup>指出CD31<sup>+</sup>和CD62E<sup>+</sup>的内皮细胞微囊泡即凋亡和活化的内皮细胞微囊泡水平升高可提示慢性阻塞性肺病恶化。未检测血管紧张素转化酶的表达,因为多数内皮细胞微囊泡不表达血管性血友病因子,在病情恶化时,无论是凋亡还是炎症/活化,肺毛细血管所受的影响最大,而且该研究还指出,CD62E<sup>+</sup>内皮微囊泡水平升高也预示患者有恶化的倾向,可作为预后的指征。该团队后期研究发现,CD62E<sup>+</sup>内皮细胞微囊泡水平的变化与第1秒用力呼气量呈明显负相关,提示内皮细胞持续激活和炎症将严重降低慢性阻塞性肺病患者的肺功能<sup>[16]</sup>。

因此,可以通过检测内皮细胞微囊泡分析肺脏内皮细胞的活化和凋亡,进而判断慢性阻塞性肺病病情变化,这也说明慢性阻塞性肺病是一种内皮成分变化引起的疾病,尤多见于肺脏与心血管的合并症<sup>[17]</sup>。近期提出了一个肺脏、内皮、骨髓和脂肪组织网络的整体模型,其中肺脏是外部传感器,内皮是内部传感器,骨髓和脂肪组织则是应答元件<sup>[18]</sup>,将它们联系起来的介质很可能就是微囊泡。有研究曾发现脂肪组织分泌的瘦素<sup>[19]</sup>、空气污染物均可以诱导巨噬细胞和内皮细胞产生微囊泡<sup>[20]</sup>。

2.3.2 哮喘 哮喘通常呈现不同形式的气道炎症,涉及到一系列的细胞分子介质参与。近来一项研究显示,哮喘患者比健康者具有更多的血小板来源的微囊泡<sup>[21]</sup>,提示血小板微囊泡在气道炎症中具有潜在的致病作用。有研究观察病毒感染在哮喘患者凝血平衡中的作用,结果显示鼻病毒感染后的哮喘患者肺泡灌洗液(BALF)中含有组织因子的微囊泡数量增加,携带组织因子的微囊泡可能会使感染了病毒的哮喘患者局部凝血功能亢进<sup>[22]</sup>。哮喘患者肺泡灌洗液中外泌体标志物水平升高,肺泡灌洗液外泌体可能通过升高气道上皮因子和白三烯的水平而引起炎症反应<sup>[23]</sup>。

白细胞介素13能够引起哮喘小鼠的上皮细胞外泌

体分泌明显增多,这些上皮细胞来源的外泌体可以诱导未分化巨噬细胞的增殖,应用外泌体抑制剂GW4869后,可以减少增殖的单核细胞数目并有效减轻哮喘症状<sup>[24]</sup>。用卵清蛋白喂养的小鼠,其血清或血清来源的外泌体腹腔注射给未成年小鼠可以有效改善过敏体质<sup>[25]</sup>。上述研究说明,靶向外泌体或使用外泌体可作为预防和治疗哮喘的潜在方法。

**2.3.3 弥漫性实质性肺病** 目前对于弥漫性实质性肺病的病因及致病机制知之甚少,因此微囊泡在弥漫性实质性肺病中应用的研究很有限。以往研究曾观察到42例进行性硬化症患者的血小板微囊泡和单核细胞微囊泡水平高于健康对照者,尤其是硬化症患者中有间质性肺病的患者会检测出更高水平的血小板微囊泡和单核细胞微囊泡,提示微囊泡水平可作为间质性肺病发展的标志,选择治疗方案时可作为参考<sup>[26]</sup>。

凝血和肺纤维化关系密切<sup>[27]</sup>,鉴于微囊泡在凝血过程中的作用,有研究观察微囊泡在肺纤维化患者体内的变化,19例患者的肺泡灌洗液中微囊泡的数量增加,且微囊泡携带的组织因子促凝活性较高<sup>[28]</sup>,而且特发性肺纤维化患者的微囊泡组织因子活性比非特发性肺纤维化患者强;另外,特发性肺纤维化患者微囊泡组织因子含量与用力肺活量呈负相关;体外培养的肺泡上皮细胞在过氧化氢刺激下产生的促凝活性微囊泡增多。凝血因子X的合成及转化为活化形式皆可发生在特发性肺纤维化过程中,因子Xa除了可以将凝血酶原剪切成凝血酶,还可以剪切控制成纤维细胞向肌成纤维细胞分化的信号即剪切成纤维细胞上的蛋白酶激活受体1(PAR-1),特发性肺纤维化局部凝血因子X的合成及Xa的表达都增加<sup>[29]</sup>。简单概括,即氧化应激诱导促凝反应,产生携带组织因子的微囊泡促进局部凝血因子X的合成及Xa的产生,因此也就间接促进蛋白酶激活受体1介导的肺纤维化的发生。

**2.3.4 急性肺损伤/急性呼吸窘迫综合征(ALI/ARDS)** 急性肺损伤时肺脏内会呈现一系列局部炎症,这与凝血级联反应活化及肺泡内纤维蛋白沉积密切相关。根据以往实验中观察到急性呼吸窘迫综合征会出现组织因子途径活化的迹象,BASTARACHE团队发现急性呼吸窘迫综合征患者肺内水肿液含有的微囊泡高于心源性水肿患者,而具有更高的促凝活性,这是因为急性呼吸窘迫综合征患者水肿液中组织因子浓度升高,恰与微囊泡增多的趋势一致,提示急性呼吸窘迫综合征患者水肿液中微囊泡里包含组织因子。进一步研究还发现死于急性呼吸窘迫综合征的患者比存活者肺泡上皮内的微囊泡多,推测微囊泡在激活血液凝固、促进肺泡内纤维蛋白沉积中起关键作用<sup>[30]</sup>。因此,急性呼吸窘迫综合征患者肺泡上皮来源的微囊泡数量可以作为患者预后的指标,并可能成为未来治疗急性呼吸窘迫综合征的潜在靶点。

另一项研究分析52例急性呼吸窘迫综合征患者血浆和肺泡灌洗液中白细胞、中性粒细胞、内皮细胞和血小板中的微囊泡水平与对照组受试者之间的差异,结果显示,血浆中白细胞微囊泡水平高的呼吸窘迫综合征患者预后更好<sup>[31]</sup>,循环水平的白细胞微囊泡与血小板、单核细胞微囊泡不同,白细胞微囊泡具有保护性,在败血症和感染性休克中可以保护血管张力<sup>[32]</sup>。近年发现,骨髓间充质干细胞外泌体可减轻内毒素诱导的小鼠急性肺损伤,将间充质干细胞分别进行缺氧处理0, 30, 60, 90 min后,从培养上清中提取了外泌体随即应用于内毒素急性肺损伤小鼠模型中,其中缺氧60 min处理组急性肺损伤小鼠肺泡灌洗液中白细胞和中性粒细胞下降最显著;另外将缺氧60 min处理组的外泌体应用于内毒素刺激的RAW264.7细胞,能明显降低肿瘤坏死因子 $\alpha$ 水平,并升高白细胞介素10含量,提示间充质干细胞可通过外泌体减轻内毒素急性肺损伤<sup>[33]</sup>。另有研究报道,给予内毒素急性肺损伤小鼠气管注射人间充质干细胞来源的微囊泡48 h之后,可以通过改变受损肺泡KGF的表达而改善急性肺损伤的症状(减轻水肿,降低蛋白通透),减轻炎症(减少肺泡灌洗液中炎症细胞的浸润)<sup>[34]</sup>。杨尧等<sup>[35]</sup>观察尾静脉注射人脐带间充质干细胞外泌体对内毒素诱导大鼠急性肺损伤有治疗作用,发现经治疗后急性肺损伤大鼠血清促炎因子白细胞介素6、肿瘤坏死因子 $\alpha$ 和白细胞介素1 $\beta$ 降低,抗炎因子白细胞介素10升高。

**2.3.5 肺栓塞** 促凝微囊泡在静脉血栓栓塞症(venous thromboembolism, VTE)中的作用现已受到广泛关注。研究发现静脉血栓栓塞症患者血浆内皮细胞微囊泡(EMPs)明显增加<sup>[36]</sup>,提示在血块形成过程中存在内皮细胞微囊泡与白细胞的相互作用,因此内皮细胞微囊泡或许可作为预防治疗血栓事件的潜在靶点。

但也有不同观点,另一研究则发现急性肺栓塞患者的内皮细胞微囊泡和血小板微囊泡水平与对照组无差异<sup>[37]</sup>,只有当对照组没有心血管事件发生风险时,循环水平的内皮细胞微囊泡和血小板微囊泡在静脉血栓栓塞症患者和对照组之间才存在差异,如果对照组受试者有心血管事件发生的风险时,则两组无差异。这一研究提示,循环水平的微囊泡只能作为心血管危险因素的标志。

近来的研究还显示,静脉血栓栓塞症患者总磷脂酰丝氨酸阳性的微囊泡循环水平高于对照组<sup>[38]</sup>,而且微囊泡水平与静脉血栓栓塞症发生呈正相关。这是因为微囊泡的组成成分为促进血栓形成提供了生物活性物质,这也说明循环水平微囊泡可导致静脉血栓栓塞症发生。

上述研究都没有关注携带组织因子微囊泡在血块形成中的作用,而微囊泡中组织因子在其中的作用是不容忽视的。一项回顾性研究显示,肺栓塞疑似患者的携带组织因子微囊泡数量明显高于对照组,但其中的组织因子活性却没有大的差异<sup>[39]</sup>。肺栓塞患者如果患上癌症



则其微囊泡组织因子的活性会增强,因此微囊泡组织因子活性并不是静脉血栓栓塞症事件的特征,而是癌症的表征。另一项前瞻性研究显示,深静脉血栓患者无论是否发生肺栓塞,呈现出一致的结论<sup>[40]</sup>,即微囊泡组织因子活性并不是血栓形成的根源。

静脉血栓栓塞症与癌症的关系目前已很明确<sup>[41]</sup>,对于静脉血栓栓塞症癌转移患者,微囊泡组织因子的活性高于单纯的癌症患者、健康者及特发性静脉血栓栓塞症患者,提示肿瘤衍生的微囊泡可能启动了癌症患者体内的血块形成级联反应从而致病<sup>[42]</sup>。类似的研究也明确指出,微囊泡组织因子活性与癌症有关,在静脉血栓栓塞症发生时过度活跃<sup>[43-45]</sup>。上述发现提示这些微囊泡源于肿瘤细胞,在静脉血栓栓塞症发展过程中起致病作用,或可作为潜在的生物标记,以用于肿瘤患者选择理想的预防治疗方案。在一项II期随机试验中,选择66例不可手术患者为观察对象,其中微囊泡组织因子活性高的患者分别给予预防剂量的依诺肝素及安慰剂,2个月后发现,经过依诺肝素治疗的患者静脉血栓栓塞症发生率降低(与低水平的微囊泡组织因子活性的发生率类似)<sup>[46]</sup>,说明微囊泡组织因子活性可以作为静脉血栓栓塞症发生风险的预测标志,并作为癌症患者抗凝治疗的靶点选择。

**2.3.6 肺癌** 早些年研究中发现,肺癌患者的血小板微囊泡和单核细胞微囊泡数量多于健康者,且癌症患者血小板活化标志物表达也增加,提示微囊泡与血管并发症存在密切关联<sup>[47]</sup>。微囊泡还可作为肺癌患者的预后指标,循环总微囊泡在非小细胞肺癌患者体内升高,如果原来微囊泡基线水平高,则预后较好<sup>[48]</sup>;也有研究通过107例非小细胞肺癌患者的血小板微囊泡和内皮细胞微囊泡的测定,揭示相关的预后结果<sup>[49]</sup>。循环外泌体中的microRNA可作为肺癌的诊断标志<sup>[50-51]</sup>,尿液来源外泌体LRG-1的表达也可作为诊断非小细胞肺癌的颇具前景的手段<sup>[52]</sup>。外泌体在细胞间扮演通讯员的角色,可在肿瘤微环境中执行促进癌细胞生长、刺激血管新生、活化基质成纤维细胞、抑制机体免疫反应等诸多功能。顺铂可使A549细胞的外泌体分泌增强,将此外泌体加入A549细胞,可降低其对顺铂的敏感性,这一过程可能是细胞间通过外泌体内miRNA和mRNA信息传递而实现的<sup>[53]</sup>。A549细胞可以摄取人结肠癌细胞的外泌体,从而使外泌体内的生物活性物质得以传递和共享<sup>[54]</sup>。

血小板来源的微囊泡可以促进A549细胞增殖并增加促血管生成基因的表达,小鼠静脉注射其血小板来源的微囊泡后会明显增强迁移性,提示血小板微囊泡在肿瘤生长、迁移和血管生成中起重要作用<sup>[55]</sup>。来源于人肾癌干细胞的微囊泡应用于肺癌小鼠模型中,发现可促进肺癌转移前微环境和血管生成<sup>[56]</sup>。贫血小板血浆中的组织因子阳性微囊泡预示肺癌向远处转移<sup>[57]</sup>。

**2.3.7 肺动脉高压** 对于肺动脉高压患者,微囊泡可作为病理诊断依据及预后指标。20例肺动脉高压患者的内皮细胞微囊泡及内含的组织因子活性高于健康者,且越是病情严重的患者内皮微囊泡数量及所含组织因子的活性就越高<sup>[58]</sup>。低氧可通过肺内巨噬细胞的替代激活使促炎介质释放而引起肺内炎症反应,最终导致低氧性肺高压,常用作肺动脉高压动物模型。来源于小鼠间充质干细胞培养基中的外泌体能抑制低氧性肺高压过程中巨噬细胞的浸润、促炎和促增殖介质的产生。静脉给予间充质干细胞的外泌体可抑制血管重塑,如果耗竭间充质干细胞外泌体或成纤维细胞来源外泌体则会失去上述功能。而且,间充质干细胞外泌体可以抑制低氧活化信号转导及STAT3的激活,以低氧诱导的人肺动脉上皮细胞为研究对象,来源于人脐带间充质干细胞的外泌体便可抑制细胞模型中的STAT3信号<sup>[59]</sup>。王英宏等<sup>[60]</sup>发现大鼠骨髓间充质干细胞外泌体可降低肺动脉高压大鼠平均肺动脉压和右心室压,对野百合碱诱导的肺动脉高压有治疗作用。

综上所述,微囊泡可作为呼吸系统气道炎症性疾病的主要致病因素、诊断依据或治疗靶点,具体详见表1<sup>[14-15, 21, 26, 28, 30-31, 42-44, 46-49, 58, 61-68]</sup>。

**2.4 存在的问题和局限** 近年来,微囊泡/外泌体的作用在肺病研究中虽然取得了一定的进展,但在应用前尚有亟待解决的问题:使微囊泡/外泌体合成并分泌的有效刺激需要探究加以明确;目前应用间充质干细胞外泌体作为治疗手段的基础实验初见成效,但间充质干细胞外泌体因不同器官来源而特性各异,在进行大规模临床前试验时则受限于来源器官,而且外泌体的治疗剂量及培养来源细胞的反应容器规格仍需确定;外泌体的作用机制仍不清楚,其中哪类活性物质作用于疾病过程中的哪个靶细胞有待研究。

目前很多研究提示微囊泡/外泌体内的miRNA对于肺病诊断、预防和治疗尤为重要,但在研究中却存在着诸多问题和困难:①筛查分析miRNA,可以很容易发现发病过程中很多miRNA的表达皆发生变化,但具体哪个miRNA才是罪魁祸首,目前缺少确立关键miRNA的金标准;②体液和外泌体miRNA目前尚没有标准的提取分离方法;③目前正常的组织和体液样本采集miRNA的质量控制标准还有待完善;④关于miRNA的信息量很大,明确它们的网络关系,将用于诊断和治疗的miRNA进行分类应用还有待于深入研究。

### 3 小结与展望 Conclusions and perspectives

微囊泡/外泌体可以对气道和肺脏微环境中的免疫反应实现微调控:非肿瘤细胞来源的微囊泡/外泌体可促进组织修复,维持生理稳态,从而对抗损伤;肿瘤来源的微囊泡/外泌体则促进肿瘤侵袭和肿瘤周围血管新

表 1 细胞微囊泡在人肺脏疾病中的作用

疾病	微囊泡类型	来源	意义	参考文献
慢性阻塞性肺疾病	内皮细胞微囊泡	血浆	(1)肺气肿标志物: 若携带凋亡标志 CD31 <sup>+</sup> 内皮细胞微囊泡数量增加, 则提示患者有肺气肿和轻度慢性阻塞性肺疾病; (2)预后指标: 若携带凋亡标志 CD31 <sup>+</sup> 和活化标志 CD62E <sup>+</sup> 的内皮细胞微囊泡增加, 则提示慢性阻塞性肺疾病患者病情恶化; (3)若稳性慢性阻塞性肺疾病患者携带活化标志 CD62E <sup>+</sup> 的内皮细胞微囊泡增加, 则提示其病情恶化的风险较高; (4)功能指标: 携带活化标志 CD62E <sup>+</sup> 的内皮细胞微囊泡的数量增加与 1 s 用力呼气量下降相关。	[14-15, 61-62]
哮喘	血小板微囊泡	血浆	在支气管炎中的作用。	[21]
	携带组织因子的微囊泡	肺泡灌洗液	哮喘加重期间促进高凝状态。	[63]
弥漫性实质性肺病	血小板微囊泡, 单核细胞微囊泡	血浆	累及肺脏的系统硬化症标志物。	[26]
	携带组织因子的微囊泡	肺泡灌洗液	(1)疾病严重程度标志物; (2)促进肌成纤维细胞分化和活化。	[28]
急性呼吸窘迫综合/急性肺损伤	总微囊泡	肺泡灌洗液	(1)局部激活凝血级联反应; (2)潜在的治疗靶点。	[30]
	白细胞微囊泡	血浆	预后指标: 生存率增加。	[31]
肺栓塞和静脉血栓栓塞	内皮细胞微囊泡	血浆	促进凝块形成。	[37]
	携带组织因子的微囊泡	血浆	(1)促进癌症患者凝块形成; (2)潜在的治疗决策标志(预防血栓)。	[42-44, 64] [46]
肺癌	血小板微囊泡, 单核细胞微囊泡	血浆	促进高凝状态及肿瘤血管形成。	[47]
	总微囊泡, 血小板微囊泡, 内皮细胞微囊泡	血浆	(1)预后指标; (2)若表型为 CD31 <sup>+</sup> CD42b <sup>-</sup> annexinV <sup>-</sup> 的内皮细胞微囊泡数量增加, 则说明患者存活的可能性大。	[48-49, 65]
肺高压	携带组织因子的微囊泡	血浆	肺动脉高压中血栓形成。	[66]
	内皮细胞微囊泡	血浆	(1)内皮损伤的标志; (2)不同病理模式的标志; (3)预后标志。	[58] [67] [68]

生。干细胞可自我复制并多向分化, 在损伤修复和组织再生过程中发挥举足轻重的作用, 但干细胞移植入机体可能会发生异常分化而存在一定的风险, 因此来源于干细胞的微囊泡/外泌体无疑成为替代细胞疗法的有力手段。因此, 在未来的研究中如果能够趋利避害, 即尽可能极大促进具有保护作用微囊泡/外泌体的合成分泌, 减少危害机体的微囊泡/外泌体形成和循环, 那么微囊泡/外泌体应用于临床肺病的诊断和治疗将具有十分广阔的前景。

**作者贡献:** 罗登和冉文卓构思并设计综述, 罗登收集资料, 冉文卓分析并解析数据, 罗登、冉文卓、叶迎春复核评估纳入的研究, 罗登撰文, 叶迎春审校。

**经费支持:** 该文章接受了“武汉大学自主科研资助项目(2042017kf0084)”、“湖北省自然科学基金项目(2018CFB230)”的资助。所有作者声明, 经费支持没有影响文章观点和对研究数据客观结果的统计分析及其报道。

**利益冲突:** 文章的全部作者声明, 在课题研究和文章撰写过程, 没有因其岗位角色影响文章观点和对数据结果的报道, 不存在利益冲突。

**伦理问题:** 文章的撰写与编辑修改后文章遵守了《系统综述和荟萃分析报告规范》(PRISMA 指南)。

**文章查重:** 文章出版前已经过 CNKI 反剽窃文献检测系统进行 3 次查重。

**文章外审:** 文章经国内小同行外审专家双盲外审, 符合本刊发稿宗旨。

**作者声明:** 通讯作者对研究和撰写的论文中出现的不端行为承担责任。论文中涉及的原始图片、数据(包括计算机数据库)记录及样本已按照有关规定保存、分享和销毁, 可接受核查。

**文章版权:** 文章出版前杂志已与全体作者授权人签署了版权相关协议。

**开放获取声明:** 这是一篇开放获取文章, 根据《知识共享许可协议》“署名-非商业性使用-相同方式共享3.0”条款, 在合理引用的情况下, 允许他人以非商业性目的基于原文内容编辑、调整和扩展, 同时允许任何用户阅读、下载、拷贝、传递、打印、检索、超级链接该文献, 并为之建立索引, 用作软件的输入数据或其它任何合法用途。

#### 4 参考文献 References

- [1] Wolf P. The nature and significance of platelet products in human plasma. *Br J Haematol.* 1967;13(3):269-288.
- [2] Pugholm LH, Revenfeld AL, Søndergaard EK, et al. Antibody-Based Assays for Phenotyping of Extracellular Vesicles. *Biomed Res Int.* 2015;2015:524817.
- [3] Biancone L, Bruno S, Deregibus MC, et al. Therapeutic potential of mesenchymal stem cell-derived microvesicles. *Nephrol Dial Transplant.* 2012;27(8):3037-3042.
- [4] Ratajczak J, Wysoczynski M, Hayek F, et al. Membrane-derived microvesicles: important and underappreciated mediators of cell-to-cell communication. *Leukemia.* 2006;20(9):1487-1495.
- [5] Zwaal RF, Comfurius P, Bevers EM. Scott syndrome, a bleeding disorder caused by defective scrambling of membrane phospholipids. *Biochim Biophys Acta.* 2004;1636(2-3):119-128.
- [6] Cocucci E, Racchetti G, Meldolesi J. Shedding microvesicles: artefacts no more. *Trends Cell Biol.* 2009;19(2):43-51.

- [7] Polgar J, Matuskova J, Wagner DD. The P-selectin, tissue factor, coagulation triad. *J Thromb Haemost*. 2005;3(8):1590-1596.
- [8] Barry OP, Praticò D, Savani RC, et al. Modulation of monocyte-endothelial cell interactions by platelet microparticles. *J Clin Invest*. 1998;102(1):136-144.
- [9] Janowska-Wieczorek A, Majka M, Kijowski J, et al. Platelet-derived microparticles bind to hematopoietic stem/progenitor cells and enhance their engraftment. *Blood*. 2001;98(10):3143-3149.
- [10] Kim JW, Wieckowski E, Taylor DD, et al. Fas ligand-positive membranous vesicles isolated from sera of patients with oral cancer induce apoptosis of activated T lymphocytes. *Clin Cancer Res*. 2005;11(3):1010-1020.
- [11] Sarkar A, Mitra S, Mehta S, et al. Monocyte derived microvesicles deliver a cell death message via encapsulated caspase-1. *PLoS One*. 2009;4(9):e7140.
- [12] Baj-Krzyworzeka M, Szatanek R, Weglarczyk K, et al. Tumour-derived microvesicles carry several surface determinants and mRNA of tumour cells and transfer some of these determinants to monocytes. *Cancer Immunol Immunother*. 2006;55(7):808-818.
- [13] Deregibus MC, Cantaluppi V, Calogero R, et al. Endothelial progenitor cell derived microvesicles activate an angiogenic program in endothelial cells by a horizontal transfer of mRNA. *Blood*. 2007;110(7):2440-2448.
- [14] Gordon C, Gudi K, Krause A, et al. Circulating endothelial microparticles as a measure of early lung destruction in cigarette smokers. *Am J Respir Crit Care Med*. 2011;184(2):224-232.
- [15] Takahashi T, Kobayashi S, Fujino N, et al. Increased circulating endothelial microparticles in COPD patients: a potential biomarker for COPD exacerbation susceptibility. *Thorax*. 2012;67(12):1067-1074.
- [16] Takahashi T, Kobayashi S, Fujino N, et al. Annual FEV1 changes and numbers of circulating endothelial microparticles in patients with COPD: a prospective study. *BMJ Open*. 2014;4(3):e004571.
- [17] Barberà JA. Chronic obstructive pulmonary disease: a disease of the endothelium. *Am J Respir Crit Care Med*. 2013;188(1):5-7.
- [18] Agustí A, Barberà JA, Wouters EF, et al. Lungs, bone marrow, and adipose tissue. A network approach to the pathobiology of chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med*. 2013;188(12):1396-1406.
- [19] Petrini S, Neri T, Lombardi S, et al. Leptin induces the generation of procoagulant, tissue factor bearing microparticles by human peripheral blood mononuclear cells. *Biochim Biophys Acta*. 2016;1860(6):1354-1361.
- [20] Neri T, Pergoli L, Petrini S, et al. Particulate matter induces prothrombotic microparticle shedding by human mononuclear and endothelial cells. *Toxicol In Vitro*. 2016;32:333-338.
- [21] Duarte D, Taveira-Gomes T, Sokhatska O, et al. Increased circulating platelet microparticles as a potential biomarker in asthma. *Allergy*. 2013;68(8):1073-1075.
- [22] Majoor CJ, van de Pol MA, Kamphuisen PW, et al. Evaluation of coagulation activation after rhinovirus infection in patients with asthma and healthy control subjects: an observational study. *Respir Res*. 2014;15:14.
- [23] Torregrosa Paredes P, Esser J, Admyre C, et al. Bronchoalveolar lavage fluid exosomes contribute to cytokine and leukotriene production in allergic asthma. *Allergy*. 2012; 67(7):911-919.
- [24] Kulshreshtha A, Ahmad T, Agrawal A, et al. Proinflammatory role of epithelial cell-derived exosomes in allergic airway inflammation. *J Allergy Clin Immunol*. 2013;131(4):1194-1203.
- [25] Almqvist N, Lönnqvist A, Hultkrantz S, et al. Serum-derived exosomes from antigen-fed mice prevent allergic sensitization in a model of allergic asthma. *Immunology*. 2008;125(1):21-27.
- [26] Nomura S, Inami N, Ozaki Y, et al. Significance of microparticles in progressive systemic sclerosis with interstitial pneumonia. *Platelets*. 2008;19(3):192-198.
- [27] Crooks MG, Hart SP. Coagulation and anticoagulation in idiopathic pulmonary fibrosis. *Eur Respir Rev*. 2015; 24(137):392-399.
- [28] Novelli F, Neri T, Tavanti L, et al. Procoagulant, tissue factor-bearing microparticles in bronchoalveolar lavage of interstitial lung disease patients: an observational study. *PLoS One*. 2014;9(4):e95013.
- [29] Scotton CJ, Krupiczkoj MA, Königshoff M, et al. Increased local expression of coagulation factor X contributes to the fibrotic response in human and murine lung injury. *J Clin Invest*. 2009;119(9):2550-2563.
- [30] Bastarache JA, Fremont RD, Kropski JA, et al. Procoagulant alveolar microparticles in the lungs of patients with acute respiratory distress syndrome. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2009;297(6):L1035-1041.
- [31] Guervilly C, Lacroix R, Forel JM, et al. High levels of circulating leukocyte microparticles are associated with better outcome in acute respiratory distress syndrome. *Crit Care*. 2011;15(1):R31.
- [32] Mostefai HA, Mezziani F, Mastronardi ML, et al. Circulating microparticles from patients with septic shock exert protective role in vascular function. *Am J Respir Crit Care Med*. 2008;178(11):1148-1155.
- [33] Li L, Jin S, Zhang Y. Ischemic preconditioning potentiates the protective effect of mesenchymal stem cells on endotoxin-induced acute lung injury in mice through secretion of exosome. *Int J Clin Exp Med*. 2015;8(3):3825-3832.
- [34] Zhu YG, Feng XM, Abbott J, et al. Human mesenchymal stem cell microvesicles for treatment of Escherichia coli endotoxin-induced acute lung injury in mice. *Stem Cells*. 2014;32(1):116-125.
- [35] 杨尧,朱耀斌,李志强,等.间充质干细胞外泌体对大鼠急性肺损伤的保护作用[J]. *中华实用诊断与治疗杂志*,2017,31(7): 628-631.
- [36] Chirinos JA, Heresi GA, Velasquez H, et al. Elevation of endothelial microparticles, platelets, and leukocyte activation in patients with venous thromboembolism. *J Am Coll Cardiol*. 2005;45(9):1467-1471.
- [37] Bal L, Ederhy S, Di Angelantonio E, et al. Factors influencing the level of circulating procoagulant microparticles in acute pulmonary embolism. *Arch Cardiovasc Dis*. 2010;103(6-7):394-403.
- [38] Bucciarelli P, Martinelli I, Artoni A, et al. Circulating microparticles and risk of venous thromboembolism. *Thromb Res*. 2012;129(5):591-597.
- [39] Garcia Rodriguez P, Eikenboom HC, Tesselaar ME, et al. Plasma levels of microparticle-associated tissue factor activity in patients with clinically suspected pulmonary embolism. *Thromb Res*. 2010;126(4):345-349.

- [40] Thaler J, Koppensteiner R, Pabinger I, et al. Microparticle-associated tissue factor activity in patients with acute unprovoked deep vein thrombosis and during the course of one year. *Thromb Res.* 2014;134(5):1093-1096.
- [41] Connolly GC, Francis CW. Cancer-associated thrombosis. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program.* 2013;2013:684-691.
- [42] Tesselaar ME, Romijn FP, Van Der Linden IK, et al. Microparticle-associated tissue factor activity: a link between cancer and thrombosis. *J Thromb Haemost.* 2007;5(3):520-527.
- [43] Campello E, Spiezia L, Radu CM, et al. Endothelial, platelet, and tissue factor-bearing microparticles in cancer patients with and without venous thromboembolism. *Thromb Res.* 2011;127(5):473-477.
- [44] Manly DA, Wang J, Glover SL, et al. Increased microparticle tissue factor activity in cancer patients with Venous Thromboembolism. *Thromb Res.* 2010;125(6):511-512.
- [45] Zwicker JI, Liebman HA, Neuberg D, et al. Tumor-derived tissue factor-bearing microparticles are associated with venous thromboembolic events in malignancy. *Clin Cancer Res.* 2009;15(22):6830-6840.
- [46] Zwicker JI, Liebman HA, Bauer KA, et al. Prediction and prevention of thromboembolic events with enoxaparin in cancer patients with elevated tissue factor-bearing microparticles: a randomized-controlled phase II trial (the Microtec study). *Br J Haematol.* 2013;160(4):530-537.
- [47] Kanazawa S, Nomura S, Kuwana M, et al. Monocyte-derived microparticles may be a sign of vascular complication in patients with lung cancer. *Lung Cancer.* 2003;39(2):145-149.
- [48] Fleitas T, Martínez-Sales V, Vila V, et al. Circulating endothelial cells and microparticles as prognostic markers in advanced non-small cell lung cancer. *PLoS One.* 2012;7(10):e47365.
- [49] Wang CC, Tseng CC, Hsiao CC, et al. Circulating endothelial-derived activated microparticle: a useful biomarker for predicting one-year mortality in patients with advanced non-small cell lung cancer. *Biomed Res Int.* 2014;2014:173401.
- [50] Cazzoli R, Buttitta F, Di Nicola M, et al. microRNAs derived from circulating exosomes as noninvasive biomarkers for screening and diagnosing lung cancer. *J Thorac Oncol.* 2013;8(9):1156-1162.
- [51] Rosell R, Wei J, Taron M. Circulating MicroRNA Signatures of Tumor-Derived Exosomes for Early Diagnosis of Non-Small-Cell Lung Cancer. *Clin Lung Cancer.* 2009;10(1): 8-9.
- [52] Arsiccott WT, Camphausen KA. Analysis of urinary exosomes to identify new markers of non-small-cell lung cancer. *Biomark Med.* 2011;5(6):822.
- [53] Xiao X, Yu S, Li S, et al. Exosomes: decreased sensitivity of lung cancer A549 cells to cisplatin. *PLoS One.* 2014;9(2):e89534.
- [54] Chiba M, Kimura M, Asari S. Exosomes secreted from human colorectal cancer cell lines contain mRNAs, microRNAs and natural antisense RNAs, that can transfer into the human hepatoma HepG2 and lung cancer A549 cell lines. *Oncol Rep.* 2012;28(5):1551-1558.
- [55] Janowska-Wieczorek A, Wysoczynski M, Kijowski J, et al. Microvesicles derived from activated platelets induce metastasis and angiogenesis in lung cancer. *Int J Cancer.* 2005;113(5):752-760.
- [56] Grange C, Tapparo M, Collino F, et al. Microvesicles released from human renal cancer stem cells stimulate angiogenesis and formation of lung premetastatic niche. *Cancer Res.* 2011;71(15):5346-5356.
- [57] Tseng JC, Chang LC, Jiang BY, et al. Elevated circulating levels of tissue factor-positive microvesicles are associated with distant metastasis in lung cancer. *J Cancer Res Clin Oncol.* 2014;140(1):61-67.
- [58] Bakouboula B, Morel O, Faure A, et al. Procoagulant membrane microparticles correlate with the severity of pulmonary arterial hypertension. *Am J Respir Crit Care Med.* 2008;177(5):536-543.
- [59] Lee C, Mitsialis SA, Aslam M, et al. Exosomes mediate the cytoprotective action of mesenchymal stromal cells on hypoxia-induced pulmonary hypertension. *Circulation.* 2012;126(22):2601-2611.
- [60] 王英宏,刘珍君,肖梦媛,等. 间充质干细胞源性外泌体对肺动脉高压大鼠的疗效观察[J]. *广东医科大学学报*, 2017,35(5):462-468.
- [61] Thomashow MA, Shimbo D, Parikh MA, et al. Endothelial microparticles in mild chronic obstructive pulmonary disease and emphysema. The Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis Chronic Obstructive Pulmonary Disease study. *Am J Respir Crit Care Med.* 2013;188(1):60-68.
- [62] Takahashi T, Kobayashi S, Fujino N, et al. Annual FEV1 changes and numbers of circulating endothelial microparticles in patients with COPD: a prospective study. *BMJ Open.* 2014;4(3):e004571.
- [63] Majoor CJ, van de Pol MA, Kamphuisen PW, et al. Evaluation of coagulation activation after rhinovirus infection in patients with asthma and healthy control subjects: an observational study. *Respir Res.* 2014;15:14.
- [64] Zwicker JI, Liebman HA, Neuberg D, et al. Tumor-derived tissue factor-bearing microparticles are associated with venous thromboembolic events in malignancy. *Clin Cancer Res.* 2009;15(22):6830-6840.
- [65] Tseng CC, Wang CC, Chang HC, et al. Levels of circulating microparticles in lung cancer patients and possible prognostic value. *Dis Markers.* 2013;35(5):301-310.
- [66] Bakouboula B, Morel O, Faure A, et al. Procoagulant membrane microparticles correlate with the severity of pulmonary arterial hypertension. *Am J Respir Crit Care Med.* 2008;177(5):536-543.
- [67] Amabile N, Heiss C, Real WM, et al. Circulating endothelial microparticle levels predict hemodynamic severity of pulmonary hypertension. *Am J Respir Crit Care Med.* 2008;177(11):1268-1275.
- [68] Amabile N, Heiss C, Chang V, et al. Increased CD62e(+) endothelial microparticle levels predict poor outcome in pulmonary hypertension patients. *J Heart Lung Transplant.* 2009;28(10):1081-1086.