

心肌梗死后心脏修复中细胞外囊泡的应用及作用

岳霏霏¹, 宋煜¹, 王晓蓓², 王琳^{1,2}

<https://doi.org/10.12307/2022.978>

投稿日期: 2021-12-31

采用日期: 2022-02-16

修回日期: 2022-03-14

在线日期: 2022-04-25

中图分类号:

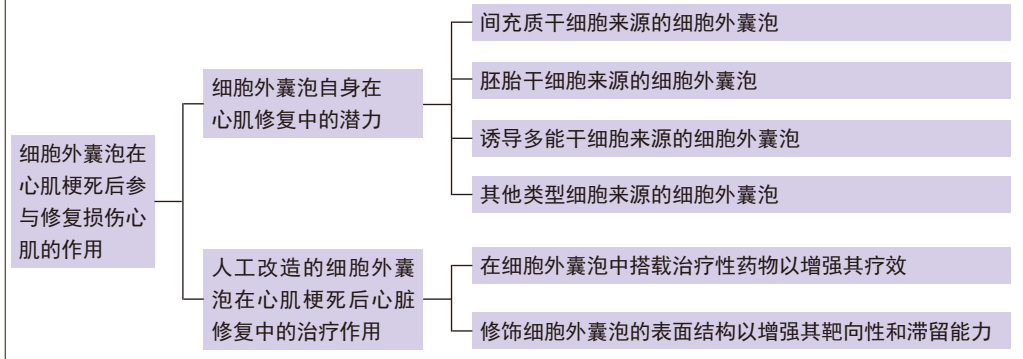
R459.9; R318.5; R542.2+2

文章编号:

2095-4344(2023)10-01610-08

文献标识码: A

文章快速阅读: 综述细胞外囊泡治疗心肌梗死相关研究的进展, 分析细胞外囊泡的临床应用前景



文题释义:

细胞外囊泡: 一种由各种类型细胞自然释放到细胞外环境的有脂质双分子层包裹的纳米级结构囊泡。

心肌梗死: 冠状动脉急性、持续性缺血缺氧所引起的心肌坏死。

摘要

背景: 随着研究的进展, 越来越多的证据表明间充质干细胞主要通过旁分泌机制来发挥治疗作用, 细胞外囊泡是细胞的重要旁分泌成分, 其在心血管领域引起了众多科研人员的关注。

目的: 综述细胞外囊泡治疗心肌梗死相关研究的进展, 分析细胞外囊泡的临床应用前景。

方法: 应用计算机检索中国知网和PubMed数据库收录的相关文献。中文检索词为“细胞外囊泡, 心肌梗死, 心脏修复”, 英文检索词为“extracellular vesicles, mesenchymal stem cell, embryonic stem cell, induced pluripotent stem cell, cardiomyocyte, target, myocardial infarction, cardiac repair”。检索文献时限为2016–2021年, 最终纳入70篇文献进行综述分析。

结果与结论: ①目前, 已有不少研究成功地使用细胞外囊泡治疗心肌梗死并获得了可观的疗效, 例如间充质干细胞来源细胞外囊泡和某些分化成熟的细胞来源细胞外囊泡都能通过抑制缺氧心肌细胞凋亡、促进梗死边缘区血管生成、抑制炎症发生发展或减少心肌纤维化的方式来帮助梗死心肌恢复正常生理结构和功能。②已经明确细胞外囊泡携带的一些内容物在心肌梗死治疗中的作用机制, 其中有不少miRNA在促进心肌修复的一些关键信号通路中发挥了重要作用, 例如miR-21, miR-486-5p, miR-144等。因此, 更多的研究不再局限于使用天然来源的细胞外囊泡, 而是进一步在细胞外囊泡中装载具有治疗效果的药物或对细胞外囊泡的膜成分进行修饰, 从而提升它的心肌靶向能力及修复潜力。

关键词: 微小核糖核酸; 细胞外囊泡; 心肌梗死; 心肌修复; 综述

Application and effect of extracellular vesicles in cardiac repair after myocardial infarction

Yue Feifei¹, Song Yu¹, Wang Xiaobei², Wang Lin^{1,2}

¹Research Center of Tissue Engineering and Regenerative Medicine, ²Department of Laboratory Medicine, Union Hospital Affiliated to Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430022, Hubei Province, China

Yue Feifei, Master candidate, Research Center of Tissue Engineering and Regenerative Medicine, Union Hospital Affiliated to Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430022, Hubei Province, China

Corresponding author: Wang Xiaobei, MD, Associate chief physician, Department of Laboratory Medicine, Union Hospital Affiliated to Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430022, Hubei Province, China

Co-corresponding author: Wang Lin, MD, Professor, Research Center of Tissue Engineering and Regenerative Medicine, and Department of Laboratory Medicine, Union Hospital Affiliated to Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430022, Hubei Province, China

Abstract

BACKGROUND: As the research progresses, the increasing evidence has shown that mesenchymal stem cells mainly exert their therapeutic effects through paracrine mechanisms, and extracellular vesicles are an important paracrine component of cells. Therefore, extracellular vesicles have attracted considerable interest, especially in the cardiovascular field.

OBJECTIVE: To review the progress in the treatment of myocardial infarction with extracellular vesicles and explore the clinical application prospects of extracellular vesicles.

华中科技大学同济医学院附属协和医院, ¹组织工程与再生医学研究中心, ²检验科, 湖北省武汉市 430022

第一作者: 岳霏霏, 女, 1997年生, 湖北省武汉市人, 汉族, 华中科技大学在读硕士, 主要从事心肌梗死后心脏再生修复相关研究。

通讯作者: 王晓蓓, 博士, 副主任医师, 华中科技大学同济医学院附属协和医院检验科, 湖北省武汉市 430022

共同通讯作者: 王琳, 博士, 教授, 华中科技大学同济医学院附属协和医院组织工程与再生医学研究中心, 检验科, 湖北省武汉市 430022

<https://orcid.org/0000-0001-6765-0954> (岳霏霏)

引用本文: 岳霏霏, 宋煜, 王晓蓓, 王琳. 心肌梗死后心脏修复中细胞外囊泡的应用及作用 [J]. 中国组织工程研究, 2023, 27(10):1610-1617.



METHODS: The relevant articles were searched from CNKI and PubMed databases by computer. The search terms were “extracellular vesicles, myocardial infarction, cardiac repair” in Chinese and “extracellular vesicles, mesenchymal stem cell, embryonic stem cell, induced pluripotent stem cell, cardiomyocyte, target, myocardial infarction, cardiac repair” in English. The time was limited from 2016 to 2021. Finally, 70 articles were included for this review.

RESULTS AND CONCLUSION: (1) At present, many studies have successfully used extracellular vesicles to treat myocardial infarction and obtained considerable efficacy. Stem cells, such as mesenchymal stem cells, and some differentiated cell-derived extracellular vesicles can help the infarcted heart maintain normal physiological structure and function by inhibiting apoptosis of hypoxic cardiomyocytes, promoting angiogenesis in the infarct border zone, inhibiting the inflammation or reducing the fibrosis. (2) The mechanism of some cargoes carried by extracellular vesicles for the repair of myocardial infarction has been clarified, of which many microribonucleic acids play important roles in some pivotal cardiac repair signaling pathways, such as miR-21, miR-486-5p, and miR-144. Therefore, more studies are no longer limited to the application of naturally derived extracellular vesicles, but further load therapeutic drugs in extracellular vesicles or modify the membrane components of extracellular vesicles, thereby improving their myocardium targeting ability and cardiac repair potential.

Key words: microribonucleic acid; extracellular vesicle; myocardial infarction; cardiac repair; review

How to cite this article: YUE FF, SONG Y, WANG XB, WANG L. Application and effect of extracellular vesicles in cardiac repair after myocardial infarction. *Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu*. 2023;27(10):1610-1617.

0 引言 Introduction

缺血性心脏病是造成人类死亡的重要疾病之一，其中心肌梗死是缺血性心脏病的主要形式，心肌梗死所造成的死亡人数比例在发达国家中达到了1/3以上^[1]。由于成年人心肌细胞自我更新能力非常有限（在成年人体内心肌细胞每天的自我更新率仅0.002%），心肌梗死发生后，被破坏的心肌组织最终会被无收缩能力的瘢痕组织替代，心肌梗死患者仍会面临不可逆的心功能损失。近年来，广泛开展细胞移植用于心肌再生修复的相关研究，例如胚胎干细胞、间充质干细胞和诱导多能干细胞等，但这些细胞在移植后不仅存活率低，而且胚胎干细胞还有引起畸胎瘤的可能。研究发现，移植细胞所产生的治疗效果很大程度上来源于它们的旁分泌作用，并不是细胞本身分化成为了心肌细胞。因此，越来越多心肌修复相关研究开始把目光转向细胞外囊泡，该文章主要介绍基于细胞外囊泡的治疗方法在心肌梗死后心脏修复中的潜力，并在此基础上总结了目前相关研究存在的问题和细胞外囊泡应用于临床存在的阻碍，提出了新的研究方向。

1 资料和方法 Data and methods

1.1 资料来源

1.1.1 检索人及检索时间 第一作者在2021年10月进行检索。

1.1.2 检索文献时限 查阅2016–2021年期间收录的细胞外囊泡应用于心肌梗死后心脏修复的相关文章。

1.1.3 检索数据库 中国知网和PubMed数据库。

1.1.4 检索词与检索策略 中文检索词为“细胞外囊泡，心肌梗死，心脏修复”，英文检索词为“extracellular vesicles, mesenchymal stem cell, embryonic stem cell, induced pluripotent stem cell, cardiomyocyte, target, myocardial infarction, cardiac repair”。PubMed数据库检索策略见图1。

```
#1 extracellular vesicles [Title/Abstract]
#2 myocardial infarction [Title/Abstract]
#3 cardiac repair [Title/Abstract]
#4 #1 AND #2
#5 #1 AND #2 AND #3
#6 mesenchymal stem cell [Title/Abstract]
#7 embryonic stem cell [Title/Abstract]
#8 induced pluripotent stem cell [Title/Abstract]
#9 #1 AND #3 AND (#6 OR #7 OR #8)
#10 cardiomyocyte [Title/Abstract]
#11 target [Title/Abstract]
#12 #1 AND #10 AND #11
```

图1 | PubMed数据库检索策略

1.1.5 检索文献类型 综述、临床研究以及基础研究。

1.1.6 检索文献量 初检573篇文章。

1.2 入选标准 ①细胞外囊泡作为治疗心肌梗死的主要药物或药物载体的实验性或基础研究；②同一领域论点、论据可靠的综述。

1.3 排除标准 ①Meta分析类文献；②重复性研究的文献；③与心肌梗死或细胞外囊泡研究无关的文献。

1.4 数据的提取 研究内容由作者独立提取并筛选，重点记录细胞外囊泡在心肌修复中起到的治疗作用。

1.5 质量评估 计算机初检得到573篇文章，首先阅读文题和摘要初步筛选出部分文献，再阅读全文排除与该综述主题不相关的文献，根据标准最后纳入70篇文章进行综述分析，见图2。

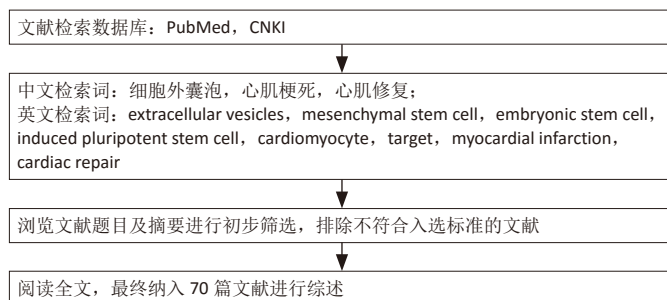


图2 | 文献检索流程图

2 结果 Results

2.1 细胞外囊泡的主要功能 细胞外囊泡是一种由各种类型细胞自然释放到细胞外环境的有脂质双分子层包裹的纳米级结构^[2]。在传统意义上，根据细胞外囊泡的大小可以进一步将其分为3类：①外泌体，直径50–100 nm，由多泡体胞吐形成；②微囊泡，直径100–1 000 nm，由质膜出芽形成；③凋亡小体，直径1–5 μm，细胞死亡时释放^[3]。目前尚未对特定细胞外囊泡亚型的标记达成共识，因此国际细胞外囊泡学会 (International Society for Extracellular Vesicles, ISEV) 鼓励作者在文章中更具体地定义细胞外囊泡，例如大小尺寸、细胞来源、产生途径或生化成分 (CD63⁺/CD81⁺ 等)，避免直接使用外泌体和微囊泡这些术语^[2]。

细胞外囊泡中可储存亲代细胞的脂质、蛋白质、核酸，这些内容物的含量和种类在不同的细胞和环境中有很大区别，特殊的成分可以直接影响细胞外囊泡的行为和功能。细胞外囊泡介导不同细胞之间的通讯，它们可以通过受体介导的内吞作用、网格蛋白的相互作用、脂筏相互作用、吞噬作用以及巨胞饮内化进入细胞，并最终被溶酶体降解，释放内容物，除此之外细胞外囊泡也可以直接与靶细胞的细胞膜融合释放内容物^[4]，见图3。细胞外囊泡表面富集的蛋白种类可以帮助其靶向不同类型的细胞，例如癌细胞释放的细胞外囊泡表面富含整合素α6β4

和 $\alpha\text{v}\beta 5$ ，能够分别靶向肺成纤维细胞和库普弗细胞^[5]；细胞外囊泡的脂质成分也会影响其对受体细胞的靶向，例如肿瘤细胞的细胞外囊泡通常富含磷脂酰丝氨酸，可以被巨噬细胞识别并清除^[5]。

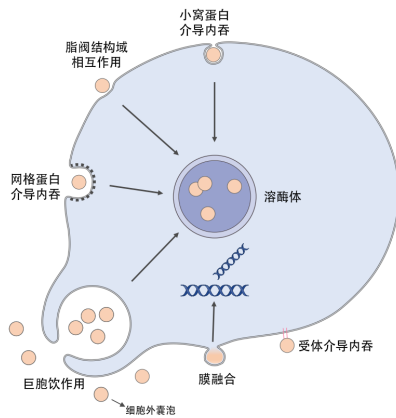


图3 | 细胞外囊泡进入细胞的途径

人体各种类型的细胞都能产生细胞外囊泡，心脏组织的细胞也不例外，这些细胞外囊泡中所含有的一些关键蛋白质和RNA，在心肌梗死的发生和发展中发挥重要作用。例如，缺氧可以触发心肌细胞来源细胞外囊泡中肿瘤坏死因子 α 的包装，刺激炎症反应^[6]。除了蛋白质外，细胞外囊泡中的多种miRNA与心肌梗死的发展密切相关，例如心肌损伤引起巨噬细胞激活，导致巨噬细胞来源细胞外囊泡中miR-155的富集，其靶向心脏成纤维细胞导致纤维化和炎症的发生^[7]。

这些基于细胞外囊泡的胞间通讯都是治疗心肌梗死的潜在靶点——限制不利于心肌修复的细胞外囊泡产生作用，发挥细胞外囊泡在促进血管生成、抑制炎症反应和纤维化中的益处。目前已有不少利用细胞外囊泡促进心肌修复的研究，治疗思路主要有2种：①直接使用从细胞获得的细胞外囊泡，例如间充质干细胞、胚胎干细胞、诱导多能干细胞等干细胞来源细胞外囊泡或分化成熟的细胞来源细胞外囊泡；②使用改造的细胞外囊泡，人工对细胞外囊泡进行货物装载或修饰以达到靶向心脏组织和促进心肌修复的目的。

2.2 细胞外囊泡自身用于心肌修复的潜力

○ 干细胞来源细胞外囊泡在心肌梗死治疗中的作用

- 间充质干细胞来源的细胞外囊泡
- 诱导多能干细胞来源的细胞外囊泡
- 胚胎干细胞来源的细胞外囊泡
- 其他类型细胞来源的细胞外囊泡

2.2.1 干细胞来源细胞外囊泡在心肌梗死治疗中的作用

(1) 间充质干细胞来源的细胞外囊泡：间充质干细胞一直以来都是心肌梗死后细胞治疗的常用选择，但有研究发现间充质干细胞移植进入心肌梗死区域后存活率很低，这说明间充质干细胞的治疗作用可能不是因为分化成心肌细胞^[8]。2010年就有研究证实间充质干细胞分泌的细胞外囊泡(半径55-65 nm, 表达CD81, CD9和ALIX细胞外囊泡相关蛋白)是减少小鼠心肌缺血再灌注损伤后梗死面积的重要因素^[9]。随后，研究者探究了间充质干细胞来源细胞外囊泡修复心肌组织的机制，发现间充质干细胞来源细胞外囊泡可以有效减少心肌细胞凋亡，提高腺嘌呤核苷三磷酸和还原型辅酶I水平，减少氧化应激，从而促进梗死后心功能的恢复^[10]。间充质干细胞来源细

胞外囊泡也可以激活磷脂酰肌醇3激酶/蛋白激酶B(phosphatidylinositol-3-kinase/protein kinase B, PI3K/Akt)信号通路，以及抑制c-Jun氨基末端激酶(c-Jun N-terminal kinase, c-JNK)来减少受损心肌细胞的凋亡^[11]。除此之外，更多进一步的研究发现间充质干细胞来源细胞外囊泡中装载的一些miRNA可以抑制心肌细胞凋亡，WEN等^[12]发现间充质干细胞来源细胞外囊泡中的miR-144可以抑制促凋亡蛋白磷酸酶与张力蛋白同源物的表达，从而激活PI3K/AKT信号通路，抑制缺血心肌细胞的凋亡。间充质干细胞来源细胞外囊泡中还含有miR-21和miR-486-5p，它们也通过调节PI3K/AKT信号通路来减少缺氧心肌细胞的凋亡^[10]。另一项研究发现间充质干细胞来源细胞外囊泡中的miR-25-3p可以靶向促凋亡基因FASL和PTEN，降低它们的蛋白水平，使心肌细胞得以存活^[13]。

间充质干细胞来源细胞外囊泡不仅可以抑制缺氧心肌细胞的凋亡，还能够通过诱导心肌梗死后的血管生成和发挥抗炎作用从而促进心功能的恢复。TENG等^[14]发现间充质干细胞来源细胞外囊泡治疗后，梗死区域新生毛细血管明显增多；XU等^[15]发现使用间充质干细胞来源细胞外囊泡处理心肌细胞可以提高乳鼠心肌细胞中血管内皮生长因子、碱性成纤维细胞生长因子和肝细胞生长因子的表达水平，这可能与促心肌梗死区域血管生成相关。此外，心肌梗死引起的慢性炎症反应不利于心肌组织的愈合或修复，反而会扩大心肌损伤。在心肌梗死后的炎症期，中性粒细胞被损伤相关分子模式、趋化因子等募集到梗死区域，并释放蛋白水解酶和活性氧损伤心肌细胞，在受损心肌细胞被清除后，单核细胞、调节性T细胞和M2型巨噬细胞参与进来抑制炎症反应，并通过促进血管生成和减少胶原沉积来帮助心脏修复^[16-17]。已有研究证实，使用间充质干细胞来源细胞外囊泡治疗心肌梗死后，梗死区域炎性细胞浸润明显减少^[14, 18]，且能促进巨噬细胞由M1型向M2型转化，使抗炎细胞因子白细胞介素10水平明显上升，这种巨噬细胞的极化与间充质干细胞来源细胞外囊泡中含有的miR-182有关，miR-182通过靶向Toll样受体4(toll like receptor 4, TLR4)/核因子 κB (nuclear factor kappa-B, NF- κB)/PI3K/Akt信号级联介导巨噬细胞转化为M2型^[18]。M2型巨噬细胞与组织纤维化有关，心肌梗死后的心脏纤维化反应在减少心室壁破裂中发挥重要作用，也是预防随后心力衰竭的关键，M2型巨噬细胞分泌的白细胞介素10减少会导致组织重塑不利和更严重的心脏纤维化^[19]。另一项研究发现，间充质干细胞来源细胞外囊泡中富集的miR-4732-3p可以抑制成纤维细胞分化为肌成纤维细胞，防止肌成纤维细胞产生过多含胶原蛋白的细胞外基质，从而减少心肌梗死区域的纤维化。除此之外，miR-4732-3p还可以通过促进缺氧损伤后新生大鼠心肌细胞表达间隙连接蛋白43(connexin 43)来维持心肌细胞的收缩能力^[20]。

上述研究都使用了正常培养的间充质干细胞来源细胞外囊泡，但还有一些研究通过对间充质干细胞进行缺氧处理，获得含有促进心肌修复的蛋白或核酸的细胞外囊泡。SUN等^[21]发现缺氧条件下的间充质干细胞表达长链非编码RNA(long noncoding RNA, LncRNA)UCA1，其分泌含有LncRNA UCA1的细胞外囊泡能够靶向miR-873-5p，减少miR-873-5p对X-连锁凋亡抑制蛋白(X-linked inhibitor of apoptosis protein, XIAP)的抑制，从而减少缺氧心肌细胞的凋亡。在另一项研究中，JUNG等^[22]在低氧环境下培养人诱导多能干细胞分化而来的心肌细胞(human-induced pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes, iCMs)，获得了高表达miR-106a-363的细胞外囊泡，其可以抑制Notch3的表达，刺激心肌细胞进入细胞周期，诱导心肌细胞增殖，有助于改善心肌梗死后的心功能。

综上，间充质干细胞来源细胞外囊泡不仅可以减少心肌细胞的凋亡，还能帮助促进血管生成，调节免疫反应，促进随后的心肌修复。

(2) 胚胎干细胞来源的细胞外囊泡：胚胎干细胞也在治疗心肌梗死相关研究中有广泛的应用，但与间充质干细胞一样，胚胎干细胞在缺血心肌中仍然难以存活和驻留，并且胚胎干细胞的植入还存在形成畸胎瘤的风险。已有研究使用胚胎干细胞来源细胞外囊泡对心肌梗死小鼠模型进行治疗，有助于心肌细胞存活与增殖，促进新生血管的生成，减少梗死后纤维化，从而帮助心功能的改善^[23]。胚胎干细胞来源细胞外囊泡中 70% 的 miRNA 属于 miR-290 家族，这些胚胎干细胞特异性高表达的 miR-290 有助于细胞进入细胞周期，这一发现为后续的研究提供了思路。但由于胚胎干细胞涉及的伦理问题，目前仅有少数研究在心肌梗死的治疗中使用了胚胎干细胞来源细胞外囊泡，大部分研究选择将胚胎干细胞分化为其他细胞后再提取细胞外囊泡^[24-25]。

(3) 诱导多能干细胞来源的细胞外囊泡：自从发现体细胞可以重编程为诱导多能干细胞以来，为了避免与胚胎干细胞有关的免疫排斥和伦理问题，越来越多的心肌修复相关研究开始把目光放到诱导多能干细胞上^[26]。与间充质干细胞及胚胎干细胞类似，诱导多能干细胞来源细胞外囊泡在治疗心肌梗死方面也有与其母细胞相似的作用，ADAMIAK 等^[27]发现诱导多能干细胞来源细胞外囊泡比诱导多能干细胞更安全，甚至能更有效地帮助心脏修复。他们的研究显示诱导多能干细胞来源细胞外囊泡能有效缓解心肌梗死引起的左心室功能障碍，并能在梗死一段时间后改善左心室的整体功能；相比于心肌内直接注射诱导多能干细胞，注射诱导多能干细胞来源细胞外囊泡能更好地维持左心室的功能。与有效改善心肌梗死后心功能这一治疗效果相符合的是，诱导多能干细胞来源细胞外囊泡还能阻止左心室重构、间质纤维化和左心室肥大。同时，诱导多能干细胞来源细胞外囊泡也有与间充质干细胞来源细胞外囊泡相同的功能——促进梗死边缘区及非缺血区毛细血管生成、减少缺血心肌细胞的凋亡^[27]。诱导多能干细胞来源细胞外囊泡所具有的这些治疗作用，也与其所携带的一些分子相关，例如诱导多能干细胞来源细胞外囊泡中 miR-21 及 miR-210 水平显著升高，这两种 miRNA 能有效保护缺氧心肌细胞，防止其凋亡^[28-30]。而且诱导多能干细胞来源细胞外囊泡中相关 miRNAs 可能在心脏组织修复以及血管生成中起到正向作用^[27, 31-32]。因此，诱导多能干细胞来源细胞外囊泡应用于心肌梗死治疗的潜力是不可忽视的，见表 1。

2.2.2 其他类型细胞来源的细胞外囊泡 除了以上提到的干细胞外，内皮细胞、免疫细胞以及诱导多能干细胞分化形成的心肌细胞等都能产生细胞外囊泡。内皮祖细胞治疗心肌梗死有良好的结果^[33]，YUE 等^[34]发现内皮祖细胞来源细胞外囊泡在心肌梗死小鼠模型中也具有改善心功能、抑制细胞凋亡、减小梗死区域瘢痕面积、促进血管生成等功能，而这些治疗效果与内皮祖细胞来源细胞外囊泡中的白细胞介素 10 相关，由于整合素连接激酶在心脏中有促心肌细胞肥厚、促纤维化以及促炎的不利作用，该研究发现白细胞介素 10 可以减少整合素连接激酶在心肌细胞中的富集。除此之外，免疫细胞如骨髓树突状细胞来源细胞外囊泡，可以通过调节免疫反应促进梗死后的心肌修复^[35]。与此同时，M2 型巨噬细胞来源细胞外囊泡在保护心肌细胞免受缺氧诱导的凋亡中起到重要作用^[36]，M2 型巨噬细胞来源细胞外囊泡不仅可以逆转缺氧导致的 Bax 蛋白和半胱天冬氨酸蛋白酶 3 的上调，减少心肌细胞凋亡，还能通过其携带的 miR-1271-5p 下调核转录因子 SOX6 的表达，减少缺氧诱导的心肌细胞凋亡，因此巨噬细胞来源细胞外囊泡在心肌梗死治疗中发挥的作用不

表 1 | 干细胞来源细胞外囊泡治疗动物心肌梗死实验汇总表

研究作者	发表年份	来源	动物模型	给药方式及时间	治疗效果	相关分子机制
ARSLAN 等 ^[11]	2013	人类胚胎干细胞分化而来的间充质干细胞	小鼠，心肌梗死及缺血再灌注模型	心肌内注射；心肌梗死 30 min 后	左心室扩张减小；心功能改善；心肌细胞凋亡减少	通过激活 PI3K/Akt 信号通路，抑制 c-JNK 表达，减少心肌细胞凋亡
PENG 等 ^[13]	2020	小鼠骨髓间充质干细胞	小鼠，心肌梗死及缺血再灌注模型	心肌内注射；心肌梗死 30 min 后	心功能改善；心肌细胞凋亡减少	miR-25-3p 抑制促凋亡基因 FASL 和 PTEN 表达
TENG 等 ^[14]	2015	大鼠骨髓间充质干细胞	大鼠，心肌梗死模型	梗死边缘区 4 个位点注射；心肌梗死 60 min 后	心肌梗死区域毛细血管密度增加，血液灌注恢复；心肌梗死面积减少	未提及
XU 等 ^[15]	2020	人脂肪组织、骨髓及脐血来源的间充质干细胞	大鼠，永久心肌梗死模型	梗死边缘区 5 个位点注射；心肌梗死 30 min 后	心肌梗死面积减少；心功能改善；心肌细胞凋亡减少；血管生成增多	通过促进血管内皮生长因子、碱性成纤维细胞生长因子和肝细胞生长因子的表达，促进血管生成
ZHAO 等 ^[18]	2019	小鼠骨髓间充质干细胞	小鼠，心肌梗死及缺血再灌注模型	梗死边缘区 3 个位点注射；心肌梗死 45 min 再灌注后	心肌梗死面积减少；心脏及血清炎症水平减弱	miR-182 靶向 TLR4/NF-κB/PI3K/Akt 信号通路促进巨噬细胞向 M2 型极化及抗炎细胞因子分泌
SÁNCHEZ-SÁNCHEZ 等 ^[20]	2021	端粒酶反转录酶修饰的永生间充质干细胞	大鼠，永久心肌梗死模型	梗死边缘区 2 个位点注射；心肌梗死后立即给药	心功能恢复；心肌纤维化减少	miR-4732-3p 通过抑制成纤维细胞分化为肌成纤维细胞，减少胶原蛋白的产生；miR-4732-3p 促进间隙连接蛋白 43 表达，维持心肌收缩能力
KHAN 等 ^[23]	2015	小鼠胚胎干细胞	小鼠，永久心肌梗死模型	梗死边缘区 2 个位点注射；心肌梗死后立即给药	心功能改善；血管生成增多；心肌纤维化减少；心肌细胞存活率上升	miR-290 家族推动细胞由 G ₁ 期进入 S 期，促进心肌细胞增殖
ADAMIAK 等 ^[27]	2018	小鼠成纤维细胞来源诱导多能干细胞	小鼠，心肌梗死及缺血再灌注模型	心肌内注射；心肌梗死缺血再灌注完成 48 h 后	左心室功能改善；心肌肥厚程度降低；血管生成增多；心肌细胞凋亡减少	未提及
WANG 等 ^[28]	2015	小鼠心肌成纤维细胞来源诱导多能干细胞	小鼠，心肌梗死及缺血再灌注模型	梗死边缘区 1 个位点注射；心肌梗死缺血再灌注后立即给药	心肌细胞凋亡减少	miR-21 及 miR-210 抑制活化半胱天冬氨酸酶 3 的表达，减少心肌细胞凋亡

可小觑。由于缺血性心脏病常有线粒体结构异常和 ATP 减少的表现，从而导致能量生成不足、心肌细胞收缩异常、心功能障碍，最终引起代偿性心力衰竭，因此 IKEDA 等^[37]决定从恢复心肌细胞生物能这一方向入手，他们发现人诱导多能干细胞分化而来的心肌细胞分泌的细胞外囊泡中含有大量功能性线粒体，并且该细胞外囊泡可以成功地将功能性线粒体转移到缺氧损伤的心肌细胞中，恢复心肌细胞的生物能，从而减少了心肌细胞的凋亡，达到改善心功能的目的。除了心肌细胞，人诱导多能干细胞也可以分化为内皮细胞、平滑肌细胞，GAO 等^[38-39]以 2 : 1 : 1 的比例混合培养人诱导多能干细胞分化而来的心肌细胞、内皮细胞和平滑肌细胞，并从细胞培养基中获得细胞外囊泡，使用这种人诱导多能干细胞来源细胞联合培养产生的细胞外囊泡对猪心肌梗死模型进行治疗，有效地减少了心肌细胞的凋亡，促进了 ATP 的产生，同时促进了梗死边缘区的血管生成，

使心功能得到了恢复。该细胞外囊泡的疗效与直接以相同比例移植以上3种细胞的疗效相同,但比起基于细胞的产品,细胞外囊泡更便于运输和保存。LIAO等^[40]选择了一种新发现的心脏间质细胞群——心脏特络细胞,在此之前已有研究证实心肌梗死的大鼠心脏内移植治疗性心脏特络细胞可以通过促进血管生成来降低心脏纤维化,改善心功能。而在缺血再灌注损伤中,内皮细胞比心肌细胞更容易受到损伤^[41],缺血缺氧诱导的心脏微血管内皮细胞及其他内皮细胞的凋亡先于心肌细胞,在这种环境中内皮细胞释放可溶性促凋亡递质将进一步促进心肌细胞的凋亡^[42],因此LIAO等^[40]认为心肌梗死时保护内皮细胞凋亡,将是促进梗死区域血管再生和实现更有效的心肌再生的一种方法。该研究发现心脏特络细胞来源细胞外囊泡含有的miR-21-5p可以靶向并沉默Ctip 1(cell death inducing P53 target 1)基因,从而下调活化半胱天冬氨酸蛋白酶3,抑制缺血和缺氧条件下内皮细胞的凋亡,促进心肌梗死后血管生成和再生,从而在心肌梗死中发挥治疗作用,见表2。

表2 | 其他细胞来源的细胞外囊泡治疗动物心肌梗死实验汇总

研究作者	发表年份	来源	动物模型	给药方式及时	治疗效果	相关分子机制
YUE等 ^[34]	2020	小鼠骨髓来源内皮祖细胞	小鼠,永久心肌梗死模型	梗死边缘区3个位点注射;心肌梗死后立即给药	心功能改善;梗死区域面积减少;血管生成增多;心肌细胞凋亡减少	白细胞介素10减少整合素连接激酶在心肌细胞中的富集,抗炎症并减少心肌纤维化形成
LONG等 ^[36]	2021	人外周血单个核细胞分化而来的M2型巨噬细胞	小鼠,永久心肌梗死模型	尾静脉注射;30 min及梗死后2, 4, 6 d各给药1次	心肌细胞凋亡减少	减少Bax蛋白和半胱天冬氨酸蛋白酶3的上调,miR-1271-5p下调核转录因子SOX6的表达,减少缺氧诱导的心肌细胞凋亡
IKEDA等 ^[37]	2021	人诱导多能干细胞来源的心肌细胞模型	小鼠,永久心肌梗死模型	梗死边缘区3个位点注射;心肌梗死后立即给药	心功能改善;心肌细胞凋亡减少	功能性线粒体恢复受损心肌细胞生物能,减少心肌细胞凋亡
LIAO等 ^[40]	2021	大鼠心脏特络细胞	大鼠,永久心肌梗死模型	梗死边缘区3个位点注射;心肌梗死30 min后给药	心功能改善;血管生成增多	miR-21-5p靶向并沉默Ctip 1基因,下调活化半胱天冬氨酸蛋白酶3,抑制内皮细胞凋亡,促进血管生成和再生

2.3 人工改造的细胞外囊泡用于心肌修复 如前文所述,细胞外囊泡可以携带一系列不同的核酸和蛋白质进入受体细胞,来影响受体细胞的表型和功能,这使得细胞外囊泡成为一种具有潜在优势的递送载体^[43-44],见图4。

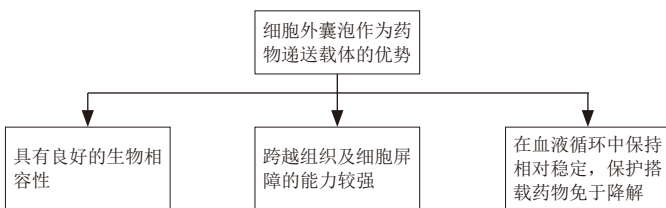


图4 | 细胞外囊泡作为药物递送载体的优势

2.3.1 在细胞外囊泡中搭载治疗性药物以增强细胞外囊泡的疗效 目前,已经有一些研究使用细胞外囊泡搭载蛋白用于心肌修复并取得了可观的疗效。由于Notch1基因表达抑制会加重缺血状态下的心肌损伤^[45],而Notch1蛋白可以启动心肌损伤后的心肌修复,并且在血管生成中发挥重要作用。XUAN等^[46]通过在间充质干细胞中过表达Notch1胞内结构域(N1ICD)来获得含有

N1ICD的细胞外囊泡,并将细胞外囊泡注射于心肌梗死小鼠梗死边缘区来进行治疗,结果显示心肌梗死面积减小、纤维化减弱、心功能改善,且效果优于单独使用间充质干细胞来源细胞外囊泡的治疗,进一步发现N1ICD的过表达可以使心肌组织中赖氨酸氧化酶同源物2(lysyl oxidase homolog-2, LOXL2)和二聚糖(Biglycan)的表达增加,从而促进缺血损伤后梗死边缘区的血管生成,减少心肌细胞的凋亡。MA等^[47]在间充质干细胞中过表达Akt,使间充质干细胞来源细胞外囊泡中富集血小板来源生长因子D,从而促进内皮细胞的增殖与迁移,同样能使心肌梗死边缘区血管生成增多,以达到减少心肌细胞凋亡、促进心肌再生、改善心功能的目的。另一项研究在间充质干细胞中过表达基质细胞衍生因子1以获得含有基质细胞衍生因子1的细胞外囊泡,其对心肌梗死小鼠的治疗效果优于未搭载基质细胞衍生因子1的细胞外囊泡,心肌细胞中抗凋亡因子Bcl-2蛋白表达增多,而促凋亡相关因子Bax蛋白表达降低,从而抑制受损心肌细胞的凋亡。基质细胞衍生因子1有促进心肌细胞表达血管内皮生长因子的作用,从而可以促进梗死边缘区微血管再生^[48]。还有一项研究以减少心肌梗死后的病理性重构为切入点,在间充质干细胞中过表达基质金属蛋白酶抑制因子2,抑制基质金属蛋白酶2和基质金属蛋白酶9的激活,从而减少心肌细胞外基质中胶原的沉积和纤维化,防止心肌病理性重构^[49]。

另一些研究选择在细胞外囊泡中搭载有助于心肌修复的核酸来治疗心肌梗死。MAO等^[50]在间充质干细胞来源细胞外囊泡中搭载能抑制软骨细胞凋亡并诱导其增殖的KLF3-AS1,研究结果显示KLF3-AS1能竞争性结合miR-138-5p,从而减少miR-138-5p对去乙酰化酶Sirtuin 1(Sirt1)表达的抑制,使缺氧心肌细胞的焦亡减少,能获得比单纯使用间充质干细胞来源细胞外囊泡治疗心肌梗死更好的疗效。LIU等^[51]在脂肪间充质干细胞中过表达miR-93-5p,然后分离出含有miR-93-5p的细胞外囊泡,miR-93-5p可以特异性结合自噬相关蛋白7 mRNA和Toll样受体4 mRNA的3'端非翻译区来抑制这两种蛋白的表达,从而抑制缺氧诱导的自噬并减轻炎症反应。该研究发现使用负载miR-93-5p的脂肪间充质干细胞来源细胞外囊泡对心肌梗死模型小鼠进行治疗,可以比仅使用脂肪间充质干细胞来源细胞外囊泡能更有效地抑制心肌细胞的自噬,减少心肌梗死面积。WEI等^[52]研究发现miR-181a可以通过减少转录因子激活蛋白1的组成成分之一——c-Fos蛋白的表达来促进调节性T细胞的发育,该研究使用搭载了miR-181a的间充质干细胞来源细胞外囊泡对心肌梗死小鼠进行治疗,结果显示心肌梗死面积减小,心功能得到改善且梗死区域的炎性细胞浸润减少,促炎细胞因子白细胞介素6、肿瘤坏死因子α减少,抗炎细胞因子白细胞介素10增多。另一项研究在间充质干细胞中过表达miR-101a后获得细胞外囊泡,miR-101a可以靶向转化生长因子β和Wnt信号通路,减少内皮细胞中转化生长因子β和I型胶原α1的表达,从而抑制纤维化^[53],结果显示,搭载了miR-101a的细胞外囊泡能更显著地减少心肌梗死区域胶原蛋白的沉积和减小梗死面积^[54]。除此之外,SONG等^[55]通过人胚胎肾细胞系HEK293T获得细胞外囊泡,在细胞外囊泡中搭载miR-21来靶向缺氧心肌细胞的PDCD4/AP-1,抑制缺氧心肌细胞的凋亡,并激活PTEN/Akt信号通路,刺激内皮细胞表达血管内皮生长因子从而达到促进心功能恢复的目的。间充质干细胞来源细胞外囊泡中含有的miR-486-5p可以保护缺氧心肌细胞防止其凋亡,LI等^[56]发现对间充质干细胞进行缺氧处理后,间充质干细胞分泌的细胞外囊泡中miR-486-5p表达上升,由于miR-486-5p可以靶向成纤维细胞中的基质金属蛋白酶19来抑制基质金属蛋白酶19对血管内皮生长因子A的切割,所

以含有 miR-486-5p 的细胞外囊泡能有效诱导血管生成, 进一步对心肌梗死模型小鼠和非人类灵长类动物进行治疗, 结果显示过表达 miR-486-5p 的间充质干细胞来源细胞外囊泡可以促进血管生成和心功能恢复, 而不会增加心律不齐这一并发症的发生概率。

2.3.2 修饰细胞外囊泡的脂质双分子层以增强细胞外囊泡的靶向性和滞留能力 在动物模型中, 静脉注射全身给予细胞外囊泡后, 细胞外囊泡会很快到达并被滞留在肝脏、脾和肺, 随后被清除^[57]。因此, 除了在细胞外囊泡中搭载治疗性药物外, 还有一些研究对细胞外囊泡的脂质双分子层进行修饰, 以增强其对心脏或心肌细胞的靶向性和增加细胞外囊泡在心脏的滞留时间。心肌梗死发生后的 30 min 内, 会有大量的炎性单核细胞被招募至心脏, 在梗死边缘区和梗死区分化为巨噬细胞, ZHANG 等^[58] 使用融合挤压法将单核细胞膜包裹在间充质干细胞来源细胞外囊泡上, 再通过尾静脉注射的方式对心肌梗死模型小鼠进行治疗, 研究发现缺血的心肌细胞膜上细胞间黏附分子 1 表达增多, 引起整合素介导的黏附, 单核细胞膜修饰的细胞外囊泡表面富集的整合素 Mac-1 和 LFA-1 与细胞间黏附分子 1 相互作用, 使细胞外囊泡归巢至缺血后受损的心肌细胞, 从而达到更好的治疗效果。WANG 等^[59] 在间充质干细胞内同时过表达靶向缺血心肌细胞的肽段 IMTP(CSTSMLKAC) 和细胞外囊泡富集膜蛋白 (Lamp2b), 使 IMTP 能表达在间充质干细胞分泌的细胞外囊泡膜上, 并通过尾静脉注射细胞外囊泡的方式对心肌梗死小鼠进行治疗, 研究结果显示表达了 IMTP 的细胞外囊泡在心肌梗死区的积累高于未经修饰的细胞外囊泡, 使间充质干细胞来源细胞外囊泡本身的治疗作用得到更好的发挥。除了靶向能力, 细胞外囊泡在心脏的滞留时间也会在很大程度上影响细胞外囊泡的治疗效果^[60-61]。WEI 等^[62] 在间充质干细胞中过表达跨膜蛋白 CD47, 使间充质干细胞分泌的细胞外囊泡膜表面修饰 CD47, 通过 CD47 和信号调节蛋白 α 的结合, 可以抑制单核巨噬细胞对细胞外囊泡的吞噬作用, 研究发现未经修饰的细胞外囊泡由尾静脉注射进入小鼠体内后, 只能在血浆中维持 3 h, 而修饰了 CD47 的细胞外囊泡在注射后 4 h 仍能在血浆中检测到, 并且在注射 8 h 后仍大量富集于梗死心肌处, 这使心肌梗死小鼠的心功能得到更好地恢复。以上提到的在细胞外囊泡表面修饰靶向蛋白的研究多使用基因操作的方式, 但基因操作可能改变细胞外囊泡的生物活性, 难以控制其表面靶向蛋白的密度。目前已有一些物理或化学方法可以控制细胞外囊泡表面修饰的内容^[63-64], 例如物理方式将修饰有所需蛋白和肽段的脂质掺入细胞外囊泡的膜成分中, 或使用无铜催化的点击化学反应将肽段连接到细胞外囊泡表面的官能团上, 这些方式可以在细胞外囊泡的纯化步骤中进行, 因此更适用于临床转化, 见表 3。

表 3 | 增强细胞外囊泡靶向及滞留效果相关实验汇总

研究者	发表年份	来源	修饰方法	动物模型	给药方式及时	靶向效果
ZHANG 等 ^[58]	2020	大鼠骨髓间充质干细胞	细胞外囊泡包裹单核细胞膜	小鼠, 心肌梗死模型	尾静脉注射; 整合素介导的黏附促进细胞外囊泡归巢, 24, 48 h 后给药	整合素介导的黏附促进细胞外囊泡归巢至缺血受损的心肌细胞
WANG 等 ^[59]	2018	小鼠骨髓间充质干细胞	小鼠骨髓间充质干细胞过表达心肌细胞靶向肽 IMTP	小鼠, 心肌梗死模型	尾静脉注射; 细胞外囊泡在心肌梗死区即给药	细胞外囊泡在心肌梗死区的积累增多
WEI 等 ^[62]	2021	小鼠骨髓间充质干细胞	小鼠骨髓间充质干细胞过表达跨膜蛋白 CD47	小鼠, 心肌梗死模型	尾静脉注射; 单核巨噬细胞对细胞外囊泡的吞噬减少, 60 min 后给药	单核巨噬细胞对细胞外囊泡的吞噬减少, 细胞外囊泡得以长时间滞留在心肌梗死区域

3 小结 Summary

3.1 既往他人该领域研究的贡献和存在的问题 在心肌梗死后的再生修复这一研究领域中, 细胞外囊泡是非常具有应用前景的治疗药物之一, 其中对间充质干细胞来源细胞外囊泡的研究最广泛, 其在心肌修复与再生中表现出非常可观的疗效。如果对细胞外囊泡表面的蛋白和搭载的药物进行调整、修饰, 还能获得更大的治疗收益。但目前天然来源的细胞外囊泡所携带成分促进心肌修复的作用机制尚不明确, 因此需要进一步的研究进行探索, 以便于在后续的研究中提升细胞外囊泡的疗效。而且优化细胞外囊泡本身靶向和滞留能力的相关研究并不多, 然而细胞外囊泡除了不易靶向心肌细胞外, 细胞外囊泡在内化进入细胞的过程中还有很大一部分 (约 60%) 会经过溶酶体处理, 导致其内容物在溶酶体中被降解, 治疗效果大幅度减弱。但目前关于如何帮助细胞外囊泡通过溶酶体逃逸的方式进入细胞这一问题的研究并不多, 有研究在细胞外囊泡表面包裹富含精氨酸的细胞穿透肽来诱导巨噬细胞作用, 向胞质释放细胞外囊泡以避免溶酶体的降解, 这种方式在心肌梗死的治疗中是否可行还有待探究^[65-66]。在临床应用方面, 细胞外囊泡的分离及纯化方式各不相同, 而不同的分离方法将会导致得到的细胞外囊泡的纯度、大小、浓度都有较大差异^[67], 并且目前的细胞外囊泡分离纯化方式耗时较长, 产率低, 难以大规模规范化生产。除生产外, 如何在长期储存细胞外囊泡时防止其形态特征改变、蛋白内容物降解也是一道难题。在临床的给药方式上, 心肌内注射细胞外囊泡涉及心脏导管插入术, 在不进行开胸手术的患者中并不是理想的给药方式, 然而静脉注射细胞外囊泡的治疗方式虽简单, 但细胞外囊泡难以稳定靶向心肌细胞, 最佳的给药剂量和给药策略也很少有研究探索, 目前并没有统一标准。因此就目前的研究进展而言, 细胞外囊泡的临床应用还存在阻碍。

3.2 作者综述区别于他人他篇的特点 既往有关细胞外囊泡治疗心肌梗死的研究与综述很多, 该文章总结了一些最近的相关研究, 提到了抗心脏微血管内皮细胞凋亡在心肌修复中的重要性, 总结了细胞外囊泡应用于临床所面临的难点。

3.3 综述的局限性 对各种细胞来源细胞外囊泡治疗效果的比较不充分, 并且有一定数量的研究使用了生物材料来提升细胞外囊泡的滞留能力^[68-70], 由于该综述着重记录细胞外囊泡自身在心肌修复中的作用, 因此并未对细胞外囊泡结合生物材料的相关研究进行详细描述。

3.4 综述的重要意义 总结细胞外囊泡在心肌梗死治疗中的相关研究, 提出了基于细胞外囊泡的治疗应用于临床前还需解决的问题。

3.5 课题专家组对未来的建议 目前心肌修复的相关研究多直接从减少缺氧心肌细胞凋亡、增加血管生成和控制心肌纤维化程度入手, 但心肌梗死后长期的低水平炎症反应是引起心肌细胞凋亡和心肌纤维化的重要原因。心肌梗死初期中性粒细胞和单核细胞被招募到缺血区域, 吞噬梗死区域的细胞碎片, 并产生蛋白酶消化组织基质, 清除坏死物质, 形成适当的瘢痕, 但免疫细胞分泌的促炎细胞因子会进一步刺激心脏炎症。在梗死后 3 d, 单核细胞会继续浸润梗死区域, 并分化为巨噬细胞, 减少单核细胞的浸润, 此时巨噬细胞的浸润远多于其他炎症细胞, 已有研究发现 M1 型巨噬细胞来源细胞外囊泡可以抑制心肌梗死微环境下的血管生成并加重心功能障碍, 而 M2 型巨噬细胞来源细胞外囊泡可以减轻心肌缺血再灌注损伤。因此未来的研究也可以从控制心肌梗死后的慢性炎症、促进巨噬细胞以及单核细胞从促炎型向抗炎型极化入手。

作者贡献: 岳霏霏负责综述构思设计、文献收集分析和综述写作; 宋煜负责文章校对; 通讯作者王晓蓓与王琳指导设计与成文。

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中不存在利益冲突。

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 4.0”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。

版权转让: 文章出版前全体作者与编辑部签署了文章版权转让协议。

出版规范: 该文章撰写遵守国际医学期刊编辑委员会《系统综述和荟萃分析报告规范》(PRISMA 指南); 文章出版前已经过专业反剽窃文献检测系统进行 3 次文字和图表查重; 文章经小同行外审专家双盲审稿, 同行评议认为文章符合期刊发稿宗旨。

4 参考文献 References

- [1] REED GW, ROSSI JE, CANNON CP. Acute myocardial infarction. *Lancet*. 2017;389(10065):197-210.
- [2] THERY 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 Extracell Vesicles*. 2018;7(1):1535750.
- [3] PEZZANA C, AGNELY F, BOCHOT A, et al. Extracellular Vesicles and Biomaterial Design: New Therapies for Cardiac Repair. *Trends Mol Med*. 2021;27(3):231-247.
- [4] 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.
- [5] HOSHINO A, COSTA-SILVA B, SHEN TL, et al. Tumour exosome integrins determine organotropic metastasis. *Nature*. 2015;527(7578):329-335.
- [6] YU X, DENG L, WANG D, et al. Mechanism of TNF-alpha autocrine effects in hypoxic cardiomyocytes: initiated by hypoxia inducible factor 1alpha, presented by exosomes. *J Mol Cell Cardiol*. 2012;53(6):848-857.
- [7] 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.
- [8] MCGINLEY LM, MCMAHON J, STOCCA A, et al. Mesenchymal stem cell survival in the infarcted heart is enhanced by lentivirus vector-mediated heat shock protein 27 expression. *Hum Gene Ther*. 2013;24(10):840-851.
- [9] LAI RC, ARSLAN F, LEE MM, et al. Exosome secreted by MSC reduces myocardial ischemia/reperfusion injury. *Stem Cell Res*. 2010;4(3):214-222.
- [10] TAN SJO, FLORIANO JF, NICASTRO L, et al. Novel Applications of Mesenchymal Stem Cell-derived Exosomes for Myocardial Infarction Therapeutics. *Biomolecules*. 2020;10(5):707.
- [11] ARSLAN F, LAI RC, SMEETS MB, et al. Mesenchymal stem cell-derived exosomes increase ATP levels, decrease oxidative stress and activate PI3K/Akt pathway to enhance myocardial viability and prevent adverse remodeling after myocardial ischemia/reperfusion injury. *Stem Cell Res*. 2013;10(3):301-312.
- [12] WEN Z, MAI Z, ZHU X, et al. Mesenchymal stem cell-derived exosomes ameliorate cardiomyocyte apoptosis in hypoxic conditions through microRNA144 by targeting the PTEN/AKT pathway. *Stem Cell Res Ther*. 2020;11(1):36.
- [13] PENG Y, ZHAO JL, PENG ZY, et al. Exosomal miR-25-3p from mesenchymal stem cells alleviates myocardial infarction by targeting pro-apoptotic proteins and EZH2. *Cell Death Dis*. 2020;11(5):317.
- [14] TENG X, CHEN L, CHEN W, et al. Mesenchymal Stem Cell-Derived Exosomes Improve the Microenvironment of Infarcted Myocardium Contributing to Angiogenesis and Anti-Inflammation. *Cell Physiol Biochem*. 2015;37(6):2415-2424.
- [15] XU H, WANG Z, LIU L, et al. Exosomes derived from adipose tissue, bone marrow, and umbilical cord blood for cardioprotection after myocardial infarction. *J Cell Biochem*. 2020;121(3):2089-2102.
- [16] FRANGOGIANNIS NG, SMITH CW, ENTMAN ML. The inflammatory response in myocardial infarction. *Cardiovasc Res*. 2002;53(1):31-47.
- [17] NAHRENDORF M, PITTET MJ, SWIRSKI FK. Monocytes: protagonists of infarct inflammation and repair after myocardial infarction. *Circulation*. 2010;121(22):2437-2445.
- [18] ZHAO J, LI X, HU J, et al. Mesenchymal stromal cell-derived exosomes attenuate myocardial ischaemia-reperfusion injury through miR-182-regulated macrophage polarization. *Cardiovasc Res*. 2019;115(7):1205-1216.
- [19] TALMAN V, RUSKOAHO H. Cardiac fibrosis in myocardial infarction-from repair and remodeling to regeneration. *Cell Tissue Res*. 2016;365(3):563-581.
- [20] SÁNCHEZ-SÁNCHEZ R, GÓMEZ-FERRER M, REINAL I, et al. miR-4732-3p in Extracellular Vesicles From Mesenchymal Stromal Cells Is Cardioprotective During Myocardial Ischemia. *Front Cell Dev Biol*. 2021;9:734143.
- [21] SUN L, ZHU W, ZHAO P, et al. Long noncoding RNA UCA1 from hypoxia-conditioned hMSC-derived exosomes: a novel molecular target for cardioprotection through miR-873-5p/XIAP axis. *Cell Death Dis*. 2020;11(8):696.
- [22] JUNG JH, IKEDA G, TADA Y, et al. miR-106a-363 cluster in extracellular vesicles promotes endogenous myocardial repair via Notch3 pathway in ischemic heart injury. *Basic Res Cardiol*. 2021;116(1):19.
- [23] KHAN M, NICKOLOFF E, ABRAMOVA T, et al. Embryonic stem cell-derived exosomes promote endogenous repair mechanisms and enhance cardiac function following myocardial infarction. *Circ Res*. 2015;117(1):52-64.
- [24] WU Q, WANG J, TAN WLW, et al. Extracellular vesicles from human embryonic stem cell-derived cardiovascular progenitor cells promote cardiac infarct healing through reducing cardiomyocyte death and promoting angiogenesis. *Cell Death Dis*. 2020;11(5):354.
- [25] KERVADEC A, BELLAMY V, EL HARANE N, et al. Cardiovascular progenitor-derived extracellular vesicles recapitulate the beneficial effects of their parent cells in the treatment of chronic heart failure. *J Heart Lung Transplant*. 2016;35(6):795-807.
- [26] YOSHIDA Y, YAMANAKA S. Induced Pluripotent Stem Cells 10 Years Later: For Cardiac Applications. *Circ Res*. 2017;120(12):1958-1968.
- [27] ADAMI AK M, CHENG G, BOBIS-WOZOWICZ S, et al. Induced Pluripotent Stem Cell (iPSC)-Derived Extracellular Vesicles Are Safer and More Effective for Cardiac Repair Than iPSCs. *Circ Res*. 2018;122(2):296-309.
- [28] WANG Y, ZHANG L, LI Y, et al. Exosomes/microvesicles from induced pluripotent stem cells deliver cardioprotective miRNAs and prevent cardiomyocyte apoptosis in the ischemic myocardium. *Int J Cardiol*. 2015;192:61-69.
- [29] SAYED D, HE M, HONG C, et al. MicroRNA-21 is a downstream effector of AKT that mediates its antiapoptotic effects via suppression of Fas ligand. *J Biol Chem*. 2010;285(26):20281-20290.
- [30] KIM HW, HAIDER HK, JIANG S, et al. Ischemic preconditioning augments survival of stem cells via miR-210 expression by targeting caspase-8-associated protein 2. *J Biol Chem*. 2009;284(48):33161-33168.
- [31] GRUBER AJ, GRANDY WA, BALWIERZ PJ, et al. Embryonic stem cell-specific microRNAs contribute to pluripotency by inhibiting regulators of multiple differentiation pathways. *Nucleic Acids Research*. 2014;42(14):9313-9326.
- [32] MENDEL JT. miRNAs roles for the miR-17-92 cluster in development and disease. *Cell*. 2008;133(2):217-222.
- [33] MÜLLER P, LEMCKE H, DAVID R. Stem Cell Therapy in Heart Diseases - Cell Types, Mechanisms and Improvement Strategies. *Cell Physiol Biochem*. 2018;48(6):2607-2655.
- [34] YUE Y, WANG C, BENEDICT C, et al. Interleukin-10 Deficiency Alters Endothelial Progenitor Cell-Derived Exosome Reparative Effect on Myocardial Repair via Integrin-Linked Kinase Enrichment. *Circ Res*. 2020;126(3):315-329.

- [35] WEN C, SEEGER RC, FABBRI M, et al. Biological roles and potential applications of immune cell-derived extracellular vesicles. *J Extracell Vesicles*. 2017;6(1):1400370.
- [36] LONG R, GAO L, LI Y, et al. M2 macrophage-derived exosomes carry miR-1271-5p to alleviate cardiac injury in acute myocardial infarction through down-regulating SOX6. *Mol Immunol*. 2021;136:26-35.
- [37] IKEDA G, SANTOSO MR, TADA Y, et al. Mitochondria-Rich Extracellular Vesicles From Autologous Stem Cell-Derived Cardiomyocytes Restore Energetics of Ischemic Myocardium. *J Am Coll Cardiol*. 2021;77(8):1073-1088.
- [38] GAO L, WANG L, WEI Y, et al. Exosomes secreted by hiPSC-derived cardiac cells improve recovery from myocardial infarction in swine. *Sci Transl Med*. 2020;12(561):eaay1318.
- [39] GAO L, GREGORICH ZR, ZHU W, et al. Large Cardiac Muscle Patches Engineered From Human Induced-Pluripotent Stem Cell-Derived Cardiac Cells Improve Recovery From Myocardial Infarction in Swine. *Circulation*. 2018;137(16):1712-1730.
- [40] LIAO Z, CHEN Y, DUAN C, et al. Cardiac telocytes inhibit cardiac microvascular endothelial cell apoptosis through exosomal miRNA-21-5p-targeted cldp1 silencing to improve angiogenesis following myocardial infarction. *Theranostics*. 2021;11(1):268-291.
- [41] DAVIDSON SM, DUCHEN MR. Endothelial mitochondria: contributing to vascular function and disease. *Circ Res*. 2007;100(8):1128-1141.
- [42] SCARABELLI T, STEPHANOU A, RAYMENT N, et al. Apoptosis of endothelial cells precedes myocyte cell apoptosis in ischemia/reperfusion injury. *Circulation*. 2001;104(3):253-256.
- [43] SELA, MAGER I, BREAKFIELD XO, et al. Extracellular vesicles: biology and emerging therapeutic opportunities. *Nat Rev Drug Discov*. 2013;12(5):347-357.
- [44] MURPHY DE, DE JONG OG, BROUWER M, et al. Extracellular vesicle-based therapeutics: natural versus engineered targeting and trafficking. *Exp Mol Med*. 2019;51(3):1-12.
- [45] YANG H, SUN W, QUAN N, et al. Cardioprotective actions of Notch1 against myocardial infarction via LKB1-dependent AMPK signaling pathway. *Biochem Pharmacol*. 2016;108:47-57.
- [46] XUAN W, KHAN M, ASHRAF M. Extracellular Vesicles From Notch Activated Cardiac Mesenchymal Stem Cells Promote Myocyte Proliferation and Neovasclogenesis. *Front Cell Dev Biol*. 2020;8:11.
- [47] MA J, ZHAO Y, SUN L, et al. Exosomes Derived from Akt-Modified Human Umbilical Cord Mesenchymal Stem Cells Improve Cardiac Regeneration and Promote Angiogenesis via Activating Platelet-Derived Growth Factor D. *Stem Cells Transl Med*. 2017;6(1):51-59.
- [48] GONG XH, LIU H, WANG SJ, et al. Exosomes derived from SDF1-overexpressing mesenchymal stem cells inhibit ischemic myocardial cell apoptosis and promote cardiac endothelial microvascular regeneration in mice with myocardial infarction. *J Cell Physiol*. 2019;234(8):13878-13893.
- [49] NI J, LIU X, YIN Y, et al. Exosomes Derived from TIMP2-Modified Human Umbilical Cord Mesenchymal Stem Cells Enhance the Repair Effect in Rat Model with Myocardial Infarction Possibly by the Akt/Sfrp2 Pathway. *Oxid Med Cell Longev*. 2019;2019:1958941.
- [50] MAO Q, LIANG XL, ZHANG CL, et al. LncRNA KLF3-AS1 in human mesenchymal stem cell-derived exosomes ameliorates pyroptosis of cardiomyocytes and myocardial infarction through miR-138-5p/Sirt1 axis. *Stem Cell Res Ther*. 2019;10(1):393.
- [51] LIU J, JIANG M, DENG S, et al. miR-93-5p-Containing Exosomes Treatment Attenuates Acute Myocardial Infarction-Induced Myocardial Damage. *Mol Ther Nucleic Acids*. 2018;11:103-115.
- [52] WEI Z, QIAO S, ZHAO J, et al. miRNA-181a over-expression in mesenchymal stem cell-derived exosomes influenced inflammatory response after myocardial ischemia-reperfusion injury. *Life Sci*. 2019;232:116632.
- [53] PAN Z, SUN X, SHAN H, et al. MicroRNA-101 inhibited postinfarct cardiac fibrosis and improved left ventricular compliance via the FBJ osteosarcoma oncogene/transforming growth factor- β 1 pathway. *Circulation*. 2012;126(7):840-850.
- [54] WANG J, LEE CJ, DECI MB, et al. MiR-101a loaded extracellular nanovesicles as bioactive carriers for cardiac repair. *Nanomedicine*. 2020;27:102201.
- [55] SONG Y, ZHANG C, ZHANG J, et al. Localized injection of miRNA-21-enriched extracellular vesicles effectively restores cardiac function after myocardial infarction. *Theranostics*. 2019;9(8):2346-2360.
- [56] LI Q, XU Y, LV K, et al. Small extracellular vesicles containing miR-486-5p promote angiogenesis after myocardial infarction in mice and nonhuman primates. *Sci Transl Med*. 2021;13(584):eabb0202.
- [57] DE ABREU RC, FERNANDES H, DA COSTA MARTINS PA, et al. Native and bioengineered extracellular vesicles for cardiovascular therapeutics. *Nat Rev Cardiol*. 2020;17(11):685-697.
- [58] ZHANG N, SONG Y, HUANG Z, et al. Monocyte mimics improve mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicle homing in a mouse MI/RI model. *Biomaterials*. 2020;255:120168.
- [59] WANG X, CHEN Y, ZHAO Z, et al. Engineered Exosomes With Ischemic Myocardium-Targeting Peptide for Targeted Therapy in Myocardial Infarction. *J Am Heart Assoc*. 2018;7(15):e008737.
- [60] LAI CP, MARDINI O, ERICSSON M, et al. Dynamic biodistribution of extracellular vesicles in vivo using a multimodal imaging reporter. *ACS Nano*. 2014;8(1):483-494.
- [61] LIU B, LEE BW, NAKANISHI K, et al. Cardiac recovery via extended cell-free delivery of extracellular vesicles secreted by cardiomyocytes derived from induced pluripotent stem cells. *Nat Biomed Eng*. 2018;2(5):293-303.
- [62] WEI Z, CHEN Z, ZHAO Y, et al. Mononuclear phagocyte system blockade using extracellular vesicles modified with CD47 on membrane surface for myocardial infarction reperfusion injury treatment. *Biomaterials*. 2021;275:121000.
- [63] ZHU LP, TIAN T, WANG JY, et al. Hypoxia-elicited mesenchymal stem cell-derived exosomes facilitates cardiac repair through miR-125b-mediated prevention of cell death in myocardial infarction. *Theranostics*. 2018;8(22):6163-6177.
- [64] TIAN T, ZHANG HX, HE CP, et al. Surface functionalized exosomes as targeted drug delivery vehicles for cerebral ischemia therapy. *Biomaterials*. 2018;150:137-149.
- [65] NAKASE I, NOGUCHI K, FUJII I, et al. Vectorization of biomacromolecules into cells using extracellular vesicles with enhanced internalization induced by macropinocytosis. *Sci Rep*. 2016;6:34937.
- [66] NAKASE I, NOGUCHI K, AOKI A, et al. Arginine-rich cell-penetrating peptide-modified extracellular vesicles for active macropinocytosis induction and efficient intracellular delivery. *Sci Rep*. 2017;7(1):1991.
- [67] LIU C, BAYADO N, HE D, et al. Therapeutic Applications of Extracellular Vesicles for Myocardial Repair. *Front Cardiovasc Med*. 2021;8:758050.
- [68] WATERS R, ALAM P, PACELLI S, et al. Stem cell-inspired secretome-rich injectable hydrogel to repair injured cardiac tissue. *Acta Biomater*. 2018;69:95-106.
- [69] LV K, LI Q, ZHANG L, et al. Incorporation of small extracellular vesicles in sodium alginate hydrogel as a novel therapeutic strategy for myocardial infarction. *Theranostics*. 2019;9(24):7403-7416.
- [70] HAN C, ZHOU J, LIANG C, et al. Human umbilical cord mesenchymal stem cell derived exosomes encapsulated in functional peptide hydrogels promote cardiac repair. *Biomater Sci*. 2019;7(7):2920-2933.

(责任编辑: MZH, ZN, ZH)