

# 骨骼肌源性外泌体功能及其运动调控

庄曙昭 肖卫华\*

(上海体育学院运动科学学院, 上海 200438)

**摘要** 骨骼肌源性外泌体富含多种蛋白质和RNAs, 不仅可以调节骨骼肌增殖、分化和再生, 还可以调节神经细胞、心肌细胞、内皮细胞、成骨细胞等其他组织细胞的功能。骨骼肌源性外泌体中包含的各种肌肉因子和运动因子可参与体内各个器官系统之间的信息交流, 运动带来的健康获益可能与此相关。该文追踪国内外最新研究进展, 深入探讨了骨骼肌源性外泌体的成分、功能及其在运动中的调控作用, 为其在生物医学和运动健康领域的开发应用提供参考。

**关键词** 骨骼肌; 外泌体; 胞外囊泡; 运动

## Functions of Skeletal Muscle-Derived Exosomes and Its Modulation in Exercise

ZHUANG Shuzhao, XIAO Weihua\*

(School of Kinesiology, Shanghai University of Sport, Shanghai 200438, China)

**Abstract** Skeletal muscle-derived exosomes contain various proteins and RNAs, which can not only modulate the proliferation, differentiation and regeneration of skeletal muscle, but also orchestrate the functions of other cell types such as nerve cells, cardiac muscle cells, endothelial cells, osteoblasts, etc. Skeletal muscle-derived exosomes participate in inter-tissue communication through the release of myokines and exerkins, which may be implicated in the exercise-mediated health benefits. In this review, the components and functions of skeletal muscle-derived exosomes and their effects of regulation during exercise are summarized, providing a reference for their development and application in the field of biomedicine and sport science.

**Keywords** skeletal muscle; exosomes; extracellular vesicles; exercise

许多生物分子都不太稳定, 释放入血液循环后容易被各种蛋白酶和RNA酶灭活。为了适应这种恶劣的环境, 一种非常复杂的胞外囊泡(extracellular vesicles, EVs)系统包括外泌体(exosomes, EXs)和微泡(microvesicles, MVs)应运而生<sup>[1]</sup>。胞外囊泡根据大小通常可被分为外泌体(30~150 nm)、微泡(100~1 000 nm)和凋亡小体(500~5 000 nm)<sup>[2]</sup>。其中外泌体的研究备受关注, 而骨骼肌作为人体最大的器官以自分泌、旁分泌或内

分泌的形式释放外泌体。在运动过程中, 骨骼肌收缩会释放大量的外泌体进入血液循环, 其中包含的各种活性物质可调节体内各组织、器官、系统的生理功能。

近年来的研究表明, 骨骼肌源性外泌体(skeletal muscle-derived exosomes)成分复杂并且功能多样。骨骼肌源性外泌体不仅含有丰富的蛋白质和RNAs, 其成分还会受到各种生理或病理因素的影响。它不

收稿日期: 2020-04-08 接受日期: 2020-05-27

国家自然科学基金(批准号: 31300975)、上海市自然科学基金(批准号: 18ZR1437100)和上海市人类运动能力开发与保障重点实验室(上海体育学院)项目(批准号: 11DZ2261100)资助的课题

\*通讯作者。Tel: 021-65507367, E-mail: xiaowei@sus.edu.cn

Received: April 8, 2020 Accepted: May 27, 2020

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.31300975), the Natural Science Foundation of Shanghai (Grant No.18ZR1437100), and the Project of Shanghai Key Laboratory of Development and Guarantee of Human Sports Ability (Shanghai University of Sport) (Grant No.11DZ2261100)

\*Corresponding author. Tel: +86-21-65507367, E-mail: xiaowei@sus.edu.cn

URL: <http://www.cjcb.org/arts.asp?id=5347>

仅可以调控骨骼肌细胞的增殖、分化和再生,还对神经元、心肌细胞等其他类型的细胞有调控作用。此外,运动时血液循环中存在的外泌体协同各种肌肉因子(myokines)和运动因子(exerkines),促进骨骼肌与其他各个器官之间的信息交流,参与保护心脏、大脑等重要器官,在整体水平上发挥骨骼肌的内分泌调节作用。本文通过追踪国内外最新研究进展,深入探讨骨骼肌源性外泌体的成分、功能及其在运动中的调控作用,有助于提高我们对骨骼肌外泌体功能的认识,及从外泌体角度理解运动带来的健康效应。

## 1 外泌体

外泌体是一种由磷脂双分子层包被,直径为30~150 nm的囊泡,由细胞内的多泡内体(multivesicular endosomes, MVEs)与细胞膜融合后通过胞吐作用被释放到细胞外。它富含蛋白质[如ALG-2相互作用蛋白(ALG-2 interacting protein X, Alix)、肿瘤易感基因101蛋白(tumor susceptibility gene 101, TSG101)、热休克蛋白(HSP70、HSP90等)、膜联蛋白(annexins)、整联蛋白(integrins)、四跨膜蛋白(CD9、CD63、CD81、CD82)等]、核酸(以线粒体来源的mRNAs和miRNAs为代表)以及脂质(如胆固醇、神经酰胺、鞘磷脂等)等多种成分<sup>[3]</sup>。外泌体的分泌最早被认为是一种细胞清除自身不需要的物质的一种方式<sup>[4]</sup>。但近年来研究表明,外泌体的作用不仅仅是作为排除代谢废物的载体,更重要的是,它通过携带核酸、蛋白质和脂质等方式参与细胞之间的物质交换和信息交流,广泛参与机体病理和生理过程<sup>[5]</sup>。

## 2 骨骼肌源性外泌体的成分

在健康非肥胖人体中,骨骼肌质量约占体重的40%,是人体最大的器官,同时也是人体最大的内分泌器官,分泌包括外泌体在内的多种物质,影响全身代谢<sup>[6]</sup>。骨骼肌源性外泌体含有十分丰富的蛋白质、RNA和脂质。

研究表明,骨骼肌在增殖分化过程中分泌大量的蛋白质和多肽,参与形成外泌体<sup>[7]</sup>,这些蛋白质主要与细胞信号转导、膜泡运输、氨基酸代谢、细胞的黏附、迁移和自由基清除等有关<sup>[8-9]</sup>。而且,骨骼肌还会以外泌体的形式释放肌肉因子。肌肉因子指运动中由收缩的骨骼肌细胞合成并分泌的多肽和蛋

白质,以自分泌、旁分泌或内分泌的方式作用于各个器官<sup>[10]</sup>。这些物质包括白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6)、成纤维细胞生长因子21(fibroblast growth factor 21, FGF21)、胰岛素样生长因子1(insulin-like growth factor 1, IGF-1)、鸢尾素(irisin)、肌肉生成抑制素(myostatin)、脑源性神经营养因子(brain-derived neurotrophic factor, BDNF)和血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)等<sup>[11-16]</sup>。

骨骼肌细胞含有较多长链RNAs,相比之下,骨骼肌源性外泌体中短链非编码RNAs的比例更高,主要包括各种miRNAs和piRNAs。这些RNAs主要参与调节骨骼肌质量控制信号通路、钙离子信号通路、神经肌肉接头、免疫应答、细胞骨架等功能<sup>[17]</sup>。去除肌肉的神经支配会导致骨骼肌源性外泌体中miRNAs含量的改变,如移除小鼠2 mm坐骨神经后,其骨骼肌源性外泌体中miR-206升高15倍,miR-1水平下降,miR-133a和miR-133b水平出现明显下降<sup>[18]</sup>。

外泌体的脂质成分与其来源的细胞较为相似<sup>[19]</sup>。骨骼肌源性外泌体富含棕榈酸、棕榈油酸、硬脂酸、油酸和月桂酸<sup>[20]</sup>。这些脂肪酸主要用于产生能量或者为细胞膜的合成提供磷脂<sup>[17]</sup>。此外,骨骼肌细胞源性外泌体中还含有线粒体DNA(mitochondrial DNA, mtDNA),因此,外泌体可能作为mtDNA的载体,将mtDNA从骨骼肌细胞转运给其他远距离的靶细胞<sup>[21]</sup>。

## 3 骨骼肌源性外泌体的功能

### 3.1 骨骼肌源性外泌体对骨骼肌功能的调控

骨骼肌源性外泌体可以促进骨骼肌细胞的增殖与分化<sup>[22-23]</sup>。研究表明,经棕榈酸酯培养的C2C12细胞来源的外泌体可通过下调肌细胞中Myog(myogenin)和MyoD1(myogenic differentiation 1)的水平,上调Cyclin D1和Akt蛋白的表达,进而促进成肌细胞增殖<sup>[20]</sup>。而来源于轻微氧化应激状态下肌细胞的外泌体可使肌细胞中Myog和肌球蛋白重链的表达降低,增殖细胞核抗原(proliferating cell nuclear antigen, PCNA)的表达升高,从而促进成肌细胞增殖<sup>[22]</sup>。此外,骨骼肌源性外泌体还可通过修饰骨骼肌干细胞微环境,促进肌卫星细胞的增殖<sup>[24]</sup>。骨骼肌源性外泌体不仅可以促进骨骼肌细胞的增殖,还可以促进其分化。C2C12肌管细胞来源的外泌体可通过下调Cyclin D1和上调Myog的表达减少成肌细胞

增殖, 诱导其分化<sup>[9]</sup>。外泌体中含有的miRNA133a也可能沉默Sirt1表达, 促进成肌细胞的分化<sup>[25]</sup>。在某些病理状态下, 骨骼肌源性外泌体还会抑制其分化。例如, 处于炎症状态下的肌细胞分泌的外泌体样囊泡(exosome-like vesicles, ELVs)就会抑制成肌细胞的分化。ELVs使成肌细胞中与肌生成相关的信号蛋白如哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mammalian target of rapamycin, mTOR)、MyoD1和Myog的表达下降, 与肌萎缩相关的信号蛋白如单磷酸腺苷活化蛋白激酶(AMP-activated protein kinase, AMPK)、p38-丝裂原活化蛋白激酶(p38-mitogen-activated protein kinase, p38-MAPK)、c-Jun氨基末端激酶(c-Jun N-terminal kinase, JNK)以及肌肉萎缩盒F基因(muscle atrophy F-box, MAFbx)的表达上调, 抑制成肌细胞分化, 诱导肌肉萎缩<sup>[23]</sup>。由上述研究可知, 骨骼肌源性外泌体对肌细胞增殖与分化具有复杂的调控作用, 产生上述差异可能与肌细胞所处诱导环境不同, 导致其分泌的外泌体成分不同有关。

骨骼肌源性外泌体还可促进骨骼肌再生。研究表明, 各种干细胞和祖细胞来源的外泌体对各种受损组织包括肾脏、心肌、肝、肺、皮肤和大脑, 都具有治疗潜能<sup>[26]</sup>。而骨骼肌源性外泌体也在损伤骨骼肌修复再生中具有重要作用。人骨骼肌成肌细胞分化为成熟肌管细胞过程中分泌的外泌体含有多种成肌生长因子, 如胰岛素样生长因子、血小板源性生长因子和肝细胞生长因子等, 尤其是高度表达的肝细胞生长因子被认为参与了肌卫星细胞的激活、分化与迁移, 在肌肉再生中具有重要作用。而将人骨骼肌成肌细胞来源的外泌体注射到小鼠被割伤的胫骨前肌处, 可显著减少伤口处胶原纤维的沉积, 提高再生肌细胞的数量, 促进骨骼肌再生<sup>[27]</sup>。此外, 用这些外泌体孵育人脂肪来源干细胞(human adipose-derived stem cells, HASCs)可使细胞出现成肌分化<sup>[27]</sup>。这些发现证明, HSkM在分化过程中分泌的外泌体可以有效促进干细胞的成肌分化。尽管在促进骨骼肌再生过程中外泌体中何种物质发挥了关键作用至今仍不清楚, 且用高浓度的外泌体(200 μg/mL)孵育HASCs甚至导致多数细胞死亡这一负面结果, 但这并不妨碍外泌体可作为一种新型的非细胞治疗工具被应用于再生医学。

### 3.2 骨骼肌源性外泌体对神经元的调控

骨骼肌源性外泌体可被神经细胞摄取, 继而发

挥特定功能。研究表明, 分化成熟的C2C12肌管细胞分泌的胞外囊泡(包括外泌体和微泡)不仅可以被NSC-34神经元细胞摄取, 而且共培养一段时间后, 可使单位神经元突起长度、复杂性和细胞大小都明显升高, 并呈剂量依赖性<sup>[28]</sup>。可见正常健康状态下的骨骼肌源性外泌体可以促进神经细胞的生长。但是, 来源于萎缩骨骼肌细胞的外泌体却会抑制神经细胞的分化, 这可能与miR-29b-3p在衰老萎缩的肌肉以及血液中的表达上升有关。衰老萎缩的骨骼肌含有高水平的miR-29b-3p, 并且会以外泌体的形式被释放入血, 通过血液循环被神经元摄取。miR-29b-3p通过下调BCL-2(B-cell lymphoma-2)、RITI(Ras-like without CAAX 1)和LAMCI(laminin gamma 1)等一系列与神经元分化相关的基因, 以及直接作用于c-FOS, 上调长链非编码RNA缺氧诱导因子1α-反义链2(hypoxia inducible factor-1α-AS2, HIF1α-AS2)的表达, 抑制神经元的分化。由此可见, 萎缩的肌肉可能会通过外泌体中包含的miRNAs损害神经元的功能<sup>[29]</sup>。

### 3.3 骨骼肌源性外泌体对心肌的调控

骨骼肌源性外泌体对心肌具有保护作用。肌营养不良症模型鼠(MDX小鼠)表现为明显的进行性心肌细胞减少和纤维化, 引起心肌病, 最终出现心力衰竭。将C2C12细胞培养液中离心分离出的外泌体注射到MDX小鼠的左心室前壁内可以在一定时间内提高心肌细胞中肌营养不良蛋白(dystrophin)的表达, 并且提升小鼠的左心室射血分数(left ventricular ejection fraction, LVEF)和短轴缩短率(fractional shortening, FS)。可见, 骨骼肌源性外泌体可通过其含有的dystrophin mRNA提高心肌细胞中肌营养不良蛋白的表达, 改善心脏功能<sup>[30]</sup>。另一项研究显示, 从小鼠血浆中分离的外泌体对于心肌的缺血再灌注损伤也具有保护作用。外泌体通过其膜表面表达的HSP70激活Toll样受体4(toll-like receptor 4, TLR4)信号通路, 进而激活其下游的细胞外信号调节激酶1/2(extracellular signal-regulated kinase 1/2, ERK1/2)和p38-MAPK, 使心肌细胞中HSP27磷酸化发挥保护作用。HSP27在心肌细胞中高度表达, 不仅参与控制蛋白质折叠, 维持肌节结构, 还可以保护心肌细胞抵抗氧化应激和细胞凋亡<sup>[31]</sup>。此外, 运动诱导产生的外泌体也可以通过提高心肌细胞BCL-2的表达、降低Bax的表达, 而减少其凋亡<sup>[32]</sup>。

### 3.4 骨骼肌源性外泌体对其他细胞功能的调控

除了骨骼肌、神经元和心肌, 骨骼肌源性外泌体还可被内皮细胞、巨噬细胞、成纤维细胞、胰腺 $\beta$ 细胞、骨髓间充质干细胞、成骨细胞前体细胞、脂肪细胞和肝细胞等各类细胞所摄取, 从而发挥多种功能<sup>[33]</sup>。研究表明, C2C12细胞来源的外泌体经小鼠尾静脉注射后可以广泛分布于肝、脾、肾、心、脑、肌肉和胰腺等各个重要器官, 参与骨骼肌与各个器官间的信息交流与调控<sup>[20,34]</sup>。

研究表明, C2C12细胞分泌的外泌体可通过激活人脐静脉内皮细胞中活性氧簇/核因子- $\kappa$ B(reactive oxygen species/nuclear factor-kappa B)信号通路促进血管生成, 提高内皮细胞功能。而这种作用很可能是通过外泌体中含量丰富的miR-130a来完成。miR-130a可与靶基因*Gax*结合, 抑制其转录, 调节内皮细胞功能<sup>[35]</sup>。C2C12成肌细胞来源的外泌体还可以促进成骨细胞前体细胞(MC3T3-E1)的成骨分化, 这种作用主要基于外泌体中miR-27a-3p的释放和由此导致的受体细胞中 $\beta$ -catenin信号通路的激活<sup>[36]</sup>。肌卫星细胞分泌的外泌体也会被成纤维细胞摄取, 通过其含有的miR-206下调*Rrbp1*(ribosome binding protein 1)的表达。*Rrbp1*是调节胶原合成的主要物质, 参与调控细胞外基质的形成。当肌卫星细胞被去除时, 这种调节机制失控, 导致胶原蛋白的过度生成, 引起肌肉纤维化<sup>[37]</sup>。此外, 经过氧化氢处理, 处于氧化应激状态下的肌管细胞分泌的外泌体不仅可以使巨噬细胞(RAW264.7)中*IL-6* mRNA的表达增加<sup>[22]</sup>, 也可以使骨髓间充质干细胞的活性明显下降, 加快细胞的衰老进程, 而这种作用与外泌体中miR-34a下调*Sirt1*的基因和蛋白表达有关<sup>[38]</sup>。骨骼肌源性外泌体也可以被肾脏摄取。外泌体中的miR-23a/27a可通过下调母亲信号蛋白同源物3(mothers against decapentaplegic homolog 3, SMAD3)及其下游信号分子的表达, 减少糖尿病肾病小鼠肾脏的胶原沉积和纤维化, 减缓糖尿病肾病的进程<sup>[39]</sup>。

## 4 运动对骨骼肌源性外泌体的调控作用

### 4.1 运动促进骨骼肌分泌外泌体

各种体育运动都可以促进骨骼肌分泌外泌体。运动中产生的一系列急性生理反应会干扰体内组织器官的内稳态, 刺激骨骼肌等各个器官组织释放膜性小囊泡进入血液循环。FRUHBEIS等<sup>[40]</sup>发现, 在

跑步和自行车等有氧运动的早期, 机体会释放大量EVs进入血液循环, 然而此次研究并没有确定这些EVs的分泌是否有骨骼肌参与。骨骼肌是人类最大的内分泌器官, 因此, 运动时血液循环中升高的EVs很大一部分可能由骨骼肌分泌。但是, 骨骼肌源性外泌体在体研究的难点在于无法标记和追踪骨骼肌释放外泌体的整个过程, 因此目前的研究主要通过检测一些骨骼肌特异性蛋白或miRNAs来评估骨骼肌源性外泌体在运动中的变化<sup>[41]</sup>。SAFDAR等<sup>[10]</sup>用免疫组织化学染色法检测了小鼠运动1 h后比目鱼肌的外泌体标志蛋白Alix, 发现与对照组相比, 运动组小鼠比目鱼肌中的Alix明显下降, 表明运动确实会促进骨骼肌释放外泌体<sup>[10]</sup>。

关于运动促进骨骼肌释放外泌体的机制, 目前的研究甚少。有限的研究表明, 骨骼肌细胞来源的EVs中分泌的蛋白N-端缺乏经典的信号肽序列, 因而推测, 由运动诱导的血液循环中EVs的上升可能与骨骼肌细胞以非经典的蛋白质分泌途径释放肌肉因子有关<sup>[42]</sup>。此外, 外泌体的释放通常与细胞内 $Ca^{2+}$ 水平上升有关<sup>[43]</sup>。运动神经元刺激骨骼肌细胞, 使肌浆网中 $Ca^{2+}$ 释放入胞质, 因此可以合理推测, 运动中的骨骼肌细胞释放外泌体的速度会比其他器官的细胞更快<sup>[44]</sup>。

### 4.2 骨骼肌源性外泌体成分受运动方式的影响

运动往往会造成骨骼肌损伤。运动方式的不同亦会造成骨骼肌损伤状况的不同, 继而改变血液中EVs及其含有的miRNAs。研究表明, 对于无运动习惯的人群, 增强式跳跃运动和下坡跑运动相结合可以高效诱发肌肉(股四头肌)损伤<sup>[45]</sup>。无运动习惯的青年男性在连续进行中等强度的增强式跳跃运动和下坡跑运动后, 其血清肌酸激酶水平和股四头肌自感肌肉疼痛值显著上升(为肌肉损伤提供了间接证据), 血液循环EVs中的miR-31在运动后24 h显著降低<sup>[46]</sup>。GARNER等<sup>[47]</sup>对无运动习惯的成年男性进行中等强度的功率自行车运动(有氧运动)结合伸膝抗阻运动后, 进行股外侧肌肉活检。结果显示, 有氧运动结合抗阻运动可以有效提高骨骼肌中*Clathrin*和*Alix*(与外泌体的生物发生相关)的mRNA水平, 促进骨骼肌分泌外泌体, 而单纯的有氧运动无此阳性结果。

此外, 进行不习惯的上坡跑(向心运动)和下坡跑(离心运动)也会导致肌肉损伤。实验证明, 上坡

跑时腓肠肌和比目鱼肌更容易被募集,而下坡跑时股四头肌更容易被募集<sup>[48]</sup>。上坡跑等向心运动可以下调SD大鼠腓肠肌中miR-1的水平,上调miR-499的水平,而下坡跑等离心运动则会下调股四头肌和腓肠肌中miR-1和miR-133a的水平。对血浆外泌体中miRNAs的进一步研究表明,下坡跑结束后即刻和1 h后血浆外泌体中6种肌细胞特异性miRNAs(muscle-specific microRNAs, myomiRs)包括miR-1、miR-133a、miR-133b、miR-206、miR-208a和miR-499的水平都有所上升,而上坡跑对于血浆外泌体中miRNAs的表达则无明显影响<sup>[49]</sup>。可见有氧运动与抗阻运动、向心运动与离心运动等不同运动方式可能通过造成不同部位肌肉的损伤,进而影响骨骼肌及其外泌体的成分。

#### 4.3 运动通过骨骼肌源性外泌体调控其他组织器官功能

进行体育活动时,骨骼肌细胞受到代谢物质和机械收缩的双重刺激,会释放含有肌肉因子和运动因子的外泌体,以类似于激素的内分泌和旁分泌作用与其他器官进行交流<sup>[50]</sup>。同时,其他组织器官也会分泌多种体液因子。这些由运动介导释放的多种生物活性物质,统称为运动因子,不仅包括上述各种肌肉因子,还包括其代谢产物(葡萄糖-6-磷酸、甘油等)<sup>[10]</sup>。这些物质在调节各种运动适应如线粒体形成、心肌重塑、外周肌肉血管生成、肌肉肥大、肌肉收

缩和底物代谢等方面具有不可或缺的作用<sup>[51-53]</sup>。目前,已知的肌肉因子和运动因子中,75%存在于外泌体或微泡中<sup>[10]</sup>。肌肉因子和运动因子被外泌体囊泡包裹,免于被体液中的蛋白酶和RNA酶灭活,到达外周各个器官组织后被摄取,参与外周多器官之间的交流和代谢调节(图1)。

外泌体除了通过其含有的肌肉因子和运动因子发挥作用,还可能直接参与心肌和大脑的保护作用。游泳运动中生成的外泌体可以显著减少小鼠心肌的缺血再灌注损伤和凋亡,从更大运动量的小鼠血浆中分离的外泌体注射到小鼠心肌细胞可以进一步提升这种保护作用。这种作用的机制与运动产生的外泌体激活了ERK1/2和HSP27信号通路有关<sup>[32]</sup>,也可能与外泌体中miR-342-5p抑制了凋亡信号通路(Caspase9和JNK2)有关<sup>[54]</sup>。对于大脑,运动经外泌体途径也同样可以发挥保护作用。血液循环中的外泌体可以穿越血脑屏障。尽管具体机制尚不明确,目前认为主要是通过穿胞(transcytosis)作用。血脑屏障中,内皮细胞可通过巨胞饮作用(macropinocytosis)、网格蛋白介导的内吞作用(clathrin-mediated endocytosis)和脂筏介导的内吞作用(lipid raft-mediated endocytosis)介导外泌体入胞<sup>[55]</sup>。阿尔茨海默病是一种神经退行性疾病,患者大脑中存在广泛的蛋白质折叠障碍,并且某些神经元中热休克蛋白的反应性降低<sup>[56]</sup>。研究证明,HSP70表达的增加可以提高患

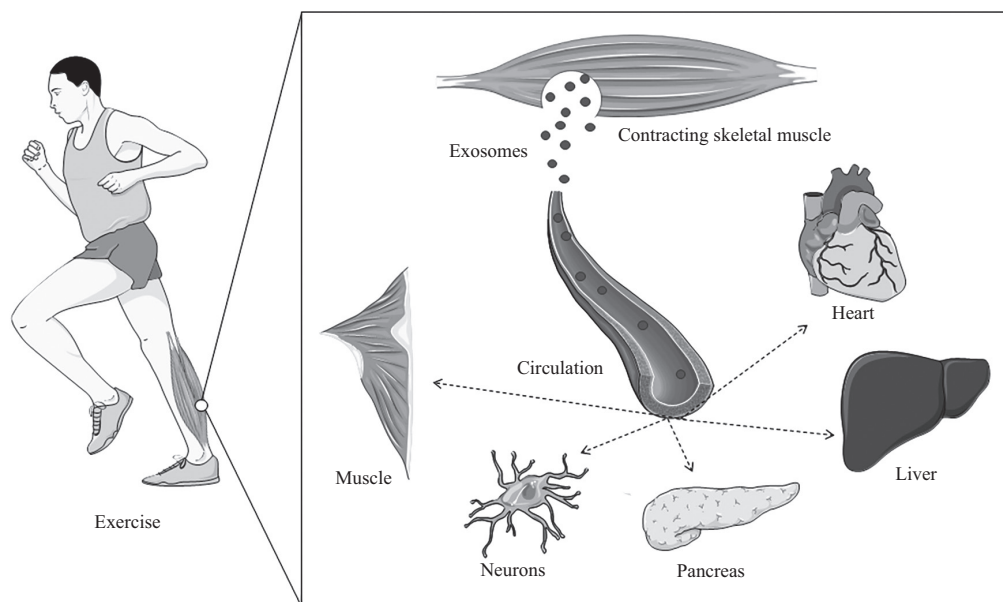


图1 运动通过骨骼肌外泌体调控其他组织器官功能

Fig.1 Skeletal muscle-derived exosomes modulate the functions of other organs and tissues during exercise

者的认知能力,并减少 $\beta$ 淀粉样蛋白的数量<sup>[57]</sup>。因此,运动中产生的外泌体含有的高水平热休克蛋白,可以穿越血脑屏障,被转运入脑细胞,从而预防和减缓阿尔茨海默病的进程<sup>[58]</sup>。

除此以外,运动中产生的外泌体还参与糖代谢调节、骨骼肌和线粒体再生。WHITHAM等<sup>[33]</sup>用超高效液相色谱-串联质谱法(UHPLC-MS/MS)对人体运动前后的血浆EVs进行了定量蛋白质分析,发现运动中大量产生的外泌体样胞外囊泡含有大量与糖酵解相关的酶蛋白,表明EVs可能参与调节受体细胞的糖代谢。此项研究也与先前的研究一致,表明外泌体可通过其含有的糖酵解酶改变受体细胞的糖酵解速率<sup>[59]</sup>。运动中产生的外泌体不仅参与调节糖代谢,还可能参与骨骼肌再生。miR-31已知可以在mRNA水平上瞬时抑制肌卫星细胞激活剂Myf5(myogenic factor 5)的翻译,这种抑制作用可使肌卫星细胞保持静息状态。而运动可能通过降低血液EVs中miR-31的水平,减少EVs中miR-31向肌卫星细胞的供给,从而降低miR-31对Myf5翻译的抑制作用,使肌卫星细胞活化,因而可能参与骨骼肌再生<sup>[46]</sup>。此外,骨骼肌外泌体还参与促进线粒体再生。研究显示,mtDNA缺失的积累会导致线粒体功能障碍。随着体细胞不断生成,细胞内mtDNA突变的积累会引发年龄依赖的肌纤维减少和少肌症<sup>[21]</sup>。而有氧耐力训练可能通过促进骨骼肌分泌外泌体,转运mtDNA等内含物,促进各个系统的线粒体再生,提高线粒体功能,因而对线粒体功能障碍性疾病产生积极影响<sup>[60]</sup>。

## 5 总结

综上所述,骨骼肌源性外泌体富含多种蛋白质、RNAs和脂质,不仅可以调节骨骼肌细胞自身的增殖、分化和再生,还可以调节神经元、心肌细胞、内皮细胞、成骨细胞等其他细胞的功能。进行体育活动时,不同运动方式会对骨骼肌外泌体的成分产生影响,而骨骼肌源性外泌体中包含的各种肌肉因子和运动因子可参与体内各个器官系统之间的信息交流,参与保护心脏、大脑等重要器官,协调运动带来的多系统益处。尽管运动中骨骼肌外泌体含有的肌肉因子和运动因子对体液内稳态的强大作用已经被广泛证实,但其分泌机制仍不清楚。而且,目前对于运动中生成的外泌体,许多研究并未确认其是否

主要来源于骨骼肌,因此后续需要开展深入研究。但毫无疑问的是,随着人们对骨骼肌分泌外泌体研究的深入,将其投入生物医药和运动健康领域应用的呼声愈来愈高,比如将运动后的运动员体内分离出的外泌体或者经过生物工程改造包含多种运动因子的外泌体用于治疗肥胖症、糖尿病等其他代谢性疾病。相信未来的研究将进一步明确骨骼肌源性外泌体的生物成分、分泌以及作用机制,为人类健康带来裨益。

## 参考文献 (References)

- [1] 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): 213-28.
- [2] SAFDAR A, TARNOPOLSKY M A. Exosomes as mediators of the systemic adaptations to endurance exercise [J]. *Cold Spring Harb Perspect Med*, 2018, 8(3): a029827
- [3] MATHIVANAN S, JI H, SIMPSON R J. Exosomes: extracellular organelles important in intercellular communication [J]. *J Proteomics*, 2010, 73(10): 1907-20.
- [4] JOHNSTONE R M, ADAM M, HAMMOND J, et al. Vesicle formation during reticulocyte maturation, association of plasma membrane activities with released vesicles (exosomes) [J]. *J Biol Chem*, 1987, 262(19): 9412-20.
- [5] COLOMBO M, RAPOSO G, THERY C. Biogenesis, secretion, and intercellular interactions of exosomes and other extracellular vesicles [J]. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 2014, 30: 255-89.
- [6] PEDERSEN B K, FEBBRAIO M A. Muscle as an endocrine organ: focus on muscle-derived interleukin-6 [J]. *Physiol Rev*, 2008, 88(4): 1379-406.
- [7] OJIMA K, OE M, NAKAJIMA I, et al. Proteomic analysis of secreted proteins from skeletal muscle cells during differentiation [J]. *EuPA Open Proteomics*, 2014, 5: 1-9.
- [8] DEMONBREUN A R, MCNALLY E M. Muscle cell communication in development and repair [J]. *Curr Opin Pharmacol*, 2017, 34: 7-14.
- [9] MOULY V, FORTERRE A, JALABERT A, et al. Proteomic analysis of C2C12 myoblast and myotube exosome-like vesicles: a new paradigm for myoblast-myotube cross talk [J]? *PLoS One*, 2014, 9(1): e84153.
- [10] SAFDAR A, SALEEM A, TARNOPOLSKY M A. The potential of endurance exercise-derived exosomes to treat metabolic diseases [J]. *Nat Rev Endocrinol*, 2016, 12(9): 504-17.
- [11] KIM H J, SONG W. Resistance training increases fibroblast growth factor-21 and irisin levels in the skeletal muscle of Zucker diabetic fatty rats [J]. *J Exerc Nutrition Biochem*, 2017, 21(3): 50-4.
- [12] LU Y, LI H, SHEN S W, et al. Swimming exercise increases serum irisin level and reduces body fat mass in high-fat-diet fed Wistar rats [J]. *Lipids Health Dis*, 2016, 15: 93.
- [13] HJORTH M, POURTEYMOUR S, GORGENS S W, et al. Myostatin in relation to physical activity and dysglycaemia and its effect on energy metabolism in human skeletal muscle cells [J]. *Acta Physiol (Oxf)*, 2016, 217(1): 45-60.

- [14] MATTHEWS V B, ASTROM M B, CHAN M H, et al. Brain-derived neurotrophic factor is produced by skeletal muscle cells in response to contraction and enhances fat oxidation via activation of AMP-activated protein kinase [J]. *Diabetologia*, 2009, 52(7): 1409-18.
- [15] PEDERSEN B K, EDWARDS R. Adolph distinguished lecture: muscle as an endocrine organ: IL-6 and other myokines [J]. *J Appl Physiol*, 2009, 107(4): 1006-14.
- [16] PEDERSEN B K, FEBBRAIO M A. Muscles, exercise and obesity: skeletal muscle as a secretory organ [J]. *Nat Rev Endocrinol*, 2012, 8(8): 457-65.
- [17] ROME S, FORTERRE A, MIZGIER M L, et al. Skeletal muscle-released extracellular vesicles: state of the art [J]. *Front Physiol*, 2019, 10: 929.
- [18] DE GASPERI R, HAMIDI S, HARLOW L M, et al. Denervation-related alterations and biological activity of miRNAs contained in exosomes released by skeletal muscle fibers [J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 12888.
- [19] PFRIEGER F W, VITALE N. Cholesterol and the journey of extracellular vesicles [J]. *J Lipid Res*, 2018, 59(12): 2255-61.
- [20] ASWAD H, FORTERRE A, WIKLANDER O P B, et al. Exosomes participate in the alteration of muscle homeostasis during lipid-induced insulin resistance in mice [J]. *Diabetologia*, 2014, 57(10): 2155-64.
- [21] GUESCINI M, GUIDOLIN D, VALLORANI L, et al. C2C12 myoblasts release micro-vesicles containing mtDNA and proteins involved in signal transduction [J]. *Exp Cell Res*, 2010, 316(12): 1977-84.
- [22] GUESCINI M, MAGGIO S, CECCAROLI P, et al. Extracellular vesicles released by oxidatively injured or intact C2C12 myotubes promote distinct responses converging toward myogenesis [J]. *Int J Mol Sci*, 2017, 18(11): 2488.
- [23] 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 [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2018, 48(5): 1829-42.
- [24] 张潜英, 李虎, 李常银, 等. 骨骼肌组织来源的外泌体促进骨骼肌干细胞增殖并抑制其分化[J]. *中国细胞生物学学报*(ZHANG Q Y, LI H, LI C Y, et al. Skeletal muscle derived-exosome promotes proliferation and inhibits differentiation of muscle stem cells [J]. *Chinese Journal of Cell Biology*), 2018, 7: 1171-8.
- [25] FORTERRE A, JALABERT A, CHIKH K, et al. Myotube-derived exosomal miRNAs downregulate sirtuin1 in myoblasts during muscle cell differentiation [J]. *Cell Cycle*, 2014, 13(1): 78-89.
- [26] PARK K S, BANDEIRA E, SHELKE G V, et al. Enhancement of therapeutic potential of mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles [J]. *Stem Cell Res Ther*, 2019, 10(1): 288.
- [27] CHOI J S, YOON H I, LEE K S, et al. Exosomes from differentiating human skeletal muscle cells trigger myogenesis of stem cells and provide biochemical cues for skeletal muscle regeneration [J]. *J Control Release*, 2016, 222: 107-15.
- [28] MADISON R D, MCGEE C, RAWSON R, et al. Extracellular vesicles from a muscle cell line (C2C12) enhance cell survival and neurite outgrowth of a motor neuron cell line (NSC-34) [J]. *J Extracell Vesicles*, 2014, 3(1): 22865.
- [29] 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 [J]. *Aging Cell*, 2020, 19(5): e13107.
- [30] SU X, JIN Y, SHEN Y, et al. Exosome-derived dystrophin from allograft myogenic progenitors improves cardiac function in duchenne muscular dystrophic mice [J]. *J Cardiovasc Transl Res*, 2018, 11(5): 412-9.
- [31] VICENCIO J M, YELLON D M, SIVARAMAN V, et al. Plasma exosomes protect the myocardium from ischemia-reperfusion injury [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2015, 65(15): 1525-36.
- [32] BEI Y, XU T, LV D, et al. Exercise-induced circulating extracellular vesicles protect against cardiac ischemia-reperfusion injury [J]. *Basic Res Cardiol*, 2017, 112(4): 38.
- [33] WHITHAM M, PARKER B L, FRIEDRICHSEN M, et al. Extracellular vesicles provide a means for tissue crosstalk during exercise [J]. *Cell Metab*, 2018, 27(1): 237-51, e4.
- [34] JALABERT A, VIAL G, GUAY C, et al. Exosome-like vesicles released from lipid-induced insulin-resistant muscles modulate gene expression and proliferation of beta recipient cells in mice [J]. *Diabetologia*, 2016, 59(5): 1049-58.
- [35] NIE Y, SATO Y, GARNER R T, et al. Skeletal muscle-derived exosomes regulate endothelial cell functions via reactive oxygen species-activated nuclear factor-kappaB signalling [J]. *Exp Physiol*, 2019, 104(8): 1262-73.
- [36] XU Q, CUI Y, LUAN J, et al. Exosomes from C2C12 myoblasts enhance osteogenic differentiation of MC3T3-E1 pre-osteoblasts by delivering miR-27a-3p [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 498(1): 32-7.
- [37] FRY C S, KIRBY T J, KOSMAC K, et al. Myogenic progenitor cells control extracellular matrix production by fibroblasts during skeletal muscle hypertrophy [J]. *Cell Stem Cell*, 2017, 20(1): 56-69.
- [38] 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 [J]. *Aging (Albany NY)*, 2019, 11(6): 1791-803.
- [39] ZHANG A, LI M, WANG B, et al. miRNA-23a/27a attenuates muscle atrophy and renal fibrosis through muscle-kidney crosstalk [J]. *J Cachexia Sarcopenia Muscle*, 2018, 9(4): 755-70.
- [40] FRUHBEIS C, HELMIG S, TUG S, et al. Physical exercise induces rapid release of small extracellular vesicles into the circulation [J]. *J Extracell Vesicles*, 2015, 4: 28239.
- [41] VECCHETTI I J, J R., VALENTINO T, MOBLEY C B, et al. The role of extracellular vesicles in skeletal muscle and systematic adaptation to exercise [J]. *J Physiol*, 2020, doi: 10.1113/JP278929.
- [42] PETERSEN T N, BRUNAK S, VON HEIJNE G, et al. SignalP 4.0: discriminating signal peptides from transmembrane regions [J]. *Nat Methods*, 2011, 8(10): 785-6.
- [43] SAVINA A, FURLAN M, VIDAL M, et al. Exosome release is regulated by a calcium-dependent mechanism in K562 cells [J]. *J Biol Chem*, 2003, 278(22): 20083-90.
- [44] TROVATO E, DI FELICE V, BARONE R. Extracellular vesicles: delivery vehicles of myokines [J]. *Front Physiol*, 2019, 10: 522.
- [45] MACALUSO F, ISAACS A W, DI FELICE V, et al. Acute change of titin at mid-sarcomere remains despite 8 wk of plyometric training [J]. *J Appl Physiol*, 2014, 116(11): 1512-9.
- [46] LOVETT J A C, DURCAN P J, MYBURGH K H. Investigation of circulating extracellular vesicle microRNA following two con-

- secutive bouts of muscle-damaging exercise [J]. *Front Physiol*, 2018, 9: 1149.
- [47] GARNER R T, SOLFEST J S, NIE Y, et al. Multivesicular body and exosome pathway responses to acute exercise [J]. *Exp Physiol*, 2020, 105(3): 511-21.
- [48] ISNER-HOROBETI M E, RASSENEUR L, LONSDORFER-WOLF E, et al. Effect of eccentric versus concentric exercise training on mitochondrial function [J]. *Muscle Nerve*, 2014, 50(5): 803-11.
- [49] YIN X, ZHAO Y, ZHENG Y L, et al. Time-course responses of muscle-specific microRNAs following acute uphill or downhill exercise in Sprague-Dawley rats [J]. *Front Physiol*, 2019, 10: 1275.
- [50] STANFORD K I, GOODYEAR L J. Muscle-adipose tissue cross talk [J]. *Cold Spring Harb Perspect Med*, 2018, 8(8): a029801.
- [51] NIELSEN S, SCHEELE C, YFANTI C, et al. Muscle specific microRNAs are regulated by endurance exercise in human skeletal muscle [J]. *J Physiol*, 2010, 588(Pt 20): 4029-37.
- [52] SAFDAR A, ABADI A, AKHTAR M, et al. miRNA in the regulation of skeletal muscle adaptation to acute endurance exercise in C57Bl/6J male mice [J]. *PLoS One*, 2009, 4(5): e5610.
- [53] OOI J Y, BERNARDO B C, MCMULLEN J R. The therapeutic potential of miRNAs regulated in settings of physiological cardiac hypertrophy [J]. *Future Med Chem*, 2014, 6(2): 205-22.
- [54] HOU Z, QIN X, HU Y, et al. Long term exercise-derived exosomal miR-342-5p: a novel exerkin for cardioprotection [J]. *Circ Res*, 2019, 124(9): 1386-400.
- [55] MATSUMOTO J, STEWART T, BANKS W A, et al. The transport mechanism of extracellular vesicles at the blood-brain barrier [J]. *Curr Pharm Des*, 2017, 23(40): 6206-14.
- [56] CALDERWOOD S K, MURSHID A. Molecular chaperone accumulation in cancer and decrease in Alzheimer's disease: the potential roles of HSF1 [J]. *Front Neurosci*, 2017, 11: 192.
- [57] SUN Y, ZHANG J R, CHEN S. Suppression of Alzheimer's disease-related phenotypes by the heat shock protein 70 inducer, geranylgeranylacetone, in APP/PS1 transgenic mice via the ERK/p38 MAPK signaling pathway [J]. *Exp Ther Med*, 2017, 14(6): 5267-74.
- [58] LOUZADA R A, BOUVIERE J, MATTA L P, et al. Redox signaling in widespread health benefits of exercise [J]. *Antioxid Redox Signal*, 2020, doi: 10.1089/ars.2019.7949.
- [59] GARCIA N A, MONCAYO-ARLANDI J, SEPULVEDA P, et al. Cardiomyocyte exosomes regulate glycolytic flux in endothelium by direct transfer of GLUT transporters and glycolytic enzymes [J]. *Cardiovasc Res*, 2016, 109(3): 397-408.
- [60] SAFDAR A, BOURGEOIS J M, OGBORN D I, et al. Endurance exercise rescues progeroid aging and induces systemic mitochondrial rejuvenation in mtDNA mutator mice [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, 108(10): 4135-40.