

[DOI]10.12016/j.issn.2096-1456.2020.01.001

· 专家论坛 ·

干细胞外泌体在再生医学中的研究与应用

叶青松^{1, 2, 3}, 胡凤婷², 罗丽花², Maria Troulis³

1. 澳大利亚昆士兰大学牙学院, 澳大利亚 布里斯班(4006); 2. 温州医科大学口腔医学院干细胞与组织工程研究所, 浙江 温州(325035); 3. 哈佛大学麻省总医院, 哈佛大学牙学院口腔颌面外科, 美国 波士顿(02114)



【通信作者简介】 叶青松, 口腔医学博士, 医学科学博士, 教授, 研究员, 博士生导师, 博士后合作导师。先后于四川大学华西口腔医学院获医学学士(口腔)、硕士(正畸学方向)和博士(正畸学方向)学位。2006-2010年在荷兰格罗宁根大学医学中心从事干细胞与组织工程研究并获医学科学博士学位(干细胞与组织工程方向)。曾任职于澳大利亚詹姆斯库克大学、昆士兰大学和温州医科大学, 现任昆士兰大学——温州医科大学口腔干细胞与组织工程联合实验室主任, 哈佛大学麻省总医院及哈佛大学牙学院口腔颌面外科特聘研究员和访问教授。担任《Stem Cell International》专刊主编(2017-2018)、《Journal of Clinical & Investigative Dentistry》副主编(2014-)、澳洲Begg正畸协会执委会常委(2010-), 世界牙科研究会FNQ区主席(2014-2016)以及首届亚太正畸与牙周论坛主席(2014)。是口腔循证医学实践的先行者和倡导者, 发表多篇Cochrane系统评价论文, 参编人民卫生出版社出版的研究生教材《口腔循证医学》(第一、二版)。先后入选英国爱丁堡皇家外科学院院士(正畸)、英国皇家医学学会会士(遴选)、中组部国家青年千人计划以及国际牙医师学院(澳洲区)院士。

【摘要】 干细胞是一类具有高度自我更新以及快速增殖能力的未分化多能细胞。在特定的条件下, 干细胞可向人体其他组织细胞如骨骼肌细胞、心肌细胞、成骨细胞以及神经样细胞等进行诱导分化。近年来, 随着组织工程与再生医学的发展, 干细胞作为优秀的种子细胞被广泛应用于再生医学各个领域, 但依然存在着移植后细胞存活率和再生能力下降、出现免疫排斥、伦理监管等问题, 因此很难普遍而安全地使用干细胞银行来进行再生医学应用。干细胞的旁分泌作用自被发现以来, 受到了极大的关注, 越来越多的证据支持干细胞以旁分泌方式活动的观点, 尤其是外泌体的分泌对其生物学功能起着至关重要的作用。外泌体是一类纳米级胞外囊泡, 内含RNA、蛋白质等生物活性分子, 与干细胞有着相类似的功能, 在细胞通讯、免疫应答、修复组织损伤等方面有着不可忽略的作用。目前在骨/软骨组织修复、神经组织再生、肝肾组织再生、肌肉组织修复、血管组织再生、味蕾再生、牙再生等领域也已开展了关于干细胞外泌体在组织工程与再生医学方面的临床前期研究。本文将从外泌体的组成、形成释放、鉴定等方面详细地介绍外泌体, 并阐述不同干细胞来源的外泌体在组织工程与再生医学中的研究现状, 对其广阔的应用前景进行展望。

【关键词】 干细胞; 外泌体; 胞外囊泡; 组织工程; 再生医学; 骨再生; 软骨再生; 牙再生; 血管再生; 临床前研究

【中图分类号】 R78 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 2096-1456(2020)01-0001-10

【引用著录格式】 叶青松, 胡凤婷, 罗丽花, 等. 干细胞外泌体在再生医学中的研究与应用[J]. 口腔疾病防治, 2020, 28(1): 1-10.

Research and application of stem cell - derived exosomes in regenerative medicine YE Qingsong^{1,2,3}, HU



开放科学(资源服务)标识码(OSID)

【收稿日期】 2019-05-15; **【修回日期】** 2019-07-12

【基金项目】 澳中科学研究基金(ACSRF14); 温州市高校科协“产学研”融合创新项目【温科协[2018]105号】; 温州市基础性科研项目(Y20180131)

【通信作者】 叶青松, 教授, 博士, Email: qye4@mgh.harvard.edu; qingsongye@hotmail.com, Tel: 86-571-88017559

Fengting², LUO Lihua², Maria Troulis³. 1. School of Dentistry, University of Queensland, Brisbane 4006, Australia; 2. Institute of Stem Cells and Tissue Engineering, School of Stomatology, Wenzhou Medical University, Wenzhou 325035, China; 3. Department of Oral and Maxillofacial Surgery, Massachusetts General Hospital and Harvard School of Dental Medicine, Boston 02114, USA

Corresponding author: YE Qingsong, Email: qye4@mgh.harvard.edu;qingsongye@hotmail.com, Tel: 86-571-88017559

【Abstract】 Stem cells are a class of undifferentiated cells with high self-renewal and rapid proliferative capabilities. Under certain conditions, stem cells can induce differentiation into other tissue cells of the human body, such as skeletal muscle cells, cardiomyocytes, osteoblasts, and nerve-like cells. In recent years, with the development of tissue engineering and regenerative medicine, stem cells have been extensively used in various fields of regenerative medicine as optimal seeded cells; however, there are still some problems, such as the decreased cell survival rate and regenerative capacity after transplantation, immune rejection, and ethical supervision. Therefore, it is difficult to universally and safely use stem cell banks for regeneration applications. The paracrine effect of stem cells has been extensively studied since its discovery. Increasing evidence supports the view that stem cells act in paracrine manner, and the secretion of exosomes plays a vital role in their biological functions. Exosomes are nanoscale extracellular vesicles containing biologically active molecules such as RNA and proteins; they possess similar functions to stem cells and play important roles in cell communication, immune response, and repair of tissue damage. At present, clinical studies on stem cell exosomes in tissue engineering and regenerative medicine have also been carried out in the fields of bone and cartilage repair, nerve tissue regeneration, liver tissue regeneration, skeletal muscle tissue engineering, vascular regeneration, taste bud repair, tooth regeneration, etc. In this paper, the composition, formation, release and identification of exosomes are introduced in detail. The research status of exosomes from different stem cell sources in tissue engineering and regenerative medicine is described, and their broad application prospects are discussed.

【Key words】 stem cells; exosomes; extracellular vesicles; tissue engineering; regenerative medicine; bone regeneration; cartilage regeneration; tooth regeneration; angiogenesis; preclinical study

J Prev Treat Stomatol Dis, 2020, 28(1): 1-10.

外泌体是一类包载有生物活性分子如脂类、核酸、蛋白质等的膜性囊泡,直径大小约为30~100 nm,是已知的最小的胞外囊泡^[1]。外泌体可由绝大多数类型的细胞分泌产生,如肿瘤细胞、内皮细胞等;亦可存在于血液、脑脊液及乳汁等体液中^[2]。外泌体的功能主要有赖于其来源细胞的类型,可参与细胞通讯、免疫应答、抗原呈递、RNA及蛋白质转运^[3]以及肿瘤侵袭^[4-5]等多方面的调控作用。干细胞因来源丰富、取材简便安全、低免疫原性等优点已被作为种子细胞在组织工程和再生医学领域得到广泛关注,且其与外泌体相关的作用机制已成为当前研究的重点和热点。目前,大量研究证明,干细胞主要经旁分泌作用,尤其是外泌体来介导干细胞的生物学功能并诱导其向多种类型细胞进行分化^[6-7]。干细胞来源的外泌体具有与干细胞相近的功能,如促进组织修复和再生等;同时,利用外泌体治疗又可以规避干细胞移植的风险,如免疫排斥反应、干细胞再生能力降低、致瘤性等^[8-9]。因此,干细胞外泌体有可能成为干细胞

疗法在组织修复及再生医学研究领域中有前景的一种替代疗法。

1 外泌体的组成及生理作用

蛋白质在外泌体内容物中的占比较大且种类多样,主要分为两大类,一类是普遍存在于外泌体表面或内腔中并参与其结构构成的蛋白质,包括骨架蛋白、膜转运和融合相关蛋白、热休克蛋白、四跨膜蛋白超家族成员以及多泡小体形成相关蛋白等;另一类是具有一定的特异性,并与其细胞来源有关的蛋白,如富含主要组织相容性复合体-I、CD80相关蛋白的血小板来源外泌体;富含转化生长因子- β 、凋亡相关因子配体相关蛋白的肿瘤细胞来源外泌体等^[10]。

外泌体区别于其他生物囊泡的一大特征就是含有大量的核酸如双链DNA(dsDNA)、信使RNA(mRNA)、微小RNA(miRNA)、转运RNA(tRNA)以及长非编码RNA(lncRNA)等^[11]。近年来,一些研究证明miRNA与疾病的发生发展、转归有着密不

可分的关系。Cheng等^[12]发现肿瘤来源的外泌体分泌产生的生物标志物 microRNA-146a-5p 可促进肿瘤的发生;Cui等^[13]证实了外泌体 miRNA-224 作为一种肿瘤启动子,与肝细胞癌的发生发展有着密切的联系,并且可作为肝细胞癌患者诊断和预后的指标;Hunsaker^[14]等研究发现口腔癌外泌体中 miR-21、miR-155 等的表达水平可以用作评价相关抗肿瘤药物的作用机制和途径。此外,由于外泌体中的 miRNA 体积小,又能避免 RNA 酶的降解,因此,可以较长时间稳定地存在于体内,使得外泌体 miRNA 已成为一种理想的疾病诊断和预后生物标记物。除了辅助癌症诊断之外,外泌体 miRNA 在心血管疾病等慢性疾病上也起着同样的作用^[15]。外泌体的这些生理作用对于其在再生医学领域,如骨组织再生等的应用,也有着密切的关联性^[16]。

外泌体具有脂双层结构,含有丰富的胆固醇、鞘磷脂、磷脂等,并含有一些功能性的脂类酶。同时,外泌体所含的脂质种类因其来自不同的细胞而会有一定的区别^[17]、这些脂质分子不但可以保持外泌体正常的外形结构,而且可以参与多种生物学活性过程,如激发钙内流、调节外泌体分泌等^[18]。

2 外泌体的形成与释放

多种类型的细胞均可产生并分泌外泌体,同时外泌体也广泛存在于体液中,如血液、母乳、腹水等;并存在于大多数细胞的培养基中^[19]。早期外泌体通过非网格蛋白或网格蛋白介导的内吞作用而形成,其形成释放过程是母细胞在刺激作用下如 DNA 损伤、缺氧等^[20],将颗粒状物质包裹到质膜后内陷形成多泡小体 (multivesicular bodies, MVBs),然后多泡小体与母细胞质膜上的特定部位融合形成芽泡,最后母细胞将形成的芽泡以外泌的形式释放到细胞外^[21]。迄今为止,外泌体的形成与释放机制尚未完全了解,已知的内体分选复合体 (endosomal sorting complexes required for transport, ESCRTs) 在外泌体的形成、分选和分泌过程中担任着一个关键角色,是一种多蛋白复合物,可分为 ESCRT-0、ESCRT-I、ESCRT-II、ESCRT-III。另外,相关研究表明,ESCRT-非依赖性途径也参与了外泌体的分泌^[22],在 ESCRTs 四个亚单位同时沉默的情况下,MVBs 仍可以产生。

外泌体以出芽方式释放到胞外后,可以通过旁分泌和内分泌两种方式作用于受体细胞^[23],并通过交换遗传信息和(或)调控某些基因表达,参与调节

受体细胞的各种生物学过程^[24],最终达到改变靶细胞的表型和(或)遗传型的效果。同时,靶细胞内化外泌体的途径各式各样^[25-26],如胞吞作用、配体-受体作用以及与目标细胞细胞膜直接融合等。

3 外泌体的富集与鉴定

目前,从细胞培养基或体液中富集外泌体的方法有多种,如超速离心法、密度梯度离心法、免疫磁珠法、试剂盒提取法等。超速离心法作为外泌体提取的金标准,其操作简便、产量高、不易被污染,但提取到的外泌体常含有凋亡小体等杂质,存在纯度不高等缺点;经密度梯度离心法获取得到的外泌体综合产量好且较纯,但操作流程异常繁琐、费时费力;采用免疫磁珠法提取的外泌体特异性高,但对产品的要求严格、产量不高;试剂盒法则操作简便、产量高且工作效率高。随着对外泌体的研究越来越多,一些新的收集方法也相继被研发出来,包括纳米横向位移阵列^[27],纳米定位位移 (nano-deterministic lateral displacement, nano-DLD)^[28]和聚乙二醇法^[29]等。其中,nano-DLD 技术可以根据外泌体的大小对其进行分析、分类和收集,该方法具有良好的生物学功能,便于单颗粒外泌体的分析,不需要特殊标记,样本量小,且无破坏性^[29]。聚乙二醇法是由一种病毒分离法演变而来,先采用低速离心法富集外泌体,再以超速离心法进行进一步的纯化。Rider等^[29]采用该方法提取了外泌体并进行检测,发现总蛋白和核糖核酸在量和质上足以满足蛋白质组学和测序分析的要求,证明了这种分离方法在生物标记物和诊断中的应用;同时,该方法对外泌体的生物学活性没有负性作用。

外泌体的鉴定主要根据形态、体积大小以及表面标记蛋白来进行检测,电子显微镜检测、纳米粒子示踪分析^[30]、流式细胞术^[31]、蛋白质印迹法^[32]和酶联免疫吸附试验等都是常用的检测手段。电子显微镜是最常用的鉴定方法,通过扫描电子显微镜以及透射电子显微镜可直观地认识外泌体的表面及内部结构;此外,外泌体携带的蛋白质均可通过流式细胞术、蛋白质印迹法和酶联免疫吸附试验等进行检测。

4 外泌体的优点

4.1 外泌体来源丰富、收集简便

外泌体来源丰富且产量高,多种类型的细胞

均可产生并分泌外泌体,且每个细胞平均能产生1 000~10 000个外泌体。通过超速离心法等方法可从各种体液或培养基中提取外泌体;同时,也可以通过特制的细胞株进行大规模的生产外泌体。相比干细胞而言,外泌体的获取方法极为简便,大大节省了提取和扩增干细胞的成本和时间。

4.2 外泌体稳定性高、可长期存储

外泌体体积约是干细胞的百万分之一,复杂性更低,且其结构稳定,不易被分解,易于生产和存储。当前研究^[30]发现-20℃保存1周以内对外泌体并无影响,而-80℃条件下外泌体则可长期储存,且外泌体的活性可长期维持。

4.3 外泌体具有更好的安全性、可规避干细胞治疗风险

目前,基于干细胞的治疗方法存在移植后的干细胞生存率和再生能力下降、出现免疫排斥反应等问题。以外泌体作为治疗因子的“无细胞”疗法则可以避免上述可能出现的问题,由于外泌体膜结合蛋白含量较低,即使是在同种异体给药后出现免疫排斥的可能性也非常低^[2]。另外,外泌体不具备增殖分裂能力,所以不存在形成肿瘤的可能性。因此,外泌体在临床应用过程中比干细胞具有更好的安全性。

4.4 外泌体是一种理想的载体

外泌体可将自身携带的活性物质转移到受体细胞内进行细胞-细胞间信息交换,因此,外泌体可以作为某些药物、生物大分子等的有效载体应用于临床前期或临床研究。Vader等^[33]研究表明,外泌体因其极小的体积甚至可以进入到深层的组织内部,不仅可以防止生物分子被降解从而保持良好的活性,还可以促进生物分子被内化进入到受体细胞内。Sun等^[34]于2010年首次运用外泌体作为运载工具携带并运输姜黄素,发现外泌体包裹的姜黄素结构稳定,溶解能力提高,血药浓度更集中,且抗炎作用也在一定程度上也有所增强;动物实验也证明了外泌体包裹的姜黄素可以保护小鼠免受脂多糖所致的感染性休克。此外,与其他非宿主运载工具不同,外泌体作为一种潜在的载体更具有优势,因其低免疫原性决定了其不会引起免疫排斥反应以及其他并发症。

4.5 外泌体应用范围广泛

当前,干细胞外泌体在软骨再生、骨再生、皮肤再生、血管再生、味蕾再生、神经组织再生、牙再生、骨骼肌再生、心肌再生、肝脏组织再生、肾脏组

织再生、肺组织再生等方面已有了大量的基础实验,证明了干细胞外泌体在组织再生方面有着巨大的潜能,为最终实现临床应用迈进了一大步。

5 干细胞外泌体的临床前研究

5.1 软骨再生

目前,研究者们已进行了大量的动物实验以及临床前研究,证明了间充质干细胞在软骨修复中的有效性,且其疗效大多数归因于旁分泌途径,特别是外泌体的分泌。Zhang等^[35]对大鼠股骨远端向滑车沟上形成了骨软骨缺损,术后在关节内注射人胚胎间充质干细胞外泌体100 μg治疗,术后组织学分析结果表明,外泌体处理组透明软骨表面均一光滑,并与周围软骨融合充分;Zhang等^[36]在随后的介导的软骨修复机制研究中发现,间充质干细胞外泌体可通过增强软骨细胞增殖能力、减少细胞程序性死亡和介导免疫反应来实现软骨修复。

5.2 骨再生

骨再生是对成骨细胞、破骨细胞、骨细胞、软骨细胞和内皮细胞等不同类型细胞活动的时空协同调节。Furuta及其团队将间充质干细胞外泌体作用于骨折小鼠模型,与对照组相比,实验组骨折愈合所需时间较短^[37],证明干细胞外泌体有着良好的促进骨再生能力。与干细胞相比,外泌体更安全,取材更方便,目前已成为骨再生领域的研究热点。Zhang等^[38]将β-磷酸三钙(β-tricalcium phosphate, β-TCP)制成直径5 mm、深2 mm、平均孔隙500 μm的支架,无菌条件下将人骨髓间充质干细胞来源的诱导多能干细胞(iPSCs)的外泌体涂抹在β-TCP支架上,4 h后吸收完全;然后将SD大鼠麻醉后,用电钻在颅骨两侧构建颅骨缺损;最后,将β-TCP支架植入缺损区域内,分为β-TCP组、β-TCP+exos组(外泌体浓度为 5×10^{11} 个/mL、 10^{12} 个/mL)。术后8周,取颅骨经组织学和免疫组织化学检测发现,与β-TCP组相比,Exosome/β-TCP复合支架组具有更强的成骨作用。体外实验通过基因表达谱和生物信息学分析结果表明,Exosome/β-TCP复合支架显著改变了磷脂酰肌醇3-激酶/丝氨酸/苏氨酸激酶(phosphatidylinositol-3-kinases/serine/threonine kinase, PI3K/AKT)信号通路相关基因网络的表达。Jia等^[39]从大鼠内皮祖细胞外泌体局部注射到大鼠牵张后胫骨间隙中,评价内皮祖细胞外泌体对骨再生和血管生成的影响,结果表明外泌体

通过刺激血管生成,促进了牵张成骨这一过程中的骨再生。因此,外泌体可大大提高牵张成骨治疗骨缺损的质量和减少临床诊治所需的时间。

5.3 皮肤再生

软组织创伤治疗过程中,如何防止瘢痕形成是一大难点。瘢痕形成是肉芽组织逐渐纤维化的过程,各类免疫细胞先后消失,毛细血管退化,仅存少量小动脉及小静脉。Hu等^[40]研究表明,脂肪间充质干细胞外泌体可被成纤维细胞摄取内化,在外泌体作用下成纤维细胞有着优于对照组的增殖能力、迁移能力以及胶原生成能力。在小鼠背部造成1.5 cm × 1.0 cm的皮肤缺损伤口,实验组为静脉注射以及局部注射脂肪间充质干细胞外泌体,并以注射磷酸缓冲盐溶液作为阳性对照组,阴性对照组则不做任何治疗,在术后1、5、7、14、21 d的固定时间点采集背部创面闭合显像。结果表明,实验组较对照组(未治疗组和磷酸盐缓冲液处理组)创面闭合时间减少。静脉注射组在术后7 d伤口关闭50%,术后14 d伤口关闭75%,术后21 d伤口大部分关闭,约90%,且静脉注射外泌体的效果优于局部注射;静脉注射治疗组I、Ⅲ型胶原两种胶原含量最高,且在术后5 d达到峰值。该研究证实,脂肪间充质干细胞外泌体可以缩短小鼠皮肤切口创面愈合时间,并减少瘢痕形成,表明脂肪间充质干细胞外泌体在软组织伤口愈合过程中有着广阔的临床应用前景。Shi等^[41]利用脱乙酰甲壳素/丝素蛋白凝胶海绵作为牙龈间充质干细胞外泌体的载体,研究其对糖尿病大鼠皮肤损伤恢复的效果,通过创面面积测定、组织学、免疫组织化学和免疫荧光分析等方法检测,结果表明牙龈间充质干细胞外泌体能在一定程度上加快糖尿病皮肤创面的修复。

5.4 血管再生

间充质干细胞在诱导和促进血管生成中的作用机制还有待于进一步的研究,但其外泌体很有可能参与了这一过程,相关研究表明使用不含有外泌体的条件培养基会使血管生成过程受到影响^[42]。随着进一步的研究探讨,发现血小板衍生生长因子^[43]或外泌体中的mRNA及miRNA^[44]与血管再生有着密切关系。因此,外泌体在血管再生领域也成为了一个新焦点。研究表明,核因子-κB(nuclear factor-kappa B, NF-κB)信号是间充质干细胞外泌体在内皮细胞血管生成中的主要调控者^[45]。间充质干细胞外泌体被人脐静脉内皮细胞

内化后,内皮细胞显示出高于正常的增殖和迁移能力,且血管形成能力也有所提升,而新的血管形成是血管再生中的关键点。Anderson等^[45]相关研究证明间充质干细胞外泌体的功能可能是由蛋白质介导,而蛋白质又受到微环境的影响。Anderson等^[4-5]将间充质干细胞置于外周动脉疾病(动脉粥样硬化导致的血管狭窄、阻塞的缺血性疾病等)样微环境中,干细胞呈现多种血管生成相关蛋白如血小板衍生生长因子等高表达状态。另外,研究结果进一步表明外周动脉疾病样微环境对外泌体的分泌具有一个正向的促进作用,使其血管形成能力得到一定的提升,并证实了这一过程是通过NF-κB通路实现的。miRNA作为外泌体内容物中一个重要的组成成分,也参与其中,可能是通过微调细胞的增殖、分化与归巢来发挥作用的。其中,miRNA-6087可调控内皮细胞的分化;miRNA-222、miRNA-21等可调节血管生成^[46]。如何提高基于外泌体的“无细胞”治疗的成血管效果,是外泌体应用于临床研究的关键因素之一。同时,不同来源的间充质干细胞所分泌的外泌体的成血管能力有所差别,在未来探索过程中需要科学家们花更多的精力去筛选出最适合用于血管再生的干细胞外泌体来源。另外,外泌体可以通过“改性”来优化成血管性能,如负载成血管因子等。

5.5 味蕾再生

口腔癌近年来发病人群持续增多,其中舌癌较为多见。常规治疗方法即通过外科手术切除癌变组织,后期以皮瓣移植修复缺损,这种治疗方法虽然恢复了舌的形态,但无法恢复味觉功能等。Zhang等^[47]以大鼠舌缺损模型为研究对象,证明了将牙龈间充质干细胞或其外泌体与小肠黏膜下层细胞外基质联合可促进舌乳头再生。目前,仍需要更多的实验来阐明干细胞及其外泌体在味蕾再生中的生物学机制,为当前口腔癌术后味蕾再生的治疗提供一种新的治疗思路,提升患者术后生活质量。

5.6 神经组织再生

外泌体在神经系统中也扮演着重要角色,可促进神经系统中的细胞间通讯,参与神经元的发育、再生、突触功能调节^[48]和维持神经系统的正常功能。牙髓干细胞具有独特的神经源性特性,本身即可表达巢蛋白等神经标志蛋白。Jarmalavičiūtė等^[49]研究表明乳牙牙髓干细胞外泌体,能够抑制6-羟基-多巴胺诱导的人多巴胺能神经元的凋亡。

随后。越来越多的研究证实,外泌体对中风和神经损伤后的神经恢复有着非常重要作用。Zhang等^[50]对大鼠外伤性脑损伤后采用骨髓间充质干细胞产生的外泌体进行治疗,对脑损伤后的功能恢复十分有利,一方面促进血管重塑和神经轴突生长及突触发生,另一方面抑制神经炎症因子的产生。目前,大量动物实验表明外泌体在神经系统中具有较好的修复作用,如外泌体可应用于脊髓损伤^[51]、脑卒中^[52]等。

5.7 牙再生

Jiang等^[53]研究发现牙齿发育过程中上皮-间充质细胞外泌体可参与两种细胞间发育诱导信号的传递过程,并且其所携带的信号传递具有方向性、细胞特异性。上皮细胞外泌体诱导间充质细胞产生牙本质涎蛋白(dentin sialoprotein, DSP)并发生矿化,间充质细胞外泌体诱导上皮细胞产生基底膜成分、成釉细胞蛋白和釉蛋白;反之,外泌体的衰减则导致基底膜形成的破坏和牙釉质、牙本质形成的减少,并证实这一过程主要是由外泌体中携带的miRNA-135a激活Wnt通路所实现的。Li等^[54]发现miR-133b以外泌体形式传递到发育中的牙胚,对牙齿形态发生发挥调控作用。以上这些重大发现不仅补充了牙齿发育过程中的机制,同时也为外泌体应用于牙齿再生领域提供了坚实的理论基础。Hu等^[55]从体外正常培养以及牙源性分化条件下培养的牙髓干细胞上清液中提取得到外泌体,分别命名为UN-Exo和OD-Exo,通过Ion Torrent/MiSeq Sequencing发现OD-Exo中共28种microRNA发生了改变,其中7种增加,21种减少。体外实验发现UN-Exo处理牙髓干细胞后较对照组只提高了牙髓干细胞中DSP的表达,而OD-Exo被内吞后则通过上调DSP、牙本质基质蛋白-1(dentin matrix protein-1, DMP-1)、碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)和Runt相关转录因子2(runt-related transcription factor-2, RUNX2),触发牙髓干细胞的牙源性分化。进一步的研究表明外泌体中的microRNA可上调转化生长因子 β 1(transforming growth factor- β 1, TGF- β 1)、转化生长因子受体1(transforming growth factor receptor1, TGFR1)、p-Smad 2/3和Smad 4在牙髓干细胞中激活TGF- β 1通路。

牙髓组织的不可逆损伤可由龋病、外伤、牙周炎逆行性感染等因素造成,主要治疗手段是根管治疗,但存在牙齿抗力下降、脆性大、易折断等缺

点。因此,保持牙齿活髓功能是维持牙齿生物学功能的关键。

Huang等^[56]利用牙源性条件下牙髓干细胞外泌体作用于牙髓干细胞以及骨髓间充质干细胞,结果表明,牙髓干细胞和骨髓间充质干细胞能够以剂量依赖性和内吞性可饱和的方式将外泌体内吞,并激活p38丝裂原活化蛋白激酶(p38 mitogen-activated protein kinases, p38 MAPK)通路以诱导干细胞分化和组织再生。另外,在体内牙根切片模型上也证实了牙髓干细胞外泌体可以触发牙髓样组织的再生,并且在软组织与牙本质交界处DMP-1和DSP表达显著增强。综上所述,研究表明外泌体可以作为诱导干细胞谱系特异性分化的仿生工具,同时,进一步表明了外泌体供体细胞的来源以及状态对干细胞分化以及组织再生治疗效果的重要性。Xian及其团队^[57]证实了牙髓干细胞外泌体可增强血管内皮细胞的增殖以及成血管能力,并验证了该作用是通过p38 MAPK信号通路实现的。血管生成对于感染牙髓和移植的牙髓组织的存活是不可缺少的过程,外泌体的促血管生成性能使得其在牙髓再生中展现出巨大潜能。

5.8 骨骼肌再生

Yoshihiro等^[58]将间充质干细胞外泌体注入到由心肌毒素诱导的小鼠胫骨前肌损伤部位,以注射等量磷酸缓冲盐溶液作为对照组,通过组织学相关评价证明了外泌体的确具备促进血管生成和肌肉再生的能力。同时,为了进一步探讨外泌体促进肌肉再生的机制,对小鼠成肌细胞进行miRNA-494基因转染,以siRNA作为对照,24 h后发现小鼠成肌细胞出现了肌源性分化。因此,miRNA-494很可能是外泌体促进骨骼肌再生过程中的媒介之一。目前,关于外泌体促进骨骼肌再生的相关分子生物学机制尚未完全了解,需要进行更多的研究去论证,为以后临床应用打下坚实的临床前实验基础。

5.9 心肌再生

心肌疾病是以心肌病变为表现的一类疾病,在世界范围内有着高发病率和死亡率高。由于心肌受损后心脏再生能力下降,改善心脏功能成了一个较棘手的问题。干细胞外泌体为心肌疾病提供了一种有前景的治疗方案。Wang等^[59]采用新生儿心肌细胞和人脐静脉内皮细胞共培养的方法,体外观察其外泌体分泌及其对细胞的作用,并采用大鼠模型比较心肌内注射人骨髓间充质干细

细胞、脂肪干细胞和人子宫内膜来源间充质干细胞的治疗效果。结果表明,人子宫内膜来源的间充质干细胞较其余两种干细胞具有更好的心脏保护作用,并增强了微血管密度;相关抑制剂研究发现,细胞治疗的效果主要由外泌体中的 miRNA-21 介导,miRNA-21 进入受体细胞后,抑制下游靶点同源性磷酸酶-张力蛋白(phosphatase and tensin homologue deleted on chromosome 10, PTEN)从而增加蛋白激酶 B(protein kinase B, PKB)磷酸化,在细胞凋亡和血管生成中发挥重要作用。Bian 等^[60]对 Wistar 大鼠进行急性心肌梗死造模,造模成功后心肌内注射人骨髓间充质干细胞来源的外泌体,经血流动力学分析、心脏功能评价等发现外泌体可以改善大鼠的血流恢复,并缩小梗死面积。Zhang 等^[61]相关研究表明,利用间充质干细胞外泌体预处理,可促进心脏干细胞的增殖、迁移和血管新生,并在一定范围内促进效果随外泌体浓度变化而出现改变。

5.10 肝脏组织再生

肝脏是人体消化系统中最大的器官,也是体内少数几个具有再生潜能的器官之一,它通过正常肝细胞的复制而再生。这种保护机制在肝损伤中有着重大意义,但是当损伤达到引起功能障碍的情况下,这种保护机制反而会导致更严重的结果,如出现急性肝功能衰竭等。肝病的病因有很多,且中国是乙肝高发地区,所以发掘一种有效的治疗方法是大势所趋。Tan 等^[62]将间充质干细胞外泌体经脾内注射于药物性肝损伤小鼠模型,通过血清学及组织化学评价来评估肝损伤的治疗效果,结果显示外泌体可以改善肝损伤;随后的对乙酰氨基酚(acetaminophen, APAP)和过氧化氢(hydrogen peroxide, H₂O₂)体外肝损伤模型研究结果表明,外泌体可以通过诱导位于静止期(G0)的肝细胞在 APAP 或 H₂O₂ 诱导损伤后重新进入细胞周期(G1),从而调节肝细胞的增殖;同时,外泌体也可以增强 G1 期转录因子的表达。Damania 等^[63]将骨髓间充质干细胞外泌体作用于对乙酰氨基酚和过氧化氢体外肝损伤模型,发现外泌体可以使肝损伤好转;在动物实验中也得出了相同的结论。Li 等^[64]利用人脐带间充质干细胞外泌体治疗肝纤维化疾病模型,研究表明外泌体可阻断 TGF- β 1/Smad 途径、抑制肝细胞上皮-间充质转化和胶原生成,从而减轻肝纤维化程度,为肝脏的再生提供了一种有前景的诊疗手段。

5.11 肾脏组织再生

Zhou 等^[65]建立了顺铂诱导的大鼠急性肾损伤模型,经肾包膜注射人脐带间充质干细胞外泌体,发现外泌体能够有效抑制大鼠肾小管细胞的程序性死亡,提高肾小管细胞的分裂能力,且能够逆转由顺铂导致产生的肾氧化应激。同时,相关机制研究结果表明,外泌体主要通过激活细胞外调节蛋白激酶(extracellular regulated protein kinases, ERK1/2)信号通路来发挥其作用,使受损细胞重新恢复增殖能力,从而达到肾损伤的修复作用。Koppen 等^[66]对人胚胎间充质干细胞衍生条件培养基(conditioned medium, CM)对慢性肾病的保护作用展开了研究,结果表明 CM 能使肾小管和肾小球损伤减轻、肾小球内皮细胞增多,从而达到肾损伤修复的目的;然而,在相同条件下,单纯采用人胚胎间充质干细胞外泌体进行研究,发现对肾损伤并无任何保护效力。因此,肾组织的损伤修复对外泌体具有一定的选择性,并不是所有细胞来源的外泌体均有治疗效果,在未来的研究过程中需要广大研究者们筛选出有效的外泌体来源,为肾病患者带去福音。

5.12 肺组织再生

Li 等^[67]采用小鼠肺缺血再灌注模型和体外低氧复氧模型,利用原代小鼠肺内皮细胞研究间充质干细胞外泌体是否能够减轻肺缺血再灌注损伤,结果表明外泌体可以减轻肺水肿和功能障碍,并减少炎症因子肿瘤坏死因子- α 、白细胞介素-1 β 、白细胞介素-6 等的释放,同时证实了外泌体可抑制肺上皮细胞内源性和外源性凋亡途径,改善细胞的程序性死亡,且依赖于 miR-21-5p 的表达。Phinney 等^[68]研究表明间充质干细胞外泌体可通过其携带的 miR-451 降低硅肺中肿瘤坏死因子 mRNA 的表达以及蛋白的释放,这一机制有可能将有利于肺组织受损后的再生。

6 小 结

干细胞外泌体目前在骨/软骨组织修复、神经组织再生、肝肾组织再生、肌肉组织修复、血管组织再生等领域均已进行了大量的临床前期研究,展现了外泌体的再生潜能。外泌体能够作为“无细胞治疗”的手段之一,其中一个重要的方面是免疫调节作用。据报道,外泌体对体液免疫及细胞免疫均可产生强有力的影响,并有可能与损伤后组织修复及再生有关的抗炎、促炎功能有一定的

关联,而干细胞外泌体发挥组织修复及再生作用的关键就在于其能在适当的时间促进抗炎、促炎这两个完全相反的方面^[69]。另一不可忽略的方面即外泌体在细胞间信号传递上起到的作用,外泌体可改变细胞的运动、增殖、表型变化和成熟^[70];亦可通过传播保护或损伤信号来维持细胞内的稳态。外泌体介导某些特殊功能分子转移,这些分子有可能将触发受体细胞的促修复途径^[71]。通过浏览美国国立卫生研究院(National Institutes of Health, NIH)临床试验网站,仅发现两项关于外泌体促进组织再生的临床试验正在开展中,一项是关于外泌体治疗脑卒中患者^[72],另一项是关于外泌体对黄斑裂孔的修复能力^[73]。

当然,关于外泌体也还存在着一些问题,如外泌体提取方面,虽然超速离心法作为首选方法,但依然存在纯度不高,容易造成外泌体崩解等缺点;一些商品化的试剂盒可提高外泌体的提取产量,但纯度也在下降,仍需开发新的收集方法。另外,外泌体在组织修复和再生过程中的潜在作用尚未完全阐明,尚不清楚外泌体的哪些成分/性质能够促进组织再生,也不清楚用于治疗的外泌体的量到底该如何衡量,过量的外泌体是否有可能造成不可逆的组织损伤。基于外泌体的治疗是一种很有前途的治疗手段,从干细胞中提取外泌体并加以纯化和储存,可以为未来各种疾病的治疗以及组织再生提供一种全新的治疗模式。当然,干细胞外泌体要真正应用于临床实践,还需要更多设计良好的临床前期实验和临床随机对照研究。

参考文献

- [1] Lamichhane TN, Sonja S, Schardt JS, et al. Emerging roles for extracellular vesicles in tissue engineering and regenerative medicine[J]. *Tissue Eng Part B Rev*, 2015, 21(1): 45-54.
- [2] Marote A, Teixeira FG, Mendes-Pinheiro B, et al. MSCs-derived exosomes: cell-secreted nanovesicles with regenerative potential[J]. *Front Pharmacol*, 2016, 7: 231.
- [3] Greening DW, Gopal SK, Xu R, et al. Exosomes and their roles in immune regulation and cancer[J]. *Semin Cell Dev Biol*, 2015, 40: 72-81.
- [4] Teng Y, Ren Y, Hu X, et al. MVP-mediated exosomal sorting of miR-193a promotes colon cancer progression[J]. *Nat Commun*, 2017, 8: 14448.
- [5] Min H, Sun XD, Yang X, et al. Exosomes derived from irradiated esophageal carcinoma-infiltrating T cells promote metastasis by inducing the epithelial-mesenchymal transition in esophageal cancer cells[J]. *Pathol Oncol Res*, 2018, 24(1): 11-18.
- [6] Pashoutan SD, Shamsasenjan K, Akbarzadehlaleh P. Mesenchymal stem cell-derived exosomes: new opportunity in cell-free therapy[J]. *Adv Pharm Bull*, 2016, 6(3): 293-299.
- [7] Collino F, Pomatto M, Bruno S, et al. Exosome and microvesicle-enriched fractions isolated from mesenchymal stem cells by gradient separation showed different molecular signatures and functions on renal tubular epithelial cells[J]. *Stem Cell Rev*, 2017, 13(2): 226-243.
- [8] Park S, Choi Y, Jung N, et al. Myogenic differentiation potential of human tonsil-derived mesenchymal stem cells and their potential for use to promote skeletal muscle regeneration[J]. *Int J Mol Med*, 2016, 37(5): 1209-1220.
- [9] Merino A, Ripoll E, De RL, et al. The timing of immunomodulation induced by mesenchymalstromal cells determines the outcome of the graft in experimental renal allotransplantation[J]. *Cell Transplant*, 2017, 26(6): 1017-1030.
- [10] Jalalian SH, Ramezani M, Jalalian SA, et al. Exosomes, new biomarkers in early cancer detection[J]. *Anal Biochem*, 2019, 571: 1-13.
- [11] Lai X, Wang M, McElyea SD, et al. A microRNA Signature in circulating exosomes is superior to exosomal glypican-1 levels for diagnosing pancreatic cancer[J]. *Cancer Lett*, 2017, 393: 86-93.
- [12] Cheng WC, Liao TT, Lin CC, et al. RAB27B-activated secretion of stem-like tumor exosomes delivers the biomarker microrna-146a-5p, which promotes tumorigenesis and associates with an immunosuppressive tumor microenvironment in colorectal cancer[J]. *Int J Cancer*, 2019, 145(8): 2209-2224.
- [13] Cui Y, Xu HF, Liu MY, et al. Mechanism of exosomal microRNA-224 in development of hepatocellular carcinoma and its diagnostic and prognostic value[J]. *World J Gastroenterol*, 2019, 25(15): 1890-1898.
- [14] Hunsaker M, Barba G, Kingsley K, et al. Differential microRNA expression of miR-21 and miR-155 within oral cancer extracellular vesicles in response to melatonin[J]. *Dent J*, 2019, 7(2): 48.
- [15] Lu M, Yuan S, Li S, et al. The exosome-derived biomarker in atherosclerosis and its clinical application[J]. *J Cardiovasc Transl Res*, 2019, 12(1): 68-74.
- [16] Hosseinpour S, He Y, Nanda A, et al. MicroRNAs involved in the regulation of angiogenesis in bone regeneration[J]. *Calcif Tissue Int*, 2019, 105(3): 223-228.
- [17] 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: 255-289.
- [18] Egea-Jimenez AL, Zimmermann P. Lipids in exosome biology[J]. *Handb Exp Pharmacol*, 2019, doi: 10.1007/164_2019_220.
- [19] Adamiak M, Sahoo S. Exosomes in myocardial repair: advances and challenges in the development of next-generation therapeutics[J]. *Mol Ther*, 2018, 26(7): 1635-1643.
- [20] Oskouie MN, Moghaddam ANS, Butler AE, et al. Therapeutic use of curcumin-encapsulated and curcumin-primed exosomes[J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234(6): 8182-8191.
- [21] Ottaviani L, Windt LJD, Martins PADC. Exosomes: scytales in the damaged heart[J]. *Ann Transl Med*, 2016, 4(11): 222.

- [22] Frydrychowicz M, Koleccka - Bednarczyk A, Madejczyk M, et al. Exosomes-- structure, biogenesis and biological role in non-small-cell lung cancer[J]. Scand J Immunol, 2015, 81(1): 2-10.
- [23] Domenyuk V, Zhong Z, Stark A, et al. Plasma exosome profiling of cancer patients by a next generation systems biology approach[J]. Sci Rep, 2017, 7(1): 42741.
- [24] Becker A, Thakur BK, Weiss JM, et al. Extracellular vesicles in cancer: cell-to-cell mediators of metastasis[J]. Cancer Cell, 2016, 30(6): 836-848.
- [25] Mulcahy LA, Pink RC, Carter DRF. Routes and mechanisms of extracellular vesicle uptake[J]. J Extracell Vesicles, 2014, 3(1): 24641.
- [26] Yuan Y, Du W, Liu J, et al. Stem cell-derived exosome in cardiovascular diseases: macro roles of micro particles[J]. Front Pharmacol, 2018, 9: 547.
- [27] Wunsch BH, Smith JT, Gifford SM, et al. Nanoscale lateral displacement arrays for the separation of exosomes and colloids down to 20 nm[J]. Nat Nanotechnol, 2016, 11(11): 936-940.
- [28] Smith JT, Wunsch BH, Dogra N, et al. Integrated nanoscale deterministic lateral displacement arrays for separation of extracellular vesicles from clinically-relevant volumes of biological samples[J]. Lab Chip, 2018, 18(24): 3913-3925.
- [29] Rider MA, Hurwitz SN, Meckes DG. Extra PEG: a polyethylene glycol-based method for enrichment of extracellular vesicles[J]. Sci Rep, 2016, 6: 23978.
- [30] Li I, Nabet BY. Exosomes in the tumor microenvironment as mediators of cancer therapy resistance[J]. Mol Cancer, 2019, 18(1): 32.
- [31] Dragovic RA, Collett GP, Hole P, et al. Isolation of syncytiotrophoblast microvesicles and exosomes and their characterisation by multicolour flow cytometry and fluorescence nanoparticle tracking analysis[J]. Methods, 2015, 87: 64-74.
- [32] Street JM, Barran PE, Mackay CL, et al. Identification and proteomic profiling of exosomes in human cerebrospinal fluid[J]. J Transl Med, 2012, 10: 5.
- [33] Vader P, Mol EA, Pasterkamp G, et al. Extracellular vesicles for drug delivery[J]. Adv Drug Deliv Rev, 2016, 106(PtA): 148-156.
- [34] Sun DM, Zhuang XY, Xiang XY, et al. A novel nanoparticle drug delivery system: the anti-inflammatory activity of curcumin is enhanced when encapsulated in exosomes[J]. Mol Ther, 2010, 18(9): 1606-1614.
- [35] Zhang S, Chu WC, Lai RC, et al. Exosomes derived from human embryonic mesenchymal stem cells promote osteochondral regeneration[J]. Osteoarthritis Cartil, 2016, 24(12): 2135-2140.
- [36] Zhang S, Chuah SJ, Lai RC, et al. MSC exosomes mediate cartilage repair by enhancing proliferation, attenuating apoptosis and modulating immune reactivity[J]. Biomaterials, 2018, 156: 16-27.
- [37] Furuta T, Miyaki S, Ishitobi H, et al. Mesenchymal stem cell-derived exosomes promote fracture healing in a mouse model[J]. Stem Cells Transl Med, 2016, 5(12): 1620-1630.
- [38] Zhang J, Liu X, Li H, et al. Exosomes/tricalcium phosphate combination scaffolds can enhance bone regeneration by activating the PI3K/Akt signaling pathway[J]. Stem Cell Res Ther, 2016, 7(1): 136.
- [39] Jia Y, Zhu Y, Qiu S, et al. Exosomes secreted by endothelial progenitor cells accelerate bone regeneration during distraction osteogenesis by stimulating angiogenesis[J]. Stem Cell Res Ther. 2019, 10(1): 12.
- [40] Hu L, Wang J, Zhou X, et al. Exosomes derived from human adipose mesenchymal stem cells accelerates cutaneous wound healing *via* optimizing the characteristics of fibroblasts[J]. Sci Rep, 2016, 6: 32993.
- [41] Shi Q, Qian Z, Liu D, et al. GMSC-derived exosomes combined with a chitosan/silk hydrogel sponge accelerates wound healing in a diabetic rat skin defect model[J]. Front Physiol, 2017, 8: 904.
- [42] Shabbir A, Cox A, Rodriguez-Menocal L, et al. Mesenchymal stem cell exosomes induce proliferation and migration of normal and chronic wound fibroblasts, and enhance angiogenesis *in vitro*[J]. Stem Cells Dev, 2015, 24(14): 1635-1647.
- [43] Han-Soo K, Do-Young C, So Jeong Y, et al. Proteomic analysis of microvesicles derived from human mesenchymal stem cells[J]. J Proteome Res, 2012, 11(2): 839-849.
- [44] Chen TS, RC Lai, Lee MM, et al. Mesenchymal stem cell secretes microparticles enriched in pre-microRNAs[J]. Nucleic Acids Res, 2010, 38(1): 215-224.
- [45] Anderson JD, Johansson HJ, Graham CS, et al. Comprehensive proteomic analysis of mesenchymal stem cell exosomes reveals modulation of angiogenesis *via* nuclear factor- κ B signaling [J]. Stem Cells, 2016, 34(3): 601-613.
- [46] Baglio SR, Rooijers K, Koppers-Lalic D, et al. Human bone marrow - and adipose-mesenchymal stem cells secrete exosomes enriched in distinctive miRNA and tRNA species[J]. Stem Cell Res Ther, 2015, 6(1): 127.
- [47] Zhang Y, Shi S, Xu Q, et al. SIS-ECM laden with GMSC-derived exosomes promote taste bud regeneration[J]. J Dent Res, 2019, 98(2): 225-233.
- [48] Xiao TT, Zhang WW, Jiao B, et al. The role of exosomes in the pathogenesis of Alzheimer' disease[J]. Transl Neurodegener, 2017, 6: 3.
- [49] Jarmalavičiūtė A, Tunaitis V, Pivoraitė U, et al. Exosomes from dental pulp stem cells rescue human dopaminergic neurons from 6-hydroxy - dopamine - induced apoptosis[J]. Cytotherapy, 2015, 17(7): 932-939.
- [50] Zhang Y, Chopp M, Zheng GZ, et al. Systemic administration of cell-free exosomes generated by human bone marrow derived mesenchymal stem cells cultured under 2D and 3D conditions improves functional recovery in rats after traumatic brain injury[J]. Neurochem Int, 2017, 111: 69-81.
- [51] Goncalves MB, Tony M, Earl C, et al. Neuronal RAR β signaling modulates PTEN activity directly in neurons and *via* exosome transfer in astrocytes to prevent glial scar formation and induce spinal cord regeneration[J]. J Neurosci, 2015, 35(47): 15731 - 15745.
- [52] Otero-Ortega L, Laso-Garcia F, Gomez-de Frutos M, et al. Role of exosomes as a treatment and potential biomarker for stroke[J].

- Transl Stroke Res, 2019, 10(3): 241-249.
- [53] Jiang N, Xiang LS, He L, et al. Exosomes mediate epithelium-mesenchyme crosstalk in organ development[J]. *Acs Nano*, 2017, 11(8): 7736-7746.
- [54] Li Y, Wang XX, Ren JL, et al. Mandible exosomal ssc-miR-133b regulates tooth development in miniature swine *via* endogenous apoptosis[J]. *Bone Res*, 2018, 6(1): 28.
- [55] Hu XL, Zhang YQ, Kong YY, et al. Lineage-specific exosomes promote the odontogenic differentiation of humandental pulp stem cells (DPSCs) through TGF β 1/Smads signaling pathway *via* transfer of microRNAs[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2019, 10(1): 170.
- [56] Huang CC, Narayanan R, Alapati S, et al. Exosomes as biomimetic tools for stem cell differentiation: applications in dental pulp tissue regeneration[J]. *Biomaterials*, 2016, 111: 103-115.
- [57] Xian X, Gong Q, Li C, et al. Exosomes with highly angiogenic potential for possible use in pulp regeneration[J]. *J Endod*, 2018, 44(5): 751-758.
- [58] Yoshihiro N, Shigeru M, Hiroyuki I, et al. Mesenchymal-stem-cell-derived exosomes accelerate skeletal muscle regeneration[J]. *FEBS Lett*, 2015, 589(11): 1257-1265.
- [59] Wang K, Jiang Z, Webster KA, et al. Enhanced cardioprotection by human endometrium mesenchymal stem cells driven by exosomal MicroRNA-21[J]. *Stem Cells Transl Med*, 2017, 6(1): 209-222.
- [60] Bian S, Zhang L, Duan L, et al. Extracellular vesicles derived from human bone marrow mesenchymal stem cells promote angiogenesis in a rat myocardial infarction model[J]. *J Mol Med*, 2014, 92(4): 387-397.
- [61] Zhang Z, Yang J, Yan W, et al. Pretreatment of cardiac stem cells with exosomes derived from mesenchymal stem cells enhances myocardial repair[J]. *J Am Heart Assoc*, 2016, 5(1): e002856.
- [62] Tan CY, Lai RC, Wong W, et al. Mesenchymal stem cell-derived exosomes promote hepatic regeneration in drug-induced liver injury models[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2014, 5(3): 76.
- [63] Damania A, Jaiman D, Teotia AK, et al. Mesenchymal stromal cell-derived exosome-rich fractionated secretome confers a hepatoprotective effect in liver injury[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2018, 9(1): 31.
- [64] Li T, Yan Y, Wang B, et al. Exosomes derived from human umbilical cord mesenchymal stem cells alleviate liver fibrosis[J]. *Stem Cells Dev*, 2013, 22(6): 845-854.
- [65] Zhou Y, Xu H, Xu W, et al. Exosomes released by human umbilical cord mesenchymal stem cells protect against cisplatin-induced renal oxidative stress and apoptosis *in vivo* and *in vitro*[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2013, 4(2): 34.
- [66] van Koppen A, Joles JA, van Balkom BWM, et al. Human embryonic mesenchymal stem cell-derived conditioned medium rescues kidney function in rats with established chronic kidney disease[J]. *Plos One*, 2012, 7(6): e38746.
- [67] 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.
- [68] Phinney DG, Di Giuseppe M, Njah J, et al. Mesenchymal stem cells use extracellular vesicles to outsource mitophagy and shuttle microRNAs[J]. *Nat Commun*, 2015, 6: 8472.
- [69] Toh WS, Zhang B, Lai RC, et al. Immune regulatory targets of mesenchymal stromal cell exosomes/small extracellular vesicles in tissue regeneration[J]. *Cytherapy*, 2018, 20(12): 1419-1426.
- [70] Sung BH, Ketova T, Hoshino D, et al. Directional cell movement through tissues is controlled by exosome secretion[J]. *Nat Commun*, 2015, 6: 7164.
- [71] Cabral J, Ryan AE, Griffin MD, et al. Extracellular vesicles as modulators of wound healing[J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2018, 129: 394-406.
- [72] NIH. Clinical Trials[Z/OL]. 2019. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03384433?term=exosome&rank=2>.
- [73] NIH. Clinical Trials[Z/OL]. 2017. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03437759?term=exosomes&draw=2&rank=27>.

(编辑 张琳,曾曙光)



官网



公众 号