

胞外囊泡微小 RNA 在急性肺损伤中的相关研究进展

任颖聪 陈淼 刘鑫鑫 冯帮海

遵义医科大学附属医院重症医学科, 贵州遵义 563000

通信作者: 陈淼, Email: chenmiao64@163.com

【摘要】 急性肺损伤(ALI)和急性呼吸窘迫综合征(ARDS)的特点是肺泡上皮细胞、毛细血管内皮细胞屏障功能破坏以及炎性细胞募集,并导致肺泡及间质水肿、透明膜形成和肺部炎性浸润等,其机制尚未完全明确。目前的治疗方案以呼吸机支持治疗、液体管理、营养支持等综合性治疗为主,但预后仍较差。研究显示,不同来源的胞外囊泡微小 RNA(miRNA)以不同方式参与调节上皮细胞、内皮细胞、吞噬细胞的功能,从而加重或改善 ALI,并具有诊断、鉴别诊断及治疗价值。本文就相关 ALI 模型中不同来源的胞外囊泡 miRNA 在 ALI 中的调节机制、诊断与鉴别价值及干细胞胞外囊泡 miRNA 在治疗中的应用进行综述。

【关键词】 急性肺损伤; 胞外囊泡; 微小 RNA; 干细胞

基金项目: 国家自然科学基金(81960024)

DOI: 10.3760/cma.j.cn121430-20200727-00544

Research progress of extracellular vesicle microRNA in acute lung injury

Ren Yingcong, Chen Miao, Liu Xinxin, Feng Banghai

Department of Critical Care Medicine, Affiliated Hospital of Zunyi Medical University, Zunyi 563000, Guizhou, China

Corresponding author: Chen Miao, Email: chenmiao64@163.com

【Abstract】 Acute lung injury (ALI) and acute respiratory distress syndrome (ARDS) are characterized by the destruction of the barrier function of alveolar epithelial cells and capillary endothelial cells and the recruitment of inflammatory cells, which leads to alveolar and interstitial edema, hyaline membrane formation and inflammatory infiltration of the lungs, etc. The mechanism is not completely defined. The current treatment plan focuses on comprehensive treatments such as ventilator support treatment, fluid management, and nutritional support, but the prognosis is still poor. Studies have shown that extracellular vesicle microRNA (miRNA) from different sources participate in regulating the function of epithelial cells, endothelial cells and phagocytes in different ways, thus aggravating or improving ALI, and have diagnostic, differential diagnosis and the therapeutic value. In this article, the mechanism, diagnostic and differential value of extracellular vesicle miRNA from different sources in ALI and the therapy of extracellular vesicle miRNA from stem cell in ALI are reviewed.

【Key words】 Acute lung injury; Extracellular vesicle; MicroRNA; Stem cell

Fund program: National Natural Science Foundation of China (81960024)

DOI: 10.3760/cma.j.cn121430-20200727-00544

急性肺损伤(acute lung injury, ALI)是临床上常见的急危重症,可以发展为急性呼吸窘迫综合征(acute respiratory distress syndrome, ARDS),常见诱因有重症感染、休克、创伤、误吸等,也有胰腺炎、药物损伤、输血等少见病因。目前 ALI 发病机制尚未完全明确,无精确的诊断标准,缺乏精准治疗,病死率较高。ALI 越来越被认为是异质性疾病^[1],不同诱因所致 ALI 相关的胞外囊泡微小 RNA(microRNA, miRNA)来源不同,可能起到不同的调控作用和提示作用^[2-3]。现就不同来源的胞外囊泡 miRNA 在 ALI 中的调控作用机制、早期诊断与鉴别诊断价值进行综述,以期为寻求 ALI 新的治疗方案提供科学指导。

1 胞外囊泡概述

胞外囊泡由磷脂双层膜包绕形成,其中包含各种物质,如蛋白质、脂质、核酸等。胞外囊泡可以分为 3 类:① 外泌体(直径约 40~150 nm):外泌体是晚期核内体/多囊体内产生的内部囊泡,在多囊体与质膜融合后释放到细胞外环境;② 微囊泡(也称为微粒,直径约 0.1~2.0 μm):微囊泡是由

质膜的向外发芽和分裂形成;③ 凋亡小体:凋亡小体是胞外囊泡的最大亚型(直径约 1~4 μm),从凋亡细胞的质膜产生^[4]。尽管它们的起源、组成和释放不同,但是因为大小、形态、内容物等相似,所以目前的一般方法都很难将它们进行有效的分离、鉴定;国际胞外囊泡协会的最新立场声明,建议不要使用“外泌体”和“微泡”一词,因为很难确定胞外囊泡的特定生物发生途径,并建议根据物理特性、生化成分或来源细胞对胞外囊泡进行分类^[5]。功能上,胞外囊泡最初被认为是细胞废物排出的一种方式,但随后研究表明其可以通过转运内容物至受体细胞从而介导生理病理功能^[6-7]。

2 胞外囊泡中 miRNA 的生物学特性

miRNA 是一类非编码单链 RNA,长度接近 21~24 个核苷酸。人类基因组中 miRNA 基因组成占有预测人类基因的 1%~5%,已知哺乳动物 miRNA 可以调节大约 30% 的蛋白质编码基因。miRNA 的形成分为胞核和胞质两部分,在细胞核内 miRNA 在 RNA 聚合酶作用下转录形成 miRNA 的初级转录产物(pri-miRNA),pri-miRNA 在核糖

核酸内切酶 III Droscha 作用下形成约 60~70 个核苷酸的茎环中间体,称为 miRNA 前体(pre-miRNA); pre-miRNA 通过核输出蛋白 5 (exportin-5) 和小 GTP 酶 Ran (Ran-GTP) 的相互作用被转运到细胞质中,通过核糖核酸内切酶 III Dicer 进一步在细胞质中加工形成成熟的 miRNA。miRNA 主要参与转录后调控, miRNA 将 Argonaute (AGO) 蛋白复合物募集到互补的 mRNA 上,导致 mRNA 的翻译抑制、降解或脱腺苷化^[8]。本课题组前期研究已证实, miR-21-5p 可以改善高氧性急性肺损伤 (hyperoxia acute lung injury, HALI), 其机制是通过靶向抑制磷酸酶张力蛋白 (phosphatase and tensin homology deleted on chromosome ten, PTEN) 的表达, 激活磷脂酰肌醇 3- 激酶 / 蛋白激酶 B (phosphatidylinositol 3 kinase/Akt, PI3K/Akt) 信号通路, 发挥拮抗 II 型肺泡上皮细胞凋亡的作用^[9-12]。说明 miRNA 在 ALI 中也能参与重要调控作用。

3 各细胞源性胞外囊泡 miRNA 与 ALI

ALI 以肺泡-毛细血管屏障功能损害, 肺泡、间质水肿, 肺部炎性细胞浸润为主要特点, 一般认为上皮细胞、内皮细胞主要发挥屏障功能, 而巨噬细胞等炎性细胞与肺部炎症进展有关。但近年来研究表明, 这些细胞还可以通过其胞外囊泡 miRNA 广泛参与细胞间的相互调控, 从而调控 ALI^[2-3]。此外, 干细胞在 ALI 治疗中的应用也是近年来研究的热点, 许多研究均证实其胞外囊泡 miRNA 可以通过多种机制改善肺损伤^[13-14]。

3.1 上皮细胞源性胞外囊泡 miRNA: 正常的肺泡是由单层肺泡上皮细胞组成, 包括 I 型和 II 型肺泡上皮细胞, 其中 I 型肺泡上皮细胞构成了大于 95% 的表面积。肺泡上皮细胞是防御肺损伤的第一道防线, 其也可以通过胞外囊泡 miRNA 调节巨噬细胞功能, 从而调控肺损伤。有研究小组发现, 高氧诱导肺损伤模型中, 肺泡灌洗液中的微囊泡主要来源于肺泡上皮细胞, 其可以通过转运 miR-221、miR-320a 协同促进巨噬细胞迁移、募集、炎性因子表达以促使肺部炎症反应^[2]; 研究人员用盐酸吸入诱导 ALI 模型时发现, 肺泡灌洗液中胞外囊泡来源及类型与高氧诱导肺损伤一样, 但高表达的 miRNA (miR-221、miR-17) 不同, 这两种 miRNA 可以通过调节巨噬细胞 $\beta 1$ 整联蛋白再循环促进巨噬细胞向肺内募集, 从而促使肺部炎症进展^[15]; 该研究小组后来进一步证实了上述两种无菌性刺激诱导产生的胞外囊泡主要为 I 型肺泡上皮细胞来源的微囊泡^[16]; 他们在近期的实验中还对正常小鼠肺泡灌洗液中富含 miRNA 的胞外囊泡进行了分离与鉴定, 也得到了与上述同样的结论, 进一步机制研究表明, 这些 I 型肺泡上皮细胞来源的胞外囊泡 miRNA 在应对铜绿假单胞菌诱导产生的肺炎时可通过促使肺泡巨噬细胞炎症小体激活、M1 型极化、中性粒细胞募集而促进肺部炎症反应^[17]。综上所述, I 型肺泡上皮细胞除了发挥屏障功能外, 还可以通过胞外囊泡 miRNA 调控免疫应答和肺损伤。

关于 II 型肺泡上皮细胞胞外囊泡 miRNA 在 ALI 的机

制研究中, 有研究小组发现在肺损伤微环境 (博莱霉素诱导肺损伤、肺炎) 诱导下 II 型肺泡上皮细胞可以产生富含 miR-371b-5p 的外泌体, 其可以通过靶向抑制 PTEN 表达, 激活 PI3K/Akt 信号通路, 促进糖原合酶激酶 3 β (glycogen synthase kinase 3 β , GSK-3 β)、叉头框转录因子 1/3 磷酸化并抑制其转录活性, 从而促进 II 型肺泡上皮细胞的存活、增殖; 随着上皮细胞修复, 胞外囊泡 miRNA 表达逐渐下降^[18]。可以看出, II 型肺泡上皮细胞来源的胞外囊泡 miRNA 可充当肺损伤的信号, 并能因此调节其自身增殖、分化和存活。

3.2 内皮细胞源性胞外囊泡 miRNA: 除上皮细胞外, 内皮细胞屏障功能同样重要, 内皮细胞受损可以导致肺泡及间质炎性水肿、肺泡积血等, 从而进一步加重呼吸衰竭。有研究表明内皮细胞来源的胞外囊泡可参与调节 ALI^[19], 但现阶段关于其内容物 miRNA 调控肺损伤的研究却较少。有研究显示, 未激活的内皮细胞胞外囊泡可以经 miR-10 靶向抑制白细胞介素受体相关激酶 4 (interleukin receptor associated kinase 4, IRAK4)、转化生长因子 β 活化激酶 1 (TGF- β -activated kinase-1, TAK1) 等的表达, 抑制核转录因子- κ B (nuclear factor- κ B, NF- κ B) 信号通路, 抑制单核细胞活化和炎性因子释放; 同时, 这些内皮细胞胞外囊泡还可以抑制内皮细胞激活, 而激活的内皮细胞产生的胞外囊泡抗炎特征减弱^[20]; 激活的内皮细胞产生的胞外囊泡 miR-92a 可以靶向抑制库普弗样因子 4 (Krüppel-like factor 4, KLF4) 表达, 增强巨噬细胞的促炎应答^[21], 其机制与激活 NF- κ B、丝裂素活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinases, MAPK) 信号通路有关^[22]; miR-92a 还可以通过靶向抑制 Akt1 和 PTEN 的表达, 激活 NF- κ B 信号通路, 促进巨噬细胞炎症应答^[23]; 此外, miR-92a 还可以通过靶向抑制整合素 $\alpha 5$ (integrin $\alpha 5$, ITGA5) 表达, 经 PI3K/Akt 信号通路抑制内皮细胞迁移、小管形成, 增加肺微血管通透性, 促进内皮细胞炎性因子释放^[24]; miR-92a 也可以抑制 Akt/哺乳动物雷帕霉素靶蛋白 (mammalian target of rapamycin, mTOR) 信号通路, 促进内皮细胞凋亡、炎性因子产生及抑制内皮细胞迁移, 从而加重肺损伤^[25]。可以看出, 内皮细胞胞外囊泡 miRNA 在维持肺稳态和调节肺损伤中起到调控作用, 有必要进行更多关于肺血管内皮细胞胞外囊泡 miRNA 调控肺损伤的研究。

3.3 吞噬细胞源性胞外囊泡 miRNA: 中性粒细胞、单核/巨噬细胞等吞噬细胞是参与肺固有免疫应答的重要细胞, 其中巨噬细胞为肺泡腔中主要的免疫细胞。除了参与固有免疫应答外, 这些吞噬细胞还可以通过胞外囊泡 miRNA 参与 ALI 的调控。

3.3.1 上皮细胞调控层面: 在脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS) 诱导的脓毒症肺损伤模型中, 支气管肺泡灌洗液中的外泌体 (巨噬细胞、中性粒细胞来源) miR-155 及 miR-146a 表达水平明显上调, 并能促进肺泡上皮产生炎性介质, 抑制紧密连接蛋白表达, 但研究者未对其作用机制做进一步研究^[3]。这表明活化的吞噬细胞经其胞外囊泡 miRNA 破坏上皮细胞屏障, 诱导肺损伤。另一项研究却表明, 巨噬细胞

来源的胞外囊泡 miRNA 也可能具有促进 ALI 修复的作用, 该体外实验将 LPS 分别加到多种巨噬细胞细胞株后均诱导产生了以凋亡小体为主的胞外囊泡, 其中 miR-221、miR-222 明显上调, 这些胞外囊泡 miRNA 可以协同抑制细胞周期依赖性激酶阻滞基因 1B (cyclin-dependent kinase inhibitor 1B, CDKN1B) 表达, 上调细胞周期蛋白 D3 (cyclin D3) 和细胞周期蛋白依赖性激酶 4 (cyclin-dependent kinase 4, Cdk4) 的表达, 从而促进上皮细胞增殖^[26], 但该实验尚且需要动物实验进一步验证。此外, 也有研究表明吞噬细胞胞外囊泡 miRNA 对上皮细胞功能具有积极的调控作用, 病毒感染时巨噬细胞来源的外泌体中 miR-483-3p 可以靶向抑制环指蛋白 5 (ring finger protein 5, RNF5)、CD81 的表达, 激活维甲酸诱导基因 1 (retinoic acid inducible gene 1, RIG-I) 信号通路, 上调干扰素调节因子 3 (interferon regulatory factor 3, IRF3) 和 NF- κ B, 促进肺泡上皮细胞释放 β -干扰素 (interferon- β , IFN- β)、促炎因子等, 从而促进固有免疫应答和增强抗病毒的作用^[27]。在呼吸机相关性肺损伤中, 激活的中性粒细胞产生的微囊泡 miR-223 可通过靶向抑制聚腺苷二磷酸核糖聚合酶-1 (poly ADP-ribose polymerase 1, PARP-1) 的表达而减轻肺泡上皮细胞损伤, 减少细胞死亡, 减少炎症因子释放, 改善肺损伤^[28]。另一项研究证实, miR-223 靶向抑制 PARP-1 表达可以激活 Akt/mTOR 信号通路, 抑制低氧诱导的心肌细胞过度自噬及凋亡^[29], 其改善上皮细胞功能也可能与该机制有关。从上述研究可以看出, 巨噬细胞及中性粒细胞源性胞外囊泡 miRNA 对上皮细胞功能调控表现出差异性以及研究的片面性, 因此, 在吞噬细胞源性胞外囊泡 miRNA 对 ALI 的调控方面还有待更加全面和严谨的研究以对其机制进行探索。

3.3.2 巨噬细胞调控层面: 有研究者发现, 在 LPS 或肺炎链球菌诱导的肺部感染模型中, 支气管肺泡灌洗液、血清中巨噬细胞源性微囊泡 miR-223、miR-142 水平明显增高, 而巨噬细胞内这两种 miRNA 表达水平降低, 机制研究表明其可以分别靶向抑制 NOD 样受体蛋白 3 (NOD-like receptor protein 3, NLRP3) 和凋亡相关斑点样蛋白 (apoptosis related spot like protein, ASC) 的表达而协同抑制巨噬细胞中 NLRP3 炎症小体的激活, 减少炎症因子产生, 从而抑制肺部炎症^[30]。可以看出, 受到感染刺激时巨噬细胞可以通过释放胞外囊泡 miRNA 促进炎症发展, 而特异性抑制该类囊泡 miRNA 产生可能有助于抑制巨噬细胞激活和炎症进展。

3.4 干细胞源性胞外囊泡 miRNA: 干细胞是一类具有自我更新能力的细胞, 特定条件下能够分化成特异的细胞类型, 根据其分化潜能可以分为全能干细胞、多能干细胞、单能干细胞; 祖细胞通常属于单能干细胞, 间充质干细胞属于多能干细胞^[31]。基于近年来干细胞在 ALI 方面的研究, 现只讨论内皮祖细胞和间充质干细胞。

3.4.1 内皮祖细胞: 研究显示, 内皮祖细胞外泌体 miR-126 可以靶向抑制发芽因子相关 EVH1 区域蛋白 1 (sprouty-related EVH1 domain-containing protein 1, SPRED1) 表达,

促进丝裂素活化蛋白激酶激酶激酶、细胞外信号调节激酶 (extracellular signal-regulated kinase, ERK) 磷酸化, 激活 RAF/ERK 信号通路, 从而增强内皮细胞的增殖、迁移和小管形成并改善肺损伤^[13]。内皮祖细胞外泌体 miR-126-5p、miR-126-3p 还可以分别靶向抑制高迁移率族蛋白 B1 (high mobility group box 1, HMGB1)、血管细胞黏附分子-1 (vascular cell adhesion molecule-1, VCAM-1) 表达, 从而改善肺微血管通透性, 减轻炎症反应^[32]。且外泌体 miR-126-5p、miR-126-3p 也可改善上皮细胞功能, 其分别通过抑制 HMGB1 和血管内皮生长因子 α (vascular endothelial growth factor α , VEGF α)、磷脂酰肌醇 3-激酶调节亚基 2 (phosphoinositol-3 kinase regulatory subunit 2, PIK3R2) 表达而改善上皮细胞炎症反应、通透性, 同时还可以增加肺泡上皮细胞紧密连接蛋白的表达^[33]。此外, 有研究证实, miR-126-3p 靶向抑制 PIK3R2 表达, 激活 PI3K/Akt 信号通路, 可减少内皮细胞凋亡、改善血管内皮通透性、维持血管内皮稳定^[34]。以上研究均证实, miR-126 是参与改善血管内皮通透性、维持血管生成及完整性的特异性 miRNA, 并有望成为治疗靶标。

3.4.2 间充质干细胞: 间充质干细胞因其分化潜能、旁分泌功能、取材容易等优点在肺损伤领域被广泛关注, 但因“归巢”到受损肺组织区域的数量很少, 所以旁分泌效应 (旁分泌因子、胞外囊泡等) 越来越被认为是其最主要的作用机制^[35-37]。胞外囊泡通过其内容物 miRNA 发挥调节作用是对其功能机制的进一步解释。有研究显示, 间充质干细胞外泌体 miR-30b-3p 可以靶向抑制血清淀粉样蛋白 A3 (serum amyloid protein A3, SAA3) 表达, 通过抑制 NF- κ B、MAPK 信号通路而促进肺泡上皮细胞增殖、抑制凋亡^[14]。在内皮细胞调控层面, 间充质干细胞外泌体 miR-21-5p 可以靶向抑制 PTEN、程序性细胞死亡蛋白 4 (programmed cell death protein 4, PDCD4) 表达, 抑制内源性及外源性凋亡通路, 从而抑制氧化应激所诱导的内皮细胞凋亡而改善肺损伤^[38]。在吞噬细胞调控层面, miR-21-5p 靶向抑制 PTEN、PDCD4, 同时还能抑制巨噬细胞 M1 型极化^[38]; 间充质干细胞外泌体 miR-27a-3p 可以靶向抑制 NF- κ B 表达, 促进 M2 型巨噬细胞极化改善肺损伤^[39], 但其具体调控机制并不清楚。

间充质干细胞外泌体 miR-124-3p 可以靶向抑制嘌呤受体 P2X 配体门控离子通道 7 (purinergic receptor P2X ligand-gated ion channel 7, P2X7) 的表达, 减轻肺氧化应激损伤和炎症应答^[40]。有关机制研究表明, 氧化应激相关刺激因素可以通过促进巨噬细胞产生三磷酸腺苷 (adenosine triphosphate, ATP) 并激活 P2X7 受体, 促进 K^+ 外流, 激活 NALP3 炎症小体 (NOD 样受体家族成员), 从而促进白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β) 产生、增加 II 型上皮细胞通透性^[41]; 激活巨噬细胞 P2X7 受体可以通过促进 Ca^{2+} 内流, 导致肺泡巨噬细胞死亡并释放 IL-1 α , 从而促进中性粒细胞向肺内聚集及增加肺血管内皮细胞通透性^[42]; 另外, 激活 P2X7 受体还可以通过激活 ERK 信号通路, 激活去整合素金属蛋白酶 17 (disintegrin and metalloprotease 17, ADAM17),

诱导 I 型肺泡上皮细胞 VCAM-1 脱落,从而促进中性粒细胞募集、激活肺泡巨噬细胞^[43];此外, P2X7 受体还与肺泡上皮细胞紧密连接蛋白表达有关^[44]。综上,从近年来有关 P2X7 在 ALI 的研究中可以看出,巨噬细胞、上皮细胞可能是间充质干细胞外泌体 miR-124-3p 的主要调控细胞,抑制 P2X7 表达可能成为 ALI 治疗靶点。

综上,干细胞来源的胞外囊泡 miRNA 可以通过改善屏障功能、抑制吞噬细胞炎症应答、增强抗菌活性等多种方式参与改善肺损伤,其作用机制广泛,外加上述提及的多项分化潜能、取材广泛等优势,其在 ALI 治疗中的应用具有重要研究价值。

4 胞外囊泡 miRNA 在 ALI 中的临床价值

miRNA 在胞外囊泡转运的过程中能够有效避免被降解,并能确保其功能的完整性^[17],所以具有成为检测指标和治疗靶点的相对优势。临床上,外周血、支气管肺泡灌洗液等是常用来检测相关肺部疾病指标的标本,外周血更容易获得。许多研究小组在关于肺损伤模型中均证实,外周血或支气管肺泡灌洗液中可以检测到与肺损伤有关的胞外囊泡 miRNA^[30,45]。有的研究小组通过 ALI 患者外周血胞外囊泡 miRNA 的研究进一步证明了胞外囊泡 miRNA 作为临床检验指标的可行性^[46]。脓毒症患者外周血外泌体中 miR-145 明显降低,可以促进肺泡上皮细胞炎性因子分泌和加重肺损伤^[47];ARDS 患者外周血外泌体中 miR-425 水平降低,可以促进肺损伤后纤维化发生^[48],说明检测外周血胞外囊泡 miRNA 表达能够起到提示 ALI 及其预后的作用,有望成为 ALI 的诊断指标及干预治疗靶点。此外,了解外周血胞外囊泡 miRNA 的来源还有助于鉴别继发性肺损伤或者肺损伤继发的其他器官功能障碍^[49]。

从上述研究还可以看出,非感染性刺激诱导下产生的支气管肺泡灌洗液胞外囊泡 miRNA 主要来自肺泡上皮细胞^[2,15],而感染性刺激诱导产生的胞外囊泡 miRNA 主要来自巨噬细胞^[3,27,30]。其原因可能是:非感染性刺激往往是由物理化学因素直接损伤肺泡上皮细胞;而感染性肺损伤后首先产生释放的胞外囊泡来源于肺泡巨噬细胞,其次是上皮细胞,最后是中性粒细胞^[50]。因此,早期鉴别灌洗液中胞外囊泡 miRNA 的主要细胞来源可以用于鉴别感染性与非感染性肺损伤。

5 小结

现阶段关于胞外囊泡 miRNA 在 ALI 中的相关研究提示,在不同刺激因素诱发的肺损伤中,胞外囊泡的细胞来源、类型、miRNA 谱不同,具有诊断、鉴别不同诱因所致 ALI 的临床价值,但其特异性仍有待研究。胞外囊泡几乎可以在所有体液中检测到,相较于血液样本而言,支气管肺泡灌洗液更难获取,因此,检测痰液中的胞外囊泡 miRNA 作为诊断、鉴别指标可能会是未来的研究方向。不同来源的胞外囊泡 miRNA 以不同的机制参与调节肺泡上皮细胞、内皮细胞及固有免疫细胞功能等,从而加重或者减轻 ALI,增进了我们对 ALI 机制的进一步认识。这些细胞间通过胞外囊泡

miRNA 参与相互调控形成了复杂的调控网络,对维持肺稳态、调节肺损伤起到重要作用,各种相互调节之间是否存在平衡点,其具体机制仍值得进一步研究。近年来随着干细胞在 ALI 中的研究进展,其旁分泌效应备受关注,干细胞胞外囊泡 miRNA 可以通过不同机制改善肺损伤是对其旁分泌效应在 ALI 中的进一步解释,并可能成为 ALI 新治疗方案的研究热点。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Cardinal-Fernández P, Lorente JA, Ballén-Barragán A, et al. Acute respiratory distress syndrome and diffuse alveolar damage. New insights on a complex relationship [J]. Ann Am Thorac Soc, 2017, 14 (6): 844–850. DOI: 10.1513/AnnalsATS.201609-728PS.
- [2] Lee H, Zhang D, Zhu Z, et al. Epithelial cell-derived microvesicles activate macrophages and promote inflammation via microvesicle-containing microRNAs [J]. Sci Rep, 2016, 6: 35250. DOI: 10.1038/srep35250.
- [3] Yuan Z, Bedi B, Sadikot RT. Bronchoalveolar lavage exosomes in lipopolysaccharide-induced septic lung injury [J]. J Vis Exp, 2018 (135): 57737. DOI: 10.3791/57737.
- [4] van Niel G, D'Angelo G, Raposo G. Shedding light on the cell biology of extracellular vesicles [J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2018, 19 (4): 213–228. DOI: 10.1038/nrm.2017.125.
- [5] Théry C, Witwer KW, Aikawa E, et al. Minimal information for studies of extracellular vesicles 2018 (MISEV2018): a position statement of the International Society for Extracellular Vesicles and update of the MISEV2014 guidelines [J]. J Extracell Vesicles, 2018, 7 (1): 1535750. DOI: 10.1080/20013078.2018.1535750.
- [6] Moon HG, Cao Y, Yang J, et al. Lung epithelial cell-derived extracellular vesicles activate macrophage-mediated inflammatory responses via ROCK1 pathway [J]. Cell Death Dis, 2015, 6 (12): e2106. DOI: 10.1038/cddis.2015.282.
- [7] Kerr NA, de Rivero Vaccari JP, Abbassi S, et al. Traumatic brain injury-induced acute lung injury: evidence for activation and inhibition of a neural-respiratory-inflammation axis [J]. J Neurotrauma, 2018, 35 (17): 2067–2076. DOI: 10.1089/neu.2017.5430.
- [8] Vishnoi A, Rani S. MiRNA biogenesis and regulation of diseases: an overview [J]. Methods Mol Biol, 2017, 1509: 1–10. DOI: 10.1007/978-1-4939-6524-3_1.
- [9] 刘国跃,陈森,戢慧,等.微小 RNA-21-5p 对大鼠高氧性急性肺损伤的影响 [J]. 中国中西医结合急救杂志, 2015, 22 (1): 23–27. DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2015.01.11.
- [10] 覃松,陈森,戢慧,等.微小 RNA-21-5p 拮抗 II 型肺泡上皮细胞凋亡的分子机制 [J]. 中华危重病急救医学, 2015, 27 (7): 574–578. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2015.07.007.
- [11] 石磊,何英,白冰,等.微小 RNA-21 抑制剂对高氧性急性肺损伤大鼠 II 型肺泡上皮细胞凋亡的影响 [J]. 中华危重病急救医学, 2017, 29 (3): 244–248. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2017.03.010.
- [12] Shi L, He Y, Bai B, et al. Effects of microRNA-21 inhibitor on apoptosis of type II alveolar epithelial cells in rats with hyperoxia-induced acute lung injury [J]. Chin Crit Care Med, 2017, 29 (3): 244–248. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2017.03.010.
- [13] Qin S, Wang H, Liu G, et al. MiR-21-5p ameliorates hyperoxic acute lung injury and decreases apoptosis of AEC II cells via PTEN/AKT signaling in rats [J]. Mol Med Rep, 2019, 20 (6): 4953–4962. DOI: 10.3892/mmr.2019.10779.
- [14] Wu X, Liu Z, Hu L, et al. Exosomes derived from endothelial progenitor cells ameliorate acute lung injury by transferring miR-126 [J]. Exp Cell Res, 2018, 370 (1): 13–23. DOI: 10.1016/j.yexcr.2018.06.003.
- [15] 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 [J]. *Exp Cell Res*, 2019, 383 (2): 111454. DOI: 10.1016/j.yexcr.2019.05.035.
- [15] Lee H, Zhang D, Wu J, et al. Lung epithelial cell-derived microvesicles regulate macrophage migration via microRNA-17/221-induced integrin β 1 recycling [J]. *J Immunol*, 2017, 199 (4): 1453-1464. DOI: 10.4049/jimmunol.1700165.
- [16] Lee H, Zhang D, Laskin DL, et al. Functional evidence of pulmonary extracellular vesicles in infectious and noninfectious lung inflammation [J]. *J Immunol*, 2018, 201 (5): 1500-1509. DOI: 10.4049/jimmunol.1800264.
- [17] Lee H, Groot M, Pinilla-Vera M, et al. Identification of miRNA-rich vesicles in bronchoalveolar lavage fluid: insights into the function and heterogeneity of extracellular vesicles [J]. *J Control Release*, 2019, 294: 43-52. DOI: 10.1016/j.jconrel.2018.12.008.
- [18] Quan Y, Wang Z, Gong L, et al. Exosome miR-371b-5p promotes proliferation of lung alveolar progenitor type II cells by using PTEN to orchestrate the PI3K/Akt signaling [J]. *Stem Cell Res Ther*, 2017, 8 (1): 138. DOI: 10.1186/s13287-017-0586-2.
- [19] Letsiou E, Sammani S, Zhang W, et al. Pathologic mechanical stress and endotoxin exposure increases lung endothelial microparticle shedding [J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2015, 52 (2): 193-204. DOI: 10.1165/rcmb.2013-03470C.
- [20] Njock MS, Cheng HS, Dang LT, et al. Endothelial cells suppress monocyte activation through secretion of extracellular vesicles containing antiinflammatory microRNAs [J]. *Blood*, 2015, 125 (20): 3202-3212. DOI: 10.1182/blood-2014-11-611046.
- [21] Chang YJ, Li YS, Wu CC, et al. Extracellular microRNA-92a mediates endothelial cell-macrophage communication [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2019, 39 (12): 2492-2504. DOI: 10.1161/ATVBAHA.119.312707.
- [22] Fan L, Li M, Cao FY, et al. Astragalus polysaccharide ameliorates lipopolysaccharide-induced cell injury in ATDC5 cells via miR-92a/KLF4 mediation [J]. *Biomed Pharmacother*, 2019, 118: 109180. DOI: 10.1016/j.biopha.2019.109180.
- [23] Fu L, Zhu P, Qi S, et al. MicroRNA-92a antagonism attenuates lipopolysaccharide (LPS)-induced pulmonary inflammation and injury in mice through suppressing the PTEN/AKT/NF- κ B signaling pathway [J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 107: 703-711. DOI: 10.1016/j.biopha.2018.08.040.
- [24] Xu F, Zhou F. Inhibition of microRNA-92a ameliorates lipopolysaccharide-induced endothelial barrier dysfunction by targeting ITGA5 through the PI3K/Akt signaling pathway in human pulmonary microvascular endothelial cells [J]. *Int Immunopharmacol*, 2020, 78: 106060. DOI: 10.1016/j.intimp.2019.106060.
- [25] Xu F, Yuan J, Tian S, et al. MicroRNA-92a serves as a risk factor in sepsis-induced ARDS and regulates apoptosis and cell migration in lipopolysaccharide-induced HPMEC and A549 cell injury [J]. *Life Sci*, 2020, 256: 117957. DOI: 10.1016/j.lfs.2020.117957.
- [26] Zhu Z, Zhang D, Lee H, et al. Macrophage-derived apoptotic bodies promote the proliferation of the recipient cells via shuttling microRNA-221/222 [J]. *J Leukoc Biol*, 2017, 101 (6): 1349-1359. DOI: 10.1189/jlb.3A1116-483R.
- [27] Maemura T, Fukuyama S, Sugita Y, et al. Lung-derived exosomal miR-483-3p regulates the innate immune response to influenza virus infection [J]. *J Infect Dis*, 2018, 217 (9): 1372-1382. DOI: 10.1093/infdis/jiy035.
- [28] Neudecker V, Brodsky KS, Clambey ET, et al. Neutrophil transfer of miR-223 to lung epithelial cells dampens acute lung injury in mice [J]. *Sci Transl Med*, 2017, 9 (408): eaah5360. DOI: 10.1126/scitranslmed.aah5360.
- [29] Liu X, Deng Y, Xu Y, et al. MicroRNA-223 protects neonatal rat cardiomyocytes and H9c2 cells from hypoxia-induced apoptosis and excessive autophagy via the Akt/mTOR pathway by targeting PARP-1 [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2018, 118: 133-146. DOI: 10.1016/j.yjmcc.2018.03.018.
- [30] Zhang D, Lee H, Wang X, et al. A potential role of microvesicle-containing miR-223/142 in lung inflammation [J]. *Thorax*, 2019, 74 (9): 865-874. DOI: 10.1136/thoraxjnl-2018-212994.
- [31] Dulak J, Szade K, Szade A, et al. Adult stem cells: hopes and hypes of regenerative medicine [J]. *Acta Biochim Pol*, 2015, 62 (3): 329-337. DOI: 10.18388/abp.2015_1023.
- [32] Zhou Y, Li P, Goodwin AJ, et al. Exosomes from endothelial progenitor cells improve the outcome of a murine model of sepsis [J]. *Mol Ther*, 2018, 26 (5): 1375-1384. DOI: 10.1016/j.ythte.2018.02.020.
- [33] Zhou Y, Li P, Goodwin AJ, et al. Exosomes from endothelial progenitor cells improve outcomes of the lipopolysaccharide-induced acute lung injury [J]. *Crit Care*, 2019, 23 (1): 44. DOI: 10.1186/s13054-019-2339-3.
- [34] Xi T, Jin F, Zhu Y, et al. MicroRNA-126-3p attenuates blood-brain barrier disruption, cerebral edema and neuronal injury following intracerebral hemorrhage by regulating PIK3R2 and Akt [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2017, 494 (1-2): 144-151. DOI: 10.1016/j.bbrc.2017.10.064.
- [35] Potter DR, Miyazawa BY, Gibb SL, et al. Mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles attenuate pulmonary vascular permeability and lung injury induced by hemorrhagic shock and trauma [J]. *J Trauma Acute Care Surg*, 2018, 84 (2): 245-256. DOI: 10.1097/TA.0000000000001744.
- [36] 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. DOI: 10.13507/j.issn.1674-3474.2017.07.002.
- Yang Y, Zhu YB, Li ZQ, et al. Effect of human umbilical cord mesenchymal stem cell-derived exosomes on endotoxin induced acute lung injury in rats [J]. *J Chin Pract Diagn Ther*, 2017, 31 (7): 628-631. DOI: 10.13507/j.issn.1674-3474.2017.07.002.
- [37] 刘芬, 李勇, 彭菲菲, 等. iPSC-MSC 来源的外泌体对 LPS 刺激肺泡巨噬细胞产生炎症因子的影响 [J]. *实验与检验医学*, 2016, 34 (1): 4-7. DOI: 10.3969/j.issn.1674-1129.2016.01.002.
- Liu F, Li Y, Peng FF, et al. The effect of exosomes derived from iPSC-MSC on secretion of inflammation factor from LPS treated alveolar macrophage [J]. *Exp Lab Med*, 2016, 34 (1): 4-7. DOI: 10.3969/j.issn.1674-1129.2016.01.002.
- [38] Li JW, Wei L, Han Z, et al. Mesenchymal stromal cells-derived exosomes alleviate ischemia/reperfusion injury in mouse lung by transporting anti-apoptotic miR-21-5p [J]. *Eur J Pharmacol*, 2019, 852: 68-76. DOI: 10.1016/j.ejphar.2019.01.022.
- [39] Wang J, Huang R, Xu Q, et al. Mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles alleviate acute lung injury via transfer of miR-27a-3p [J]. *Crit Care Med*, 2020, 48 (7): e599-e610. DOI: 10.1097/CCM.0000000000004315.
- [40] Li QC, Liang Y, Su ZB. Prophylactic treatment with MSC-derived exosomes attenuates traumatic acute lung injury in rats [J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2019, 316 (6): L1107-L1117. DOI: 10.1152/ajplung.00391.2018.
- [41] Zhang L, Xu C, Chen X, et al. SOCS-1 suppresses inflammation through inhibition of NALP3 inflammasome formation in smoke inhalation-induced acute lung injury [J]. *Inflammation*, 2018, 41 (4): 1557-1567. DOI: 10.1007/s10753-018-0802-y.
- [42] Dagvadorj J, Shimada K, Chen S, et al. Lipopolysaccharide induces alveolar macrophage necrosis via CD14 and the P2X7 receptor leading to interleukin-1 α release [J]. *Immunity*, 2015, 42 (4): 640-653. DOI: 10.1016/j.immuni.2015.03.007.
- [43] Mishra A, Guo Y, Zhang L, et al. A critical role for P2X7 receptor-induced VCAM-1 shedding and neutrophil infiltration during acute lung injury [J]. *J Immunol*, 2016, 197 (7): 2828-2837. DOI: 10.4049/jimmunol.1501041.
- [44] Wesslau KP, Stein A, Kasper M, et al. P2X7 receptor indirectly regulates the JAM-A protein content via modulation of GSK-3 β [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20 (9): 2289. DOI: 10.3390/ijms20092289.
- [45] Jiang K, Yang J, Guo S, et al. Peripheral circulating exosome-mediated delivery of miR-155 as a novel mechanism for acute lung inflammation [J]. *Mol Ther*, 2019, 27 (10): 1758-1771. DOI: 10.1016/j.ythte.2019.07.003.
- [46] Gunasekaran M, Xu Z, Nayak DK, et al. Donor-derived exosomes with lung self-antigens in human lung allograft rejection [J]. *Am J Transplant*, 2017, 17 (2): 474-484. DOI: 10.1111/ajt.13915.
- [47] Cao X, Zhang C, Zhang X, et al. MiR-145 negatively regulates TGF β 2 signaling responsible for sepsis-induced acute lung injury [J]. *Biomed Pharmacother*, 2019, 111: 852-858. DOI: 10.1016/j.biopha.2018.12.138.
- [48] Wang L, Liu J, Xie W, et al. miR-425 reduction causes aberrant proliferation and collagen synthesis through modulating TGF- β /Smad signaling in acute respiratory distress syndrome [J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2019, 12 (7): 2604-2612.
- [49] Kojima M, Gimenes-Junior JA, Chan TW, et al. Exosomes in postshock mesenteric lymph are key mediators of acute lung injury triggering the macrophage activation via Toll-like receptor 4 [J]. *FASEB J*, 2018, 32 (1): 97-110. DOI: 10.1096/fj.201700488R.
- [50] Soni S, Wilson MR, O'Dea KP, et al. Alveolar macrophage-derived microvesicles mediate acute lung injury [J]. *Thorax*, 2016, 71 (11): 1020-1029. DOI: 10.1136/thoraxjnl-2015-208032.