

· 论 著 ·

脐带间质干细胞来源外泌体的安全性评估*

骆 峻¹, 丁利军², 周 强³, 韩奕文¹, 缪文玲^{1△}

(1. 江苏卫生健康职业学院中心实验室, 南京 210029; 2. 南京大学医学院附属鼓楼医院生殖中心, 南京 210008; 3. 南京大学医学院附属鼓楼医院病理科, 南京 210008)

摘 要:目的 评估脐带间质干细胞(huc-MSC)来源的外泌体作为一种临床应用生物制品的自身安全性。方法 超速离心法分离外泌体, 利用蛋白质印迹法(WB)检测外泌体表面标记 CD9、CD63, 利用纳米颗粒跟踪分析技术(NTA)检测外泌体的大小及浓度。溶血试验、全身过敏性试验和血常规检测验证外泌体的自身安全性。结果 外泌体表达外泌体特异性分子 CD9、CD63, 外泌体不会引起溶血、全身过敏反应及血常规异常。结论 脐带间质干细胞来源的外泌体具有外泌体的一般特征, 且具有一定的安全性, 为外泌体今后在临床上的应用提供了实验依据。

关键词:脐带间质干细胞; 外泌体; 安全性

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2017.24.005

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2017)24-3371-04

Security evaluation of exosome derived from human umbilical cord mesenchymal stem cells*

LUO Jun¹, DING Lijun², ZHOU Qiang³, HAN Yiwen¹, MIAO Wenling^{1△}

(1. Central Laboratory, Jiangsu Health Vocational College, Nanjing, Jiangsu 210029, China; 2. Reproductive Medicine Center, Nanjing Drum Tower The Affiliated Hospital of Nanjing University Medical School, Nanjing, Jiangsu 210008, China; 3. Department of Pathology, Nanjing Drum Tower The Affiliated Hospital of Nanjing University Medical School, Nanjing, Jiangsu 210008, China)

Abstract: Objective To explore the security of exosome derived from human umbilical cord mesenchymal stem cell (huc-MSC-exosome) as a kind of biological product on clinical application. **Methods** huc-MSC-exosome were separated by ultra centrifuge. CD9 and CD63 expression of huc-MSC-exosome were tested by Western-blot. Nanoparticle analysis was used to detect the size and concentration of huc-MSC-exosome. Hemolytic experiment, systemic anaphylaxis and blood routine test were used to verify the self-safety of huc-MSC-exosome. **Results** huc-MSC-exosome expressed specific markers of exosome, CD9 and CD63. Moreover, huc-MSC-exosome cannot result in hemolysis, systemic anaphylaxis reaction and abnormality of blood routine test. **Conclusion** Exosome derived from human umbilical cord mesenchymal stem cell has general signs of exosomes and possesses the certainly security, which may provide the experimental evidence for huc-MSC-exosome clinical application.

Key words: huc-MSCs; exosome; security

近年来,研究发现间质干细胞(MSCs)可以通过促进组织损伤修复以及参与免疫调控的方式参与多种疾病的治疗^[1],因此以间质干细胞为基础的临床治疗策略成为了当下研究的热点。但是, MSCs 的应用也存在着一些不可忽视的缺点;如:异位组织形成的相关问题、肺微血管内细胞引起的内源性毒性反应,细胞的移植排斥反应以及具有稳定表现型的 MSCs 的商品化问题^[2];甚至有研究报道 MSCs 会促进肿瘤生长^[3]。然而,随着旁分泌假说的出现,越来越多的研究发现, MSCs 在体内可以通过旁分泌的方式达到治疗的效果^[4-5]。而 MSCs 通过旁分泌释放的具有生物活性的物质,主要包括细胞因子、趋化因子以及外泌体等。已有研究报道, MSCs 分泌的细胞外囊泡,即外泌体,可以通过促进血管生成、组织再生,参与免疫调控以及运输旁分泌因子等方式使 MSCs 发挥其在临床治疗中的潜力^[6-9]。然而,有些研究结果认为外泌体与 MSCs 的功能相似且在临床应用中更有前景,利用外泌体代替 MSCs 进行移植治疗可以减弱直接移植 MSCs 的一些局限性及安全性问题^[10]。已有研究表明 MSCs 来源的外泌体可修复皮肤损伤^[11],在肝^[12]、肺^[13]和肾^[14]等损伤的治疗过程中也发挥重要作用。因

此,本研究基于脐带间质干细胞(huc-MSC)来源的外泌体,对其自身安全性进行了研究,为其日后在临床上的应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 主要材料 L-DMEM,胎牛血清 FBS(美国 Gibco 公司);青霉素、链霉素(美国 Invitrogen 公司);重水(上海创赛科学仪器有限公司);兔抗人 CD9、CD63 抗体(美国 Bioworld 公司);HRP 标记的兔二抗(北京康为世纪生物科技有限公司);卵蛋白(美国 sigma 公司);EDTA-K₂ 抗凝抗凝管(复康医药用品有限公司);3.5 cm 小皿、10 cm 大皿(美国 Corning 公司)。

1.2 方法

1.2.1 huc-MSC 的分离与培养 将新鲜的人脐带剪成几段浸泡在含 1%青霉素、链霉素的 PBS 中 10 min,重复 2 次,以清除脐带中残留的血液,浸泡后取出放于含 10% FBS 的 L-DMEM 培养液中去掉脐带中的一条脐动脉、两条脐静脉,再用眼科剪选取华通氏胶的部分剪成 1~3 mm³ 的小组织块放于直径为 35 mm 细胞培养皿中,将小皿置于细胞培养箱中 30 min 使组织块完全贴壁,而后向小皿中加入含 10% FBS 的 L-

* 基金项目:国家自然科学基金资助项目(81571391)。

作者简介:骆峻,男,副主任技师,主要从事医学检验技术教研方向研究。△ 通信作者, E-mail:miaowenling@163.com。

DMEM 培养液,在 37℃、5% CO₂、饱和湿度的条件下培养 1~2 周左右,有原代脐带间质干细胞爬出,消化传代至第三代即可用于实验。

1.2.2 超速离心法提取外泌体 (1)huc-MSC 上清的制备。首先去除 FBS 中的外泌体,将 FBS 倒入无菌的超速离心管中,利用超速离心机 4℃,100 000 g 离心 16 h,使外泌体及蛋白质聚集体沉降,取上层 FBS 加入 L-DMEM 培养液中,配制成为去外泌体的含 10% FBS 的 L-DMEM 培养液以备用。取 3~5 代的 huc-MSCs,待细胞融合度至 70%时,弃去旧的营养液,PBS 洗涤 2 次后更换不含牛外泌体及蛋白聚体的 L-DMEM 营养液 4 mL/瓶,48 h 后收集上清,先利用 300 g、4℃离心 20 min 以去除上清中所含的细胞,再利用 2 000 g、4℃离心 20 min 以去除上清中的细胞碎片,此上清即为 huc-MSC 营养液,可用于外泌体的提取。

1.2.3 外泌体的分离与提取 取制备好的 huc-MSC 营养液,10 000 g、4℃、离心 30 min,吸出上清置于超滤离心管中,1 000 g、4℃、离心 30 min,收集下层浓缩液,将浓缩液移至浓度为 300 g/L 的蔗糖重水垫上,经 100 000 g、4℃、离心 120 min 后,收集底部约 5 mL 的液体,再利用 PBS 重复多次洗涤,即可得到外泌体;利用 BCA 法检测外泌体的蛋白浓度,最后将通过 0.22 μm 无菌滤膜过滤的 huc-MSC 外泌体分装于 EP 管中,于-70℃冷藏备用。

1.4 外泌体的鉴定 (1)免疫印迹试验(WB)检测外泌体表面标记 CD9、CD63 的表达:配制细胞裂解液,RIPA、PMSF、PIC 以 250:1:2.5 的比例混合,在外泌体中加入相同体积的细胞裂解液,在振荡器上震荡 1 min、在冰上静置 10 min,重复 3 次,12 000 g、4℃离心 10 min,吸出上层清液,即为外泌体总蛋白。配制 12%的聚丙烯酰胺凝胶电泳分离胶及积层胶,待胶凝固后加入热变性的外泌体,上样量为每孔 150 μg,80 V 电泳约 2 h,350 mA 转膜 2 h,取出 PVDF 膜浸润在 5%的牛奶中 1 h,4℃孵育一抗 CD9、CD63(1:500)过夜,利用 1×TBST 洗涤 3 次、每次 10 min,37℃孵育二抗 1 h,再用 1×TBST 洗涤 3 次,每次 10 min,最后利用 ECL 化学发光系统进行拍照。(2)纳米颗粒分析外泌体的大小及浓度:将利用 PBS 稀释好的外泌体吸入注射器中,再缓慢加入纳米颗粒分析仪的样品室中,观察粒子的布朗运动,利用纳米粒子跟踪分析软件进行分析,从而测量出微粒的大小及浓度。

1.5 溶血实验 取体质量约 2 000 g 左右的家兔一只进行心脏采血,将采取的 20 mL 新鲜血液迅速放入有玻璃球的烧瓶中,充分震荡以去除血液中的纤维蛋白原,制成脱纤血液。将脱纤血液与 9%的氯化钠注射液以 1:3 的比例加入离心管中,1 000 r/min、4℃、离心 15 min 进行洗涤,重复 3 次直至上清液不显红色为止,吸出上清液,取试管底部红细胞,利用 9%的氯化钠注射液将其制备成 2%的红细胞悬液,同时也利用 9%的氯化钠注射液溶解外泌体,浓度为:160 μg/mL。每组具体加样情况见表 1,加样完成后,轻柔混匀,立即放置于 37℃恒温水浴箱中孵育,每隔 1 记录溶血情况,连续记录 3 h。该溶血实验评价标准:+,红细胞不沉降,无分层;- ,红细胞沉降,有分层。

1.6 全身过敏反应 取体质量在 300~350 g 之间的健康豚鼠 18 只,雌雄各半,随机分为外泌体组、阳性对照组(OVA 组)及阴性对照组(PBS 组),每组 6 只。致敏前 5 d,每隔 1 d 致敏 1 次,每次致敏每组腹腔注射不同处理因素:阴性对照组,200 μL PBS;阳性对照组(OVA 组),200 μL 含 400 μg OVA 的

PBS;外泌体组,200 μL 含 400 μg 外泌体的 PBS。致敏至第 18 天,进行末次致敏,向各组豚鼠加入相应处理因素,观察 1 h 内豚鼠的全身过敏症状并记录,再通过全身致敏性评价标准进行分级^[15]。

1.7 血常规检测 取 7~8 周龄,体质量在 200~250 g 之间的 SD 大鼠 12 只,随机分为两组:对照组和外泌体组,每组雌雄各一半。先通过尾静脉采血收集实验前各组大鼠的血样,再向各组 SD 大鼠尾静脉注射相应的处理因素:对照组,200 μL PBS;外泌体组,200 μL 含 400 μg 外泌体的 PBS。分别在输注后的 4 h、24 h、168 h 收集各组血样,且每次采集后立刻利用血细胞分析仪进行血常规检测,检测内容包括:红细胞计数、血红蛋白、血细胞比容、白细胞计数、淋巴细胞计数、单核细胞计数、中性粒细胞计数以及血小板计数。

表 1 溶血实验分组及加样情况

试剂	阳性对照组	阴性对照组	外泌体
2% 红细胞悬液	2.5 mL	2.5 mL	2.5 mL
9% 的氯化钠注射液	—	2.5 mL	—
蒸馏水	2.5 mL	—	—
外泌体	—	—	2.5 mL

注:—表示无数据。

2 结 果

2.1 huc-MSCs 的形态学特征 利用新鲜人脐带组织分离出的 huc-MSCs,在含 10% FBS 的 L-DMEM 营养液中培养至第三代,待细胞融合度达到 90%左右时,利用 PBS 洗涤后,在显微镜下观察其形态学特征,可见 huc-MSCs 均匀分布,形态似梭形两端细、中间粗,见图 1。

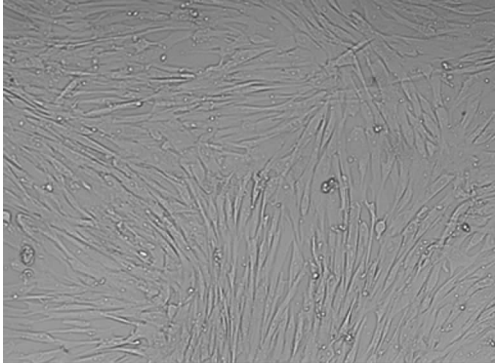


图 1 显微镜观察 huc-MSCs 的形态学特征(100×)

2.2 外泌体的鉴定 外泌体表达 CD9 及 CD63;直径在 30~230 nm 之间的外泌体所占比例为 91.33%,终浓度约为 3.61×10¹⁰/mL。

2.3 外泌体不引起溶血反应 溶血试验结果显示:在观察时间内,阳性对照组红细胞均未下沉,溶液均未分层,出现溶血及红细胞凝集现象;而外泌体组同阴性对照组现象相似,红细胞沉降,溶液出现分层,未出现溶血及红细胞凝集现象。该结果表明外泌体不会引起溶血反应。

2.4 过敏反应 阳性对照组豚鼠在注射 OVA 后的 15 min 内会出现呼吸急促、步态蹒跚、肌肉痉挛及潮式呼吸等现象;而外泌体组同阴性对照组一样,在注射处理因素 1 h 内,未发生任何过敏反应。因此,外泌体并不会引起全身过敏。

2.5 外泌体对 SD 大鼠血常规影响 腹腔注射外泌体的 SD 大鼠与只注射了 PBS 的对照组相比,血常规各项指标均没有明显差异,并且各项指标均在参考范围内。该实验结果说明外泌体对血常规检测结果并没有影响,见表 2。

表 2SD 大鼠血常规检测结果

检测项目	0 h		4 h		24 h		168 h	
	对照组	外泌体组	对照组	外泌体组	对照组	外泌体组	对照组	外泌体组
红细胞计数(×10 ¹² /L)	7.51	7.21	6.56	6.11	6.99	6.78	7.32	6.99
血红蛋白(g/L)	147.60	145.78	134.45	131.54	138.33	137.66	146.58	142.35
血细胞比容(%)	44.15	43.56	39.01	37.46	41.10	39.40	42.98	40.77
白细胞计数(×10 ⁹ /L)	8.98	7.96	6.44	6.23	7.23	6.59	8.01	7.16
淋巴细胞计数(×10 ⁹ /L)	6.85	6.06	5.10	4.78	5.75	5.30	6.39	5.74
单核细胞计数(×10 ⁹ /L)	0.26	0.22	0.15	0.18	0.15	0.15	0.21	0.18
中性粒细胞计数(×10 ⁹ /L)	1.90	1.67	1.19	1.26	1.32	1.15	1.40	1.37
血小板计数(×10 ¹² /L)	1.34	1.11	0.89	0.92	0.94	0.88	1.10	0.97

注:参考范围,红细胞计数为(5.45~8.12)×10¹²/L;血红蛋白 118.47~156.98 g/L;血细胞比容 34.36%~48.68%;白细胞计数,(2.31~12.16)×10⁹/L;淋巴细胞计数(0.34~11.04)×10⁹/L;单核细胞计数(0.00~0.54)×10⁹/L;中性粒细胞计数;血小板计数(0.54~1.33)×10¹²/L。

3 讨 论

MSCs 来源的外泌体与 MSCs 相比有其明显的优势,如:外泌体可以通过激活靶细胞膜表面受体或与靶细胞融合和内化从而传递生物活性物质^[16];外泌体具有特异性的表面标记 CD9、CD63 和 CD81 并且它们也具有独特的组织或细胞型蛋白可以反映其来源^[17];并且外泌体还具有方便储存和运输的优势。当然外泌体要真正运用于临床,其自身安全性还有待验证,因此,本研究通过不同的动物模型进行了溶血实验、全身过敏实验以及血常规检测等来评估外泌体的自身安全性。结果证明,外泌体并不会引起溶血、全身过敏反应及血常规的异常,具有一定的安全性。本课题组将运用更多的实验来进一步确认外泌体的安全性。

本文主要评估了外泌体的安全性,然而有研究发现骨髓来源的间质干细胞其分泌的外泌体也表达外泌体的特异性标志并且具有一定的治疗作用^[18],那么对多种间质干细胞来源的外泌体进行功能学的比较以及安全性的评价也具有十分重要的意义,需要进一步的研究。另一个问题是外泌体的治疗剂量,根据其他研究报道,<400 μg 的外泌体可以治疗皮肤损伤^[11],因此本研究选择了最大剂量 400 μg,但是如何在临床治疗过程中选择外泌体的剂量仍需进一步的探讨。

参考文献

[1] Battiwalla M, Hematti P. Mesenchymal stem cells in hematopoietic stem cell transplantation [J]. Cytotherapy, 2009, 11(5):503-515.

[2] Urbanelli L, Buratta S, Sagini K, et al. exosome based strategies for diagnosis and therapy [J]. Recent Pat CNS Drug Discov, 2015, 10(14):10-27.

[3] Zhu W, Huang L, Li Y, et al. Mesenchymal stem cell-secreted soluble signaling molecules potentiate tumor growth[J]. Cell Cycle, 2011, 10(78):3198-3207.

[4] Gneccchi M, Danieli P, Malpasso G, et al. Paracrine mechanisms of mesenchymal stem cells in tissue repair [J]. Methods Mol Biol, 2016, 14(16):123-146.

[5] Gneccchi M, He H, Liang OD, et al. Paracrine action accounts for marked protection of ischemic heart by Akt-

modified mesenchymal stem cells[J]. Nat Med, 2005, 11(23):367-368.

[6] 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 [J]. Stem Cell Res, 2013, 10(21):301-312.

[7] Lin KC, Yip HK, Shao PL, et al. Combination of adipose-derived mesenchymal stem cells (ADMSC) and ADMSC-derived exosomes for protecting kidney from acute ischemia-reperfusion injury[J]. Int J Cardiol, 2016, 21(6):173-185.

[8] Kim DK, Nishida H, An SY, et al. Chromatographically isolated CD63+CD81+ extracellular vesicles from mesenchymal stromal cells rescue cognitive impairments after TBI[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2016, 113(9):170-175.

[9] Zhang B, Shi Y, Gong A, et al. huc-MSC exosome delivered 14-3-3 orchestrates self-control of the Wnt response via modulation of YAP during cutaneous regeneration [J]. Stem Cells, 2016, 34(69):2485-2500.

[10] Phinney DG, Prockop DJ. Concise review: mesenchymal stem/multipotent stromal cells: the state of transdifferentiation and modes of tissue repair-current views [J]. Stem Cells, 2007, 25(11):2896-2902.

[11] Zhang B, Wang M, Gong A, et al. huc-MSC-exosome mediated-wnt4 signaling is required for cutaneous wound healing [J]. Stem cell, 2015, 33(7):2158-2168.

[12] Lou G, Chen Z, Zheng M, et al. Mesenchymal stem cell-derived exosomes as a new therapeutic strategy for liver diseases[J]. Exp Mol Med, 2017, 49(6):346.

[13] Li L, Jin S, Zhang Y. Ischemic preconditioning potentiates the protective effect of mesenchymal stem cells on endotoxin-induced acute lung injury in mice through secretion of exosome[J]. Int J Clin Exp Med, 2015, 8(6):3825-3832.

(下转第 3376 页)

研究认为,患者一旦出现感染性休克,必须在 6 h 内解除梗阻,否则将导致手术治疗效果不佳,致死率上升。本研究选择了在 6 h 内接受 ERCP 和 6~24 h 接受 ERCP 治疗的患者进行比较。从本研究结果来看,发病后 6 h 内接受 ERCP 的患者致死率比发病后 24 h 内接受治疗的患者低,且并发症的发生概率也更低。

从血清炎性因子水平来看,A 组患者治疗后血清 TNF- α 和 IL-6 水平明显低于 B 组患者,而 IL-10 水平高于 B 组患者。机体内正常水平的 TNF- α 有助于发挥免疫系统抗感染的作用,也有助于促进损伤组织的修复。而 IL-6 主要出现在机体损伤之后,外来病原体如细菌和病毒等,都会引起 IL-6 分泌增加。而 IL-10 是一种多效免疫调节因子,可以有效抑制由于内毒素引发的机体 IL-6 和 TNF 等炎性因子的分泌,已有多项研究表明了 IL-10 在 AOSC 发病过程中起到这种关键作用^[12]。本研究结果表明,早期 ERCP 治疗有助于降低机体 TNF- α 和 IL-6 水平,提高 IL-10 水平,且发病后 6 h 内接受 ERCP 治疗可以更加快速有效地调节这三种细胞因子之间的平衡。

治疗后 A 组患者中性粒细胞凋亡率明显高于 B 组患者,且他们的 LnMCF 水平也更低。中性粒细胞在机体炎性反应中起关键作用。中性粒细胞的及时凋亡可以帮助稳定机体内环境,也有助于将已经发生的炎性反应控制在较小范围内,并加快炎性反应的消退。机体出现炎性反应时,各种炎性因子将过度激活中性粒细胞,同时使中性粒细胞的凋亡过程受阻,出现凋亡延迟。越来越多的中性粒细胞被持续激活,将导致过氧化物和氧自由基等的过度释放,并进一步释放更多的炎性细胞因子和蛋白水解酶等炎性介质,发生级联放大反应,导致呼吸爆发的出现。出现呼吸爆发,患者的炎性损伤过程将进一步加深加重,引起累及多系统的组织损伤^[13]。严重时进一步导致 SIRS 的出现,危及生命。本研究结果表明,早期 ERCP 治疗有助于恢复中性粒细胞正常的凋亡机制,扭转凋亡延迟,降低呼吸爆发水平,从而有效避免 SIRS 的出现。

从本研究的结果来看,对于 AOSC 患者的治疗时机应当尽量选在发病后 6 h 以内。过分的强调保守治疗,推迟患者进行内镜治疗的时间反而增加患者感染和死亡的风险。综上所述,对 AOSC 患者的 ERCP 治疗应尽快尽早,早期 ERCP 治疗安全有效,有助于缓解患者机体炎性反应,提高患者生存率,值得临床推广。

参考文献

[1] Wiggers JK, Coelen RJ, Rauws EA, et al. Preoperative endoscopic versus percutaneous transhepatic biliary drainage in potentially resectable perihilar cholangiocarcinoma

(DRAINAGE trial): design and rationale of a randomized controlled trial[J]. BMC Gastroenterol, 2015, 15(1): 20.

- [2] Zhang GY, Li WT, Peng WJ, et al. Clinical outcomes and prediction of survival following percutaneous biliary drainage for malignant obstructive jaundice [J]. Oncol Lett, 2014, 7(4): 1185-1190.
- [3] Hwang S, Jung SW, Namgoong JM, et al. Solitary percutaneous transhepatic biliary drainage tract metastasis after curative resection of perihilar cholangiocarcinoma: report of a case[J]. J Hepatobiliary Pancreat Sci, 2011, 15(3): 179-183.
- [4] 房龙, 樊艳华, 杜时雨, 等. 内镜逆行胰胆管造影相关技术结合血清 CEA、CA199 对胆管梗阻定性诊断的研究[J]. 首都医科大学学报, 2014, 35(5): 626-629.
- [5] 方卫平, 张筱凤. 治疗性经内镜逆行性胰胆管造影术在老年胆胰疾病患者治疗中的应用价值[J]. 中国老年学杂志, 2016, 36(6): 1392-1393.
- [6] 何川东, 刘启榆, 刘向东, 等. 16 层计算机断层摄影结合多平面重建技术在胆管阻塞病人中的应用[J]. 现代预防医学, 2009, 36(1): 166-168.
- [7] 刘玉, 刘苏. 继发性硬化性胆管炎诊治研究现状[J]. 国际消化病杂志, 2013, 33(3): 182-185.
- [8] 何振平. 提高黄疸型肝炎胆管炎诊治水平[J]. 现代医药卫生, 2004, 20(3): 149-151.
- [9] 赵开飞, 李昌燕, 利峰, 等. 经皮肝穿胆道引流术治疗急性梗阻性化脓性胆管炎 46 例[J]. 实用医学杂志, 2013, 29(14): 2355-2356.
- [10] 邹瑞, 杨玉龙, 祁春春, 等. 内镜逆行胰胆管造影取石术与开腹手术治疗胆总管结石的疗效对比研究[J]. 中华普通外科杂志, 2014, 29(11): 857-859.
- [11] Dellinger RP, Levy MM, Carlet JM, et al. Surviving sepsis campaign: international guidelines for management of severe sepsis and septic shock[J]. Crit Care Med, 2008, 36(1): 296-327.
- [12] 张平锋, 蔡卫华. 茵陈蒿汤治疗急性梗阻性化脓性胆管炎效果及对炎性因子影响的分析研究[J]. 南通大学学报(医学版), 2016, 36(3): 216-218.
- [13] 邢宇坤, 张伟. 中性粒细胞呼吸爆发的产生机制及其炎症效应[J]. 基础医学与临床, 2004, 24(1): 1-6.

(收稿日期: 2017-06-28 修回日期: 2017-09-13)

(上接第 3373 页)

- [14] Bruno S, Grange C, Collino F, et al. Microvesicles derived from mesenchymal stem cells enhance survival in a lethal model of acute kidney injury[J]. PLoS One, 2012, 7(3): e33115.
- [15] 国家食品药品监督管理局. GPT5-1 中药、天然药物免疫毒性研究的技术指导原则[S]. 北京: 中国标准出版社, 2005.
- [16] Qin J, Xu Q. Functions and application of exosomes[J].

Acta Pol Pharm, 2014, 71(9): 537-543.

- [17] Mathivanan S, Simpson RJ. ExoCarta: a compendium of exosomal proteins and RNA [J]. Proteomics, 2009, 9(21): 4997-5000.
- [18] Wu HH, Lee OK. exosomes from mesenchymal stem cells induce the conversion of hepatocytes into progenitor oval cells[J]. Stem Cell Res Ther, 2017, 8(1): 117.

(收稿日期: 2017-06-25 修回日期: 2017-09-13)