

DOI: 10.16872/j.cnki.1671-4652.2021.04.001

引文格式: 周琦琦, 孙 振, 刘洋洋, 等. 过表达 NAMPT 脐带间充质干细胞外泌体的抗衰老作用 [J]. 扬州大学学报 (农业与生命科学版), 2021, 42(4): 1-6.

过表达 NAMPT 脐带间充质干细胞 外泌体的抗衰老作用

周琦琦^{1,2}, 孙 振^{1,2}, 刘洋洋¹, 李华玲^{3*}, 崔恒宓^{1,2*}

(1. 扬州大学动物科学与技术学院/表观遗传学及表观基因组学研究所, 江苏扬州 225009;

2. 江苏易诺诺生物医药研究院, 南京 211102; 3. 扬州大学医学院, 江苏扬州 225009)

摘 要: NAMPT 是 NAD⁺ 补救合成途径的限速酶, 具有抗衰老作用。外泌体是一种包含蛋白质、miRNA、mRNA、lncRNA 等内容物的天然内源性载体。利用慢病毒方法构建 NAMPT 过表达的人脐带间充质干细胞系, 获得过表达 NAMPT 脐带间充质干细胞外泌体, 随后通过与人皮肤成纤维细胞共培养和饲喂秀丽隐杆线虫, 研究过表达 NAMPT 脐带间充质干细胞外泌体对其抗衰老的影响。结果表明: 基因修饰后脐带间充质干细胞及其外泌体内 NAMPT 蛋白含量显著升高, 并能促进人皮肤成纤维细胞增殖和延缓人皮肤成纤维细胞衰老; 同时能延长秀丽隐杆线虫寿命和增加秀丽隐杆线虫抗氧化能力。这一研究提示过表达 NAMPT 基因的间充质干细胞外泌体具有一定的抗衰老作用。

关键词: 人脐带间充质干细胞; 外泌体; NAMPT; 人皮肤成纤维细胞; 秀丽隐杆线虫

中图分类号: R 457.7

文献标志码: A

文章编号: 1671-4652(2021)04-0001-06

The effect of overexpression of NAMPT of human umbilical cord mesenchymal stem cell exosomes on aging

ZHOU Qiqi^{1,2}, SUN Zhen^{1,2}, LIU Yangyang¹, LI Hualing³, CUI Hengmi^{1,2}

(1. Institute of Epigenetics and Epigenomics/ College of Animal and Science,

Yangzhou University, Yangzhou 225009, China;

2. Jiangsu Innovation Institute for Biomedicine, Nanjing 211102, China;

3. College of Medicine, Yangzhou University, Yangzhou 225009, China)

ABSTRACT: NAMPT is the rate limiting enzyme of NAD⁺ salvage pathway and has anti-aging effect. Exosomes are natural endogenous vectors containing protein, miRNA, mRNA and lncRNA. A human umbilical cord mesenchymal stem cell (hUCMSC) line overexpressing NAMPT was constructed by lentiviral transfection, and the exosomes was isolated from hUCMSCs overexpressing NAMPT. Then, the anti-aging effects of the exosomes derived from hUCMSCs overexpressing NAMPT were studied by co-culturing with human skin fibroblasts (HSF) and feeding *Caenorhabditis elegans*. The results showed that NAMPT transgene significantly increase NAMPT protein levels in hUCMSCs and their exosomes. And these exosomes can promote the proliferation and delay the aging of human skin fibroblasts. It also can prolong the life span of *C. elegans* and increase the antioxidant capacity of *C. elegans*. These preliminary results indicate that the exosomes of mesenchymal stem cells overexpressing the NAMPT gene have an anti-aging effect.

KEY WORDS: human umbilical cord mesenchymal stem cell (hUCMSC); exosomes; NAMPT; human skin fibroblasts; *Caenorhabditis elegans*

衰老是机体细胞、组织和器官等结构和功能随着年龄的增长而发生的自然退化过程^[1], 是生命过

收稿日期: 2021-03-12

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(81773013); 国家重点研发计划项目(2016YFC1303604)

作者简介: 周琦琦(1992—), 女, 河南温县人, 扬州大学硕士研究生, 主要从事动物遗传育种和干细胞研究。

* 通信作者, 李华玲, 扬州大学副教授、硕导, 主要从事老年病和抗衰老研究; hlli@yzu.edu.cn。崔恒宓, 扬州大学教授、博导, 主要从事干细胞和表观遗传学研究; E-mail: hmcui@yzu.edu.cn。

程中的一种自然现象,同时也是引发代谢性疾病、神经退行性疾病、心血管系统重大疾病等发生和发展的重要因素^[2]。因此,如何有效地延缓衰老已成为生命科学领域研究热点之一,也是当今社会迫切需要解决的问题。

外泌体是一类直径在 30~150 nm 之间的纳米级囊泡,可由多种类型的细胞分泌产生,其内容物包含蛋白质、DNA、miRNA、mRNA、lncRNA 等,参与细胞间的物质交换和信息交流^[3]。外泌体作为新型的药物载体具有良好的生物相容性、低免疫原性、来源广泛、稳定性好、递送效率高、膜修饰方式多样等优势,有望成为优良蛋白质药物递送的载体^[4-7]。

烟酰胺磷酸核糖转移酶(NAMPT)是 NAD⁺生物补救合成途径的主要限速酶,在细胞周期、细胞代谢、细胞衰老及 DNA 损伤修复等生理、病理活动中发挥着重要作用^[8]。NAMPT 在哺乳动物体内有 2 种存在形式,即细胞内和细胞外的 NAMPT (iNAMPT 和 eNAMPT)。iNAMPT 作为关键 NAD⁺生物合成酶的功能已得到充分确立,而 eNAMPT 的生理相关性和功能长期以来一直存在争议。eNAMPT 以前被鉴定为 B 前细胞集落增强因子(PBEF)和内脂肪素(visfatin),至今仍未得到证实^[9]。但有研究^[10]表明,由细胞外囊泡包含的 eNAMPT 在维持系统性 NAD⁺生物合成以及抵消与年龄相关的生理衰退中起着关键作用。

皮肤形态和生理的恶化是衰老过程的第 1 个也是最早的明显预兆,随着年龄的增长逐渐显现。成纤维细胞是真皮中最丰富的细胞类型,直接或通过与其他细胞的相互作用,参与皮肤老化的大部分特征^[11]。秀丽隐杆线虫是一种无毒无害、可独立生存的线虫。与细胞试验和动物试验中经常使用的小白鼠不同,秀丽隐杆线虫是更好的衰老研究模型,不仅是因为它与人类基因的相似度高,更重要的是它寿命短,这使得秀丽隐杆线虫在抗衰老试验研究中扮演着重要角色^[12]。

本试验通过基因编辑的方法对人脐带间充质干细胞系(hUCMSC)进行 NAMPT 基因修饰以达到对外泌体进行基因修饰的目的,而后将修饰的外泌体与人皮肤成纤维细胞共培养和饲喂秀丽隐杆线虫,为探究其抗衰老作用以及为抗衰老后续研究提供依据。

1 材料与方法

1.1 细胞系、载体和秀丽隐杆线虫

hUCMSC 和 pLVX-IRES-puro 载体来自扬州大学表观遗传学实验室,HSF 细胞购自青旗(上海)生物技术发展公司,秀丽隐杆线虫及大肠埃希菌 OP50 由扬州大学医学院李华玲老师惠赠。

1.2 主要试剂

α -MEM 培养基、DMEM 培养基、新生胎牛血清(美国 Gibco 公司);ClonExpress[®] MultiS One Step Cloning Kit、CCK-8 Cell Counting Kit、HiScript QRT SuperMix for qPCR (南京诺维赞生物科技公司);Exo-spin[™]-Exosome Purification Kit (美国 Cell Guidance Systems 公司);BCA 蛋白浓度测定试剂盒、SDS-PAGE 凝胶快速配制试剂盒、细胞衰老 β -半乳糖苷酶染色试剂盒(上海碧云天生物技术公司);限制性核酸内切酶 *EcoR* I (美国 NEB 公司);总超氧化物歧化酶(T-SOD)测试盒(南京建成生物工程研究所)。

1.3 过表达 NAMPT 的 hUCMSCs 构建

由 NCBI 网站查询目的基因序列,设计引物。根据 PCR 扩增方法获得目的基因 NAMPT,用限制性核酸内切酶 *EcoR* I 对 pLVX-IRES-puro 表达载体进行酶切,并通过 ClonExpress[®] MultiS One Step Cloning Kit 将目的基因与表达载体连接,得到 pLVX-IRES-puro-3 $\times$ FLag-NAMPT-6 $\times$ His 重组慢病毒载体,并通过测序验证。将上述慢病毒载体与 VSVG、 Δ R8 2 (体积比 3:1:2) 4 μ g 共转染至 60 mm 培养皿中 293T 细胞进行病毒包装,收集过滤浓缩病毒液,取 50 μ L 病毒感染 hUCMSC 24 h,培养 72 h 后加 0.5 μ g $\cdot$ mL⁻¹嘌呤霉素筛选 6 d,然后收集细胞,提取 RNA 和蛋白质进行验证。

1.4 外泌体的提取及鉴定

取对数生长期 NAMPT 稳定高表达的 hUCMSC,以 1×10^6 个细胞接种于直径 100 mm 培养皿中培养,待其贴壁后换成无血清培养基培养 72 h,收集细胞上清。细胞上清外泌体提取按 Exo-spin[™]-Exosome Purification Kit 试剂盒说明书进行。此后通过透射电子显微镜(TEM)观察形态、纳米粒子跟踪分析

(NTA)仪检测直径和 Western blot 检测其表面标志性蛋白 CD81。

1.5 细胞生长曲线

取对数生长期人皮肤成纤维细胞(HSF),以每孔 4×10^4 个接种于 96 孔板上,每组设 5 个重复孔,待其贴壁后将 DMEM 完全培养基与 CCK-8 溶液按体积比 100 : 1 的比例混合孵育细胞 2 h,吸出上清,用酶标仪检测波长 450 nm 处的吸光度值,将 96 孔板内细胞用 PBS 洗涤 1 次,加入含不同细胞来源外泌体的 DMEM 完全培养基培养,同上处理后测定 48、72、96 h 时波长 450 nm 处的吸光度值,收集数据,计算差值,用 Graphpad 作图并分析差异显著性。

1.6 细胞衰老 β -半乳糖苷酶染色测定

取对数生长期的 HSF 细胞,以每孔 1×10^5 个细胞接种于 6 孔板上,贴壁后加入含不同细胞来源外泌体的 DMEM 完全培养基处理 48 h,然后按 β -半乳糖苷酶染色试剂盒说明书进行染色。

1.7 秀丽隐杆线虫同期化

用 M9 缓冲液将线虫从 NGM 板上洗下,转移至 1.5 mL EP 离心管中, $2\,500\text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 1 min,弃去上清,加入 70 μL 浓度为 $1\text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 NaOH 和 350 μL 浓度为 $1\text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 NaClO,剧烈振荡 4 min, $6\,000\text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 1 min,弃去上清,加入 1 mL M9 缓冲液吹散, $6\,000\text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 1 min,如此重复 3 次,将虫卵转移至 NGM 板上, $20\text{ }^\circ\text{C}$ 培养 16 h,转移至富含 OP50 的 NGM 板上培养至 L4 期(约 2 d)。

1.8 秀丽隐杆线虫寿命测定

将同期化后生长至 L4 期的线虫转移至含不同细胞来源外泌体以及丰富 OP50 的 NGM 板上,每个板上接入 30 条线虫,每组设 3 个重复。每天转移至新的含不同细胞来源外泌体的 NGM 板上,每天观察线虫,记录线虫生存、死亡数量,绘制生存曲线图。线虫孵化开始时设为第 0 天。

1.9 秀丽隐杆线虫体内超氧化物歧化酶(SOD)活性测定

将同期化后第 5 天的线虫转移至含不同外泌体以及丰富 OP50 的 NGM 板上, $20\text{ }^\circ\text{C}$ 培养 48 h(每天转板),用 M9 缓冲液将线虫从板上洗下,转移至 2 mL EP 离心管中,弃去上清,加入 200 μL 蛋白质裂解液并用超声破碎仪破碎,BCA 测定浓度后按超氧化物歧化酶测试盒说明书测定。

1.10 数据统计和处理

用 Image-pro plus 软件对 β -半乳糖苷酶染色照片进行处理,计算衰老阳性细胞比例。采用 Graph-Pad Prism 软件作图分析。组间数据分析采用单因素方差分析。

2 结果与分析

2.1 过表达 NAMPT 基因的 hUCMSC 中 NAMPT 鉴定

利用 RT-PCR 和 Western blot 检测过表达 NAMPT 的 hUCMSC 中 mRNA 表达水平和蛋白质表达水平。实时荧光定量检测结果显示,过表达组 hUCMSC 的 NAMPT mRNA 表达量是 hUCMSC 组细胞的 12 倍(图 1. A)。Western blot 检测结果显示,在插入 NAMPT 基因的同时添加了 FLAG 标签,因此大条带为转基因过表达 NAMPT 的条带(图 1. B),小条带为野生型 NAMPT 的条带。上述结果说明 NAMPT 转基因使 hUCMSC 在 mRNA 和蛋白质水平上均高表达 NAMPT。

2.2 过表达 NAMPT 基因的 hUCMSC 外泌体鉴定

利用 TEM、Western blot 和 NTA 对外泌体进行了鉴定。Western blot 检测结果显示,外泌体表面标志性蛋白 CD81 阳性表达,过表达 NAMPT 的外泌体 NAMPT 蛋白表达明显升高(图 2. A)。TEM 扫描可观察到直径在 30~150 nm 球型囊泡结构(图 2. B)。NTA 检测显示,外泌体的直径在 50~100 nm 之间有 1 个峰,符合正态分布(图 2. C)。这

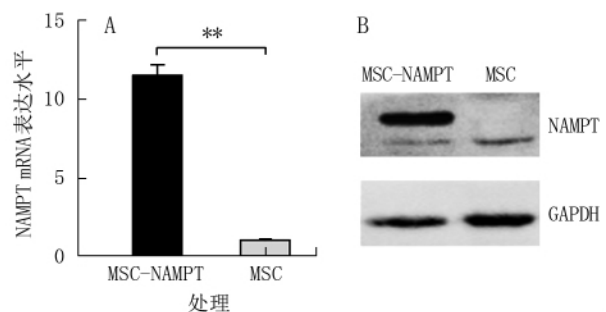


图1 NAMPT 转基因 hUCMSC 中 NAMPT mRNA 及蛋白质水平的过表达

Fig. 1 NAMPT overexpression in both RNA and protein levels in NAMPT transgenic hUCMSC cells
A. 实时荧光定量 PCR 检测 NAMPT mRNA 的水平, ** $P < 0.01$; B. Western blot 检测蛋白质表达, 过表达组细胞 NAMPT 蛋白水平明显升高

表明从过表达 *NAMPT* 的 hUCMSC 外泌体中分离鉴定到高水平 *NAMPT* 蛋白。

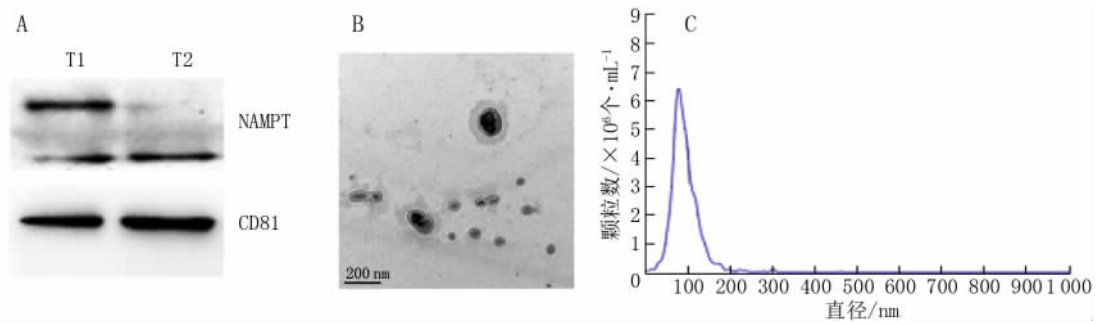


图 2 来自转基因 hUCMSCs 的外泌体高水平 *NAMPT* 蛋白的鉴定

Fig. 2 Characterization of exosomes of transgenic hUCMSCs with high level of *NAMPT* protein

A. Western blot 检测外泌体表面标志性蛋白 CD81 和外泌体内 *NAMPT* 蛋白高表达, T1. exosome-*NAMPT* (转基因 *NAMPT* hUCMSC 的外泌体), T2. exosome (hUCMSC 的外泌体), T1 中大条带为转基因 *NAMPT* 的条带, 小条带为野生型条带; B. TEM 观察外泌体的形态; C. NTA 检测外泌体的直径和浓度

2.3 过表达 *NAMPT* 基因的 hUCMSC 外泌体促进 HSF 细胞增殖

利用 CCK-8 法检测不同细胞来源外泌体处理 HSF 细胞的生长情况, 结果(图 3)显示, 不同细胞来源外泌体与 HSF 细胞共培养 4 d 后, 过表达 *NAMPT* 的 hUCMSC 外泌体组(exosome-*NAMPT*, T1 处理) HSF 细胞活性显著高于野生型 hUCMSC 外泌体组(exosome, T2 处理), 极显著高于空白对照组(T0 处理); 且野生型 hUCMSC 外泌体组 HSF 细胞活性极显著高于空白对照组。可见过表达 *NAMPT* 的 hUCMSC 外泌体和普通 hUCMSC 外泌体均可促进 HSF 细胞的增殖。

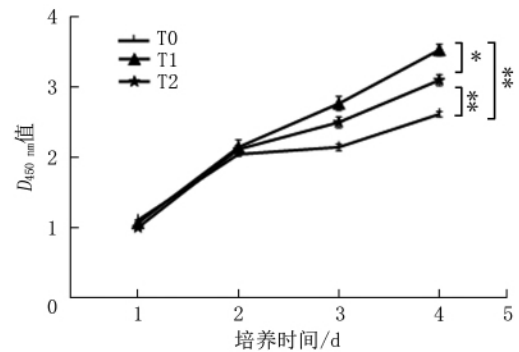


图 3 不同来源外泌体处理 HSF 细胞的生长曲线

Fig. 3 Growth curve of different exosomes treated HSF cells

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 外泌体浓度 $200 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$

2.4 过表达 *NAMPT* 的 hUCMSC 外泌体减缓 HSF 细胞的衰老

β -半乳糖苷酶染色是与细胞衰老相关的 β -半乳糖苷酶活性水平上调而对衰老细胞进行染色的方法。用不同来源外泌体与 HSF 细胞共培养, 在倒置显微镜下观察细胞衰老情况, 结果(图 4)显示, 过表达 *NAMPT* 的 hUCMSC 外泌体组衰老阳性细胞比例较野生型 hUCMSC 外泌体组低 35.2%, 较空白对照组低 60.7%。野生型 hUCMSC 外泌体组衰老阳性细胞比例较空白对照组低 42.8%。由此可见, 过表达 *NAMPT* 的 hUCMSC 外泌体以及野生型 hUCMSC 均可减缓 HSF 细胞的衰老。

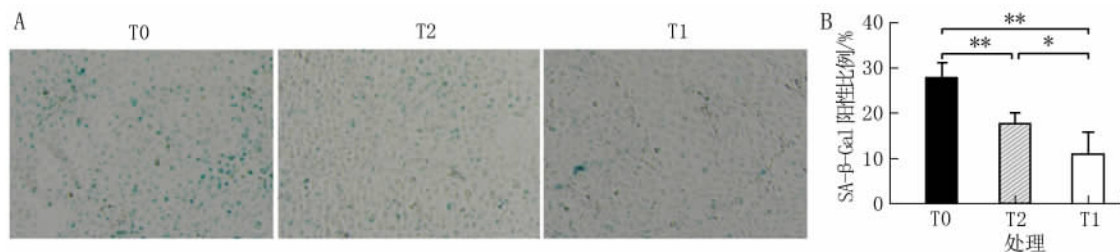


图 4 不同来源外泌体处理 HSF 细胞的衰老状况

Fig. 4 The senescence state of HSF cells treated by different exosomes

A. 倒置显微镜下 β -半乳糖苷酶染色图($\times 40$); B. Image pro plus 统计分析结果图, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 外泌体浓度 $200 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$

2.5 过表达 *NAMPT* 的 hUCMSC 外泌体延长秀丽隐杆线虫的寿命

观察秀丽隐杆线虫寿命是评价抗衰老最直观的方法。利用不同来源外泌体饲喂秀丽隐杆线虫, 并观察对其寿命的影响。生存曲线(图 5)表明, 过表达 *NAMPT* 的 hUCMSC 外泌体组秀丽隐杆线虫寿命较野生型 hUCMSC 外泌体组延长 13.6%, 较空白对照组延长 31.5%。野生型 hUCMSC 外泌体

组寿命较空白对照组也高出 15.7%。这说明过表达 NAMPT 的 hUCMSC 外泌体能显著延长秀丽隐杆线虫的寿命,即使普通的 hUCMSC 外泌体也有抗衰老作用。

2.6 过表达 NAMPT 的 hUCMSC 外泌体提高秀丽隐杆线虫 SOD 活性

SOD 是秀丽隐杆线虫体内重要的抗氧化酶,其活性越强,抗氧化作用越强。由图 6 可见,过表达 NAMPT 的 hUCMSC 外泌体组秀丽隐杆线虫体内 SOD 活性显著高于野生型 hUCMSC 外泌体组,极显著高于空白对照组;且野生型 hUCMSC 外泌体组秀丽隐杆线虫体内 SOD 活性极显著高于空白对照组。这说明过表达 NAMPT 的 hUCMSC 外泌体和野生型 hUCMSC 外泌体均可提高秀丽隐杆线虫抗氧化作用。

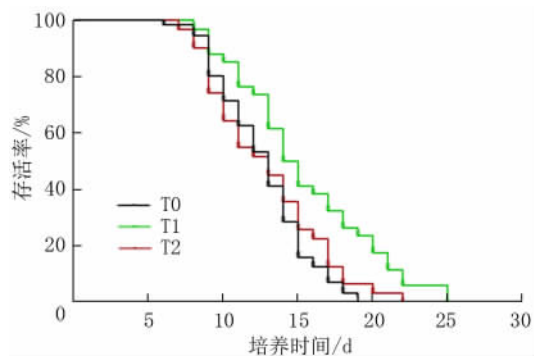


图5 外泌体对秀丽隐杆线虫生存曲线的影响

Fig. 5 The effect of exosomes on the survival curve of *C. elegans*

外泌体量 $100 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$

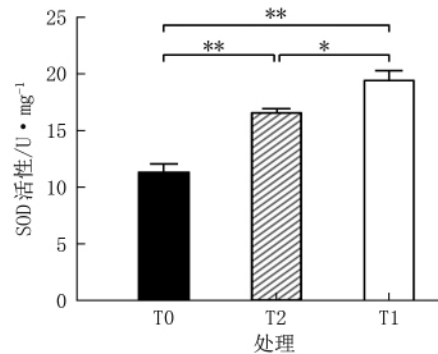


图6 外泌体对秀丽隐杆线虫体内 SOD 活性的影响

Fig. 6 Effects of exosomes on SOD enzyme activity in *C. elegans*

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 外泌体量 $100 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$

3 讨论

外泌体具有良好的生物相容性、靶向性、低免疫原性、稳定性好、递送效率高等优势,是新型纳米药物的载体。诸多研究^[13-15]表明,外泌体可通过加载药物或遗传因子在肿瘤治疗和再生医学上发挥重要作用。目前将药物装载在外泌体中有内源性负载、外源性负载、融合 3 种类型。外源性负载包括孵育、电穿孔、超声等方法将外源性生物分子或药物装载入外泌体;内源性负载是通过基因修饰供体细胞而将基因产物加至外泌体内的方法;融合是将外泌体与纳米脂质体膜融合获得一种复合载体的方法^[16]。本试验采用基因编辑(内源性负载)的方法首先构建过表达 NAMPT 的脐带间充质干细胞,结果表明, NAMPT 转基因不仅能在脐带间充质干细胞过表达 mRNA 和蛋白质,而且这些转基因细胞产生的外泌体也能高水平表达 NAMPT mRNA 和蛋白质。这提示,至少一些基因可通过细胞转基因而达到让外泌体载有基因产物(包括 mRNA 和蛋白质)的目的。显然,这项技术在临床医学上具有重要的意义。

间充质干细胞是一类具有自我更新和多向分化能力的多能干细胞,经诱导可分化为多种组织细胞,有强大的组织再生和修复特性。与其他组织来源的干细胞相比,脐带间充质干细胞易于收集、有更高的分化能力和自我更新能力,且无伦理问题。但通常应用的脐带间充质干细胞仍属于异体细胞,在安全性审查上仍存有偏见和戒心。外泌体则保留间充质干细胞的优点,同时拥有类似功能,且安全性更好和伦理风险更低,已有许多临床应用研究报道。Liu 等^[17]研究发现,脐带间充质干细胞来源的外泌体能改善 HaCatT 细胞的老化;Lei 等^[18]研究发现,脐带间充质干细胞来源的外泌体可逆转成人骨髓间充质干细胞的衰老,显著增强后者成骨和损伤修复能力。本试验结果显示,过表达 NAMPT 的脐带间充质干细胞外泌体可促进人皮肤成纤维细胞增殖和延缓衰老,且延长秀丽隐杆线虫寿命和增强其抗氧化能力。这提示作者构建的 NAMPT 转基因人脐带间充质干细胞可产生载有高水平和功能性的 NAMPT mRNA 和蛋白质的外泌体。显然它们对皮肤抗衰老可能具有重要作用。

近年来,烟酰胺腺嘌呤二核苷酸代谢已成为衰老和长寿研究领域的中心课题。NAMPT 是 NAD⁺ 生物合成的限速酶,同样在衰老和长寿研究领域扮演着重要角色。Yoshida 等^[10]研究表明,年轻小鼠或脂肪细胞的细胞外囊泡所含的 eNAMPT 可延缓衰老并延长小鼠的寿命。本试验通过基因编辑技术修

饰脐带间充质干细胞,从而增加外泌体内 eNAMPT 含量并在秀丽隐杆线虫模型上进行体内试验验证,结果显示,脐带间充质干细胞来源的外泌体和过表达 NAMPT 的脐带间充质干细胞外泌体可延长秀丽隐杆线虫的寿命达 31%,并增强秀丽隐杆线虫的抗氧化能力。本试验结果与 Yoshida 等^[10]研究结果高度一致,但抗衰老效果更好。

本试验检测衰老相关指标较少,今后将对人皮肤成纤维细胞和秀丽隐杆线虫更多指标进行检测,从而得到更充分的验证,为过表达 NAMPT 的脐带间充质干细胞外泌体成为一种新的抗衰老制剂及临床应用转化提供依据。

4 结论

通过构建转基因间充质干细胞可获得 NAMPT 高表达的外泌体。这种含高水平 NAMPT 的外泌体在体外和体内均显示出显著的抗衰老作用。

参考文献:

- [1] LÓPEZ-OTÍN C, BLASCO M A, PARTRIDGE L, et al. The hallmarks of aging [J]. *Cell*, 2013, 153(6): 1194-1217.
- [2] NATIVIO R, DONAHUE G, BERSON A, et al. Dysregulation of the epigenetic landscape of normal aging in Alzheimer's disease [J]. *Nature Neuroscience*, 2018, 21(Suppl.): 497-505.
- [3] KALLURI R, LEBLEU V S. The biology, function, and biomedical applications of exosomes [J]. *Science*, 2020, 367(6478): 6977.
- [4] KAMERKAR S, LEBLEU V S, SUGIMOTO H, et al. Exosomes facilitate therapeutic targeting of oncogenic KRAS in pancreatic cancer [J]. *Nature: International Weekly Journal of Science*, 2017, 546(7659): 498-503.
- [5] MUHAMMAD U W, CHANH P T, YAN K Y, et al. Efficient RNA drug delivery using red blood cell extracellular vesicles [J]. *Nature Communications*, 2018, 9(1): 2359.
- [6] DOMINIQUE I, UK L J, JUN S S, et al. Good things come in small packages: Overcoming challenges to harness extracellular vesicles for therapeutic delivery [J]. *Journal of Controlled Release*, 2016, 241: 174-185.
- [7] SCHIFFELERS R, SOLINGE V, DOMMELEN V, et al. Exosome mimetics: A novel class of drug delivery systems [J]. *International Journal of Nanomedicine*, 2012, 7: 1525-1541.
- [8] ANTJE G, STEFANIE P, ANTJE K, et al. Nampt: Linking NAD biology, metabolism and cancer [J]. *Trends in Endocrinology and Metabolism*; TEM, 2009, 20(3): 130-138.
- [9] GARTEN A, SCHUSTER S, PENKE M, et al. Physiological and pathophysiological roles of NAMPT and NAD metabolism [J]. *Nature Reviews Endocrinology*, 2015, 11(9): 535-546.
- [10] YOSHIDA M, SATOH A, LIN J B, et al. Extracellular vesicle-contained enampt delays aging and extends lifespan in mice [J]. *Cell Metabolism*, 2019, 30(2): 329-342. e5.
- [11] DIMRI G P, LEE X, BASILE G, et al. A biomarker that identifies senescent human cells in culture and in aging skin *in vivo* [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1995, 92(20): 9363-9367.
- [12] ELIZABETH M A, NOEMÍ C, ELVIA C U, et al. *Caenorhabditis elegans*: A useful model for studying metabolic disorders in which oxidative stress is a contributing factor [J]. *Oxidative Medicine & Cellular Longevity*, 2014, 2014: 705253.
- [13] MENG H Y, CHEN L Q, CHEN L H. The inhibition by human MSCs-derived miRNA-124a overexpression exosomes on the proliferation and migration of rheumatoid arthritis-related fibroblast-like synoviocyte cell [J]. *BMC Musculoskeletal Disorders*, 2020, 21(1): 150-159.
- [14] AN Y, ZHAO J F, NIE F F, et al. Exosomes from adipose-derived stem cells (ADSCs) overexpressing miR-21 promote vascularization of endothelial cells [J]. *Scientific Reports*, 2019, 9(4): 12861.
- [15] WAN F Z, CHEN K H, SUN Y C, et al. Exosomes overexpressing miR-34c inhibit malignant behavior and reverse the radioresistance of nasopharyngeal carcinoma [J]. *Journal of Translational Medicine*, 2020, 18(1): 12.
- [16] ZHAO X Y, WU D L, MA X D, et al. Exosomes as drug carriers for cancer therapy and challenges regarding exosome uptake [J]. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2020, 128: 110237.
- [17] LIU S J, MENG M Y, HAN S, et al. Umbilical cord mesenchymal stem cell-derived exosomes ameliorate HaCaT cell photo-aging [J]. *Rejuvenation Research*, 2021, 10: 1089.
- [18] LEI Q, GAO F, LIU T, et al. Extracellular vesicles deposit PCNA to rejuvenate aged bone marrow-derived mesenchymal stem cells and slow age-related degeneration [J]. *Science Translational Medicine*, 2021, 13(578): 8697.

(责任编辑 张立元)