

外泌体与肺纤维化研究进展 *

叶灏鑫 王晓旭 李明霏 王宇 **

(河北大学中医院 保定 071002)

摘要 肺纤维化是一种由肺泡外基质蛋白过度沉积导致的肺部不可逆的结构和功能改变的肺部疾病,表现为纤维化重构和肺泡破坏。外泌体作为一种细胞外囊泡,可通过递送特定细胞类型产生的功能性核酸和蛋白质来介导细胞间通讯。近年来的研究发现,外泌体在肺纤维化的诊断和治疗中具有重要作用,被认为是一种潜在的生物治疗方法和药物递送载体。研究外泌体在肺纤维化发生发展中的作用,以期为肺纤维化的外泌体治疗研究提供新的思路。

关键词 外泌体 肺纤维化 细胞外囊泡 药物递送载体 诊断和治疗

中图分类号 Q257

肺纤维化(pulmonary fibrosis, PF)是由肺泡外基质蛋白过度沉积引起的,以肺组织结构不可逆性重塑为特征的一类肺部疾病^[1],其病理特征表现为肺部炎症,从而导致肺泡持续性损伤。目前治疗PF的药物种类有限,常用的药物包括吡非尼酮和尼达尼布。虽然这些药物能够在一定程度上改善肺功能和缓解临床症状,但在延长生存期、阻止或逆转疾病进展方面并无显著优势^[2]。

近年来,越来越多的研究表明,外泌体在PF的发生、发展中具有重要作用。外泌体是一种具有膜结构的细胞外分泌的小囊泡,直径约30~150 nm,其内部含有多种生物活性分子,如蛋白质、核酸和脂质等^[3](图1)。研究表明,外泌体在调节细胞间通讯、免疫反应、抗原呈递、细胞分化和肿瘤侵袭等生物过程中扮演着重要角色^[4-9]。在PF的发展中,外泌体通过参与多种细胞信号通路的调节,如炎症、氧化应激、细胞凋亡、成纤维细胞激活等介导PF的进程^[10-11]。研究外泌体在PF中的作用关系,对于深入理解PF的发生、发展以及开发新的治疗策略具有重要意义。

1 外泌体的生物发生、释放和摄取

外泌体的生物合成途径起始于分子货物的内吞形

收稿日期:2023-09-15 修回日期:2023-11-02

* 河北省自然科学基金(H2021201040)资助项目

**通讯作者,电子信箱:315338610@qq.com

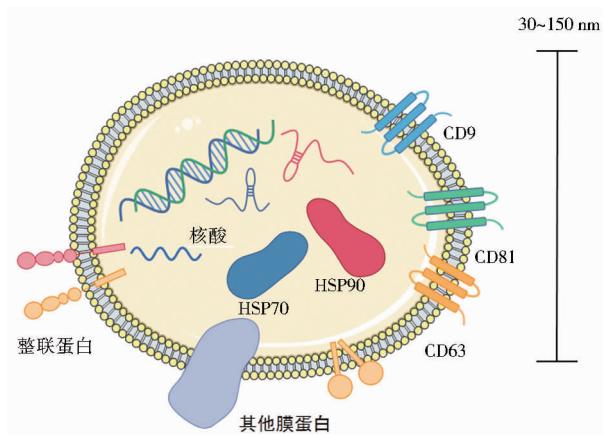


图1 外泌体组成
Fig. 1 Exosome composition

成早期内体。早期内体是细胞产生的初始囊泡,这是内体转运途径的第一站,对内吞货物进行初步分类和命运确定。早期内体的货物采用以下出发途径:用于循环的货物定位在内体的外周管状结构域,之后分离与再循环内体中的高尔基体网络或质膜融合;未循环的货物将集中在早期内体的中心空泡区域并致力于内体成熟途径,最终形成晚期内体,晚期内体与溶酶体融合后降解或与质膜融合后释放外泌体^[12]。内体成熟过程伴随着内体膜的变化,包括膜组成的改变和允许其下游移动和分选,以及囊泡成熟后内体膜某些区域开始内陷,随后出芽脱离细胞质进入内体腔隙,从而产生腔内囊泡(intraluminal vesicles, ILVs)并导致晚期内体

出现多囊泡体(multivesicular bodies, MVBs)^[13]。如果MVB沿着溶酶体融合的路径,ILVs的货物将被降解。但如果MVB与细胞质膜融合,ILVs则分泌到细胞外成为外泌体^[14](图2)。

MVBs的释放遵循一般的囊泡对接和融合方案,主要参与者包括囊泡上蛋白(v-ethylmaleimide-sensitive factor attachment protein receptors,V-SNAREs)、靶膜上蛋白(t-ethylmaleimide-sensitive factor attachment protein receptors,T-SNAREs)、单体GTP酶(targeting GTPase,RAB)、系链和其他蛋白质^[15]。SNARE蛋白在分泌过程中通过促进内体和质膜的融合发挥重要作用。V-

SNARE和T-SNARE结合复合物在融合膜之间相互作用,Rabs通过招募特异性的系链与SNARE蛋白结合,以确保适当的膜靶向性并与细胞膜上囊泡对接^[16](图3)。

当MVBs与细胞膜融合后,ILVs作为外泌体分泌到细胞外从而被摄取。目前,细胞外囊泡(extracellular vesicle,EV)的靶向机制和参与者尚不明确,其中面临的一个问题是外泌体的传递在多大程度上是随机的而不是目的地特异性的^[17]。然而,外泌体表面蛋白可通过直接与靶细胞质膜受体相互作用、与其膜融合或发生内吞作用^[18-19],进而影响细胞(图3)。

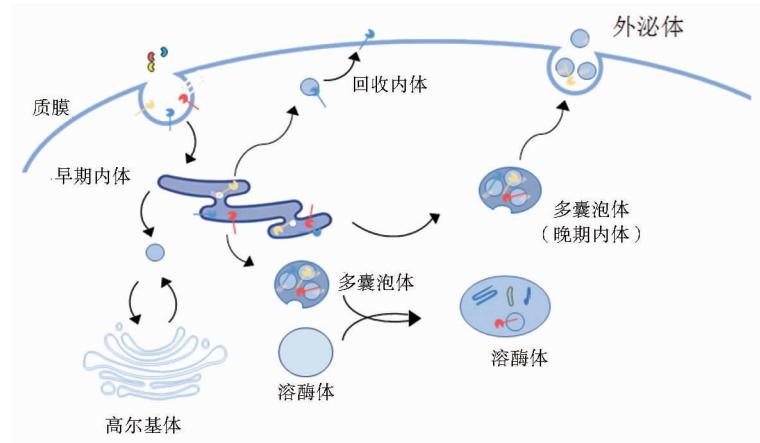


图2 外泌体的生物发生

Fig. 2 Biogenesis of exosomes

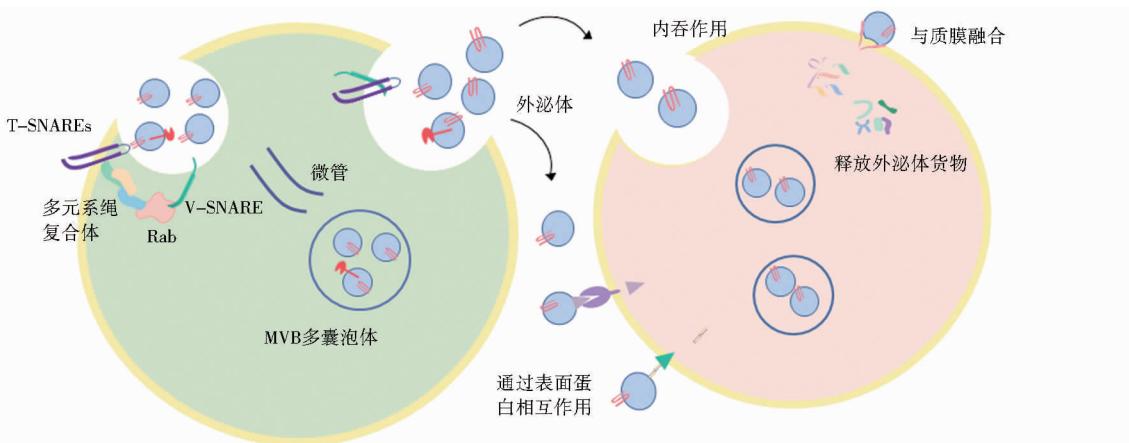


图3 外泌体的释放与摄取

Fig. 3 Release and uptake of exosomes

2 外泌体与PF的关系

目前研究认为,PF的发病机制与肺损伤和修复受

损相关,多种原因导致肺上皮细胞损伤,随后炎性细胞募集和大量促炎细胞因子释放引发免疫应答。其中进行性过程包括病理性成纤维细胞分化、内皮细胞死亡、

基质沉积、血管硬度增加以及成纤维细胞和上皮细胞的促纤维化表观遗传学改变^[20]。受损的肺上皮细胞发生上皮间质转化,引起间充质细胞持续活化和基质重塑,促纤维化介质作用于肺成纤维细胞,引起成纤维细

胞的过度增殖和分化,这反过来促进肌成纤维细胞的增殖和细胞外基质(extracellular matrix, ECM)的过度沉积^[21],最终导致肺功能衰竭。肺组织中的过度 ECM 沉积如图 4 所示。

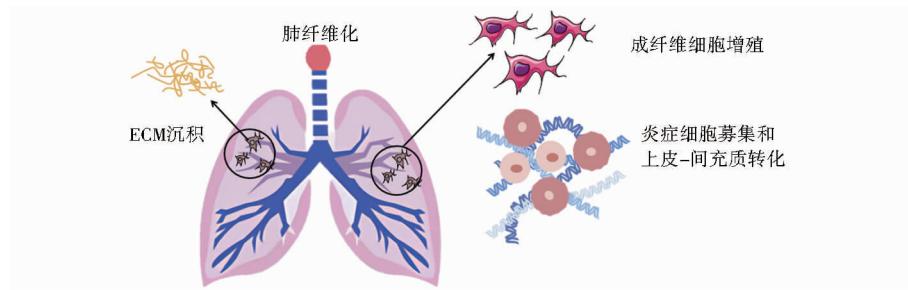


图 4 肺纤维化中 ECM 沉积

Fig. 4 ECM deposition in pulmonary fibrosis

2.1 外泌体影响 PF 中的 ECM 沉积

PF 的一个特征是大量 ECM 沉积。PF 中的上皮细胞损伤后,产生的细胞因子会刺激成纤维细胞增殖和分化为肌成纤维细胞,从而产生高量的胶原蛋白、纤维连接蛋白和其他 ECM 蛋白质,并且在间质部位沉积,导致气体交换减弱和肺功能受损,最终导致呼吸衰竭^[22-23]。

PF 大鼠支气管肺泡灌洗液(bronchoalveolar lavage fluid, BALF)中的外泌体,特别是外泌体 miR-204-5p,促进了肺组织内成纤维细胞增殖和胶原沉积,表明外泌体可能通过调节 ECM 沉积参与 PF 过程^[24]。此外,肺泡上皮细胞来源的长链非编码 RNA(long non-coding RNA, lncRNA) HOTAIRM1 通过由细胞外分泌的外泌体传递,能够促进肺成纤维细胞增殖和分化,通过调节 miR-30d-3p/HSF1/YY1 信号通路促进 ECM 重塑^[25]。在 PF 中,Wnt5a 直接通过 EVs 转运并诱导成纤维细胞增殖。肺球状细胞衍生外泌体(lung spheroid cell exosome, LSC-Exo)可以减少博来霉素或二氧化硅诱导的 PF 中的胶原沉积,抑制肌成纤维细胞的增殖^[26]。上述研究阐述了外泌体在调节成纤维细胞和肌成纤维细胞增殖中的作用,这可能是研究外泌体在 PF 中调节 ECM 沉积机制的切入点^[27]。

2.2 外泌体影响 PF 的炎症和免疫反应

肺纤维化是肺过度创伤修复和组织重塑的结果,通常被认为是由上皮损伤引起的慢性炎症和最终纤维化的结果^[28]。炎症刺激或炎症状态的持续是 PF 发展的重要条件。肺损伤后,受损的上皮和招募的炎症细胞会分泌多种介质,包括转化生长因子 β(transforming

growth factor beta, TGF-β),以调节上皮修复并促进成纤维细胞的招募和肌成纤维细胞的激活^[29]。

巨噬细胞在不同的环境和细胞因子刺激下可以极性化为 M1 和 M2 表型。在慢性炎症条件下,促炎症的 M1 巨噬细胞逐渐转化为更具抗炎症的 M2 表型,分泌促进伤口愈合的介质。M2 型巨噬细胞通过分泌多种生长因子(包括 TGF-β)来调节纤维化^[28]。

氧化应激和炎症密切相关,在纤维化过程中发挥促纤维化作用。在持续的刺激下,异常功能的线粒体会产生过多的反应活性氧化物(reactive oxygen species, ROS)^[30]。ROS 可以通过影响 NF-κB 信号、TNF 信号等参与炎症。此外,ROS 的异常产生和积累可能导致核酸、蛋白质、脂质和糖类的细胞损伤,从而参与 PF 的发病机制^[31]。

外泌体可以通过调节一些典型的炎症通路,如 NF-κB、MAPK 等,降低 PF 疾病的炎症细胞浸润并参与 PF 疾病的调节。在这些研究中,外泌体中包含的 miRNA 可以在 PF 的调节中发挥重要作用^[32]。外泌体也可以通过影响 ROS 来调节 PF,如外泌体 let-7 通过调节 ROS 和线粒体 DNA 损伤来发挥抗 PF 作用^[33]。

一些研究侧重于外泌体对免疫细胞分化和增殖的影响。在这些研究中,外泌体可以通过调节单核细胞和巨噬细胞的表型转化、增强巨噬细胞吞噬作用、抑制 T 细胞增殖等方式减轻 PF^[34]。例如,诱导多能干细胞的外泌体通过 miR-302a-3p/TET1 轴抑制 M2 型巨噬细胞,从而在 PF 期间减轻症状^[35]。

巨噬细胞可以通过其分泌的外泌体参与 PF 的进展。巨噬细胞来源的外泌体在接触二氧化硅后促进肌

成纤维细胞分化、增殖和迁移^[36]。对博来霉素引起的肺纤维化模型的研究发现,巨噬细胞来源的外泌体通过将血管紧张素Ⅱ型1受体传递给肺纤维母细胞,介导了巨噬细胞和纤维母细胞之间的细胞间通讯^[37],从而影响PF的进展。

2.3 外泌体调节PF相关细胞因子

近年来一些研究表明,外泌体可以调节肺部纤维化相关细胞因子的表达和分泌。例如,过度表达miRNA-30b-3p的间充质干细胞衍生的外泌体可通过抑制SAA3(血清淀粉样蛋白A)来抵抗脂多糖诱导的急性肺损伤^[38]。miR-142-3p在肺泡上皮细胞和肺成纤维细胞中的过表达能够降低TGF-β1的表达和分泌,从而减轻肺部纤维化的程度^[39]。

除了调节细胞因子的表达和分泌外,外泌体还可以通过调节免疫细胞功能来影响肺部纤维化。人类脂肪干细胞来源的外泌体通过抑制肺泡巨噬细胞焦亡,有效减轻了香烟烟雾诱导的气道黏液过度产生、肺部炎症和损伤^[11]。

总之,外泌体在肺部纤维化中发挥着重要的调节作用,通过调节肺部纤维化相关细胞因子的表达和分泌,能够影响免疫细胞功能和调节肺部间质细胞的增殖和分化。这些发现为肺部纤维化的治疗提供了新的思路和策略。

3 外泌体作为PF的生物标志物

包括特发性肺纤维化在内的多种纤维性间质性肺病生存率较低,患者可能会更加受益于早期诊断和及时治疗,因此PF的确切、早期的诊断至关重要。生物标志物在PF中具有重要作用,可以客观地检测和评估生理、病理过程或药物治疗干预的指标。多项研究表明,在血液和痰液等体液中检测到的外泌体具有成为PF诊断、预后和预测的生物标志物的潜力^[40]。血液检查、痰液检查和支气管镜检查是诊断呼吸系统疾病的工具,而外泌体miRNA可以通过这些检查进行检测。一些研究已经报道了某些外泌体miRNA作为PF诊断生物标志物的潜力。

3.1 血液来源外泌体

血液来源的外泌体miRNA在临床中具有重要价值。与健康受试者相比,从特发性肺纤维化(idiopathic pulmonary fibrosis, IPF)患者血清中分离的外泌体miRNA,抗纤维化miRNA、miR-141水平显著降低,致纤维化miR-7水平升高,导致ECM沉积^[41]。分析IPF患

者血清中5种外泌体miRNA的表达水平,发现miR-16、miR-21、miR-26a、miR-210和let-7d在IPF患者血清外泌体中下调,尽管与健康受试者相比,只有miR-16和let-7d具有统计学意义。此外,let-7d被证明具有抗纤维化作用^[42]。

血液检测是微创的,外泌体miRNA是稳定的。因此,血液外泌体miRNA可作为IPF诊断和预后以及评估疾病严重程度的可靠标志物。外泌体可以用作靶向治疗IPF的miRNA递送平台。

3.2 支气管肺泡灌洗液来源外泌体

BALF主要由细胞(包括驻留的固有气管和肺泡细胞以及募集的炎性细胞)组成,但也含有EV或外泌体^[43]。作为一种重要的诊断材料,BALF可提供有关肺泡中发生的免疫、感染和炎症过程的信息。研究发现,老年IPF患者BALF外泌体中miRNA表达模式与健康对照组存在差异,IPF患者中miR-125b、miR-128、miR-21、miR-100、miR-140-3p和miR-374b表达增加,而let-7d、miR-103、miR-26和miR-30a-5p表达减少^[44]。此外,miR-30a-5p的过表达可抑制TGF-β活化激酶1/MAP3K7-结合蛋白3(TAB3)的表达,从而延缓PF的发生^[44]。

IPF患者和健康对照之间的差异miRNA表达谱可能代表IPF筛查和诊断的最低侵入性生物标志物。BALF来源的外泌体miRNA可能成为比侵入性肺组织活检更实用和可靠的生物标志物。

3.3 巨噬细胞来源外泌体

巨噬细胞在免疫反应中起关键作用,但它们也会促进PF的发生。巨噬细胞可分为两个亚群:M1巨噬细胞的特征是分泌促炎细胞因子和趋化因子(如IL-1β、IL-6、IL-12、IL-23、TNF-α和CCL2);M2巨噬细胞产生抗炎细胞因子和趋化因子(如IL-4、IL-13、TGF-β和CXCL-8)^[45]。miRNA可以调控巨噬细胞极化,在辐射诱导的PF中M2巨噬细胞极化的调节研究中,发现miR-21和miR-155具有促纤维化作用,而let-7i和miR-107、miR-126、miR-140和miR-511具有抗纤维化作用^[46]。

外源性miRNA分析表明,miR-142-3p在IPF患者的痰液和血浆中显著升高。相关性分析揭示,外泌体miR-142-3p与IPF患者痰液中巨噬细胞百分比呈正相关。此外,巨噬细胞来源的外泌体通过向肺泡上皮细胞和肺成纤维细胞递送抗纤维化miR-142-3p来抑制TGF-β受体1,从而减轻PF^[39]。因此,有证据表明巨噬

细胞来源的外源性 miRNA 在促进成纤维细胞增殖和 PF 进展中发挥作用。

3.4 痰液来源外泌体

尽管 BALF 分析是评估 IPF 最常用的技术,但诱导痰被认为是一种更安全、侵入性更低的方法,已被证明对呼吸系统疾病具有临床价值^[47]。Njock 等^[48]进行了 miRNA 定量 PCR 阵列分析,以检测 IPF 患者和健康受试者痰液来源外泌体的 miRNA 表达谱。结果表明,21 个 miRNA 分子在 IPF 中差异表达(7 个未调节,14 个下调)。此外,该研究团队还检查了 7 种异常表达的 miRNA 分子(3 种上调的 miRNA 分子,包括 miR-33a-5p,miR-142-3p 和 miR-192-5;4 种下调,包括 let-7d-5p,miR-26a-5p,miR-29b-3p 和 miR-423-3p)。值得注意的是,miR-142-3p 的表达与一氧化碳/肺泡容积呈负相关,而 let-7d-5p 的表达呈正相关,这表明痰液中的外泌体 miRNA 可能与 PF 的严重程度相关。以上研究表明,对 IPF 患者痰液来源的外泌体 miRNA 的研究可能有助于验证先前从其他样品(如血清、血浆、BALF 和唾液)中鉴定的 miRNA,以及在 IPF 进展中鉴定具有潜在功能的新型 miRNA。

4 外泌体在 PF 治疗中的潜力

肺移植是目前治疗大多数 PF 最有效的方法。然而,由于供体器官的有限性、排斥反应和治疗费用,仅有少数患者能够从中受益。PF 的药物治疗选择相对有限,如 IPF 的主要治疗选择包括尼达尼布、吡非尼酮及两者的联合治疗^[49]。尽管这些药物能在一定程度上能够减缓 PF 的疾病进展,但却有药物不良反应,并且无法治愈疾病。许多 PF 患者在诊断后生活质量低且存活时间短,因此迫切需要能够延缓甚至逆转 PF 的治疗方法。目前越来越多的研究致力于寻找 PF 安全有效的新疗法,如前所述,外泌体具有调节成纤维细胞增殖、分化和 ECM 沉积的能力,且已有研究证实外泌体在动物模型中对 PF 具有治疗潜力。

Dinh 等^[50] 利用肺球状细胞分泌体(lung spheroid cell secretor, LSC-Sec)和 LSC-Exo,通过吸入治疗不同的肺损伤和纤维化模型。结果表明,LSC-Sec 和 LSC-Exo 治疗可通过重建正常肺泡结构并减少胶原蛋白蓄积和肌成纤维细胞增殖,从而减轻和消除博来霉素和二氧化硅诱导的肺纤维化。

在 IPF 中,纤维化病变中的肌成纤维细胞主要来源于肺组织中原成纤维细胞的转化、外周血液循环中骨髓

源性成纤维细胞的迁移和分化以及局部肺泡上皮细胞的上皮间质转化^[51]。来自骨髓间充质干细胞(bone mesenchymal stem cells, BMSCs)的外泌体不仅具有与 BMSCs 移植相似的疗效,还能降低移植相关的风险,如免疫排斥、致畸性肿瘤和肺栓塞^[52]。因此,利用 BMSCs 来源的外泌体修复受损器官的研究日益增多。在心肌缺血再灌注损伤治疗中,使用 BMSCs 后一周仅有不到 1% 的细胞存活且未分化为心肌细胞,但 BMSCs 通过外泌体介导的旁分泌机制保护了心脏^[53]。外泌体在肺损伤和 PF 中表现出优异的疗效^[54],具有与间充质干细胞相似甚至更好的治疗潜力。BMSCs 条件培养基可促进肺泡上皮创面修复,抑制肺泡上皮间充质转化并显著抑制矽肺^[55]。小鼠脂肪来源的 MSCs 及其外泌体可以改善晚期矽肺模型中的 PF 和炎症,高浓度的外泌体可以达到与 MSCs 相当的治疗效果^[56]。在矽肺模型中,BMSCs 可以迁移到受损的肺组织,但不能分化为肺泡上皮细胞。相反,BMSCs 促进 II 型肺泡上皮细胞的增殖,抑制 II 型肺泡上皮纤维化,通过旁分泌途径抑制胶原沉积^[57]。因此,BMSCs 主要通过旁分泌外泌体起作用,外泌体是调节 BMSCs 向肌成纤维细胞分化的关键因素。

总之,外泌体作为一种新型治疗策略,能够调节成纤维细胞的增殖、分化和 ECM 沉积,减缓甚至逆转 PF 的进程,在 PF 治疗中具有广阔的应用前景。此外,与 BMSCs 移植相比,外泌体具有更低的免疫排斥风险、致畸性肿瘤风险和肺栓塞风险。尽管目前已有大量关于外泌体在 PF 治疗中的研究,但仍需进一步探讨其作用机制、优化治疗方案以及评估其在临床应用的安全性和有效性。随着对外泌体的深入研究,有望为 PF 患者带来更为安全、有效的治疗方法。

5 外泌体作为 PF 药物递送载体的潜力

长期以来,口服给药一直被认为是最理想的药物给予途径。然而,胃肠道的环境特点使得药物在通过胃肠壁时很难被机体充分吸收,这导致口服给药的生物利用度相当低。研究表明,外泌体能够抵御胃肠道的恶劣环境,可在肠道内被有效吸收,因此可以用于药物口服递送系统^[58]。随着纳米医学的进步,纳米药物递送系统在稳定、安全和有效的药物递送方面发挥着重要作用,肺部药物递送载体(如外泌体)的研究有助于推动 PF 疗法的发展^[59]。与人工合成的纳米药物递送系统(如脂质体)相比,外泌体在药物递送方面具有

独特优势,外泌体是亲代细胞自然分泌的产物,广泛且稳定地存在于体液中,具有良好的生物相容性和低免疫原性^[60-61]。外泌体富含脂质成分^[62],有助于负载亲水性和亲脂性活性药物,而 PF 治疗药物吡非尼酮正是一种亲脂性药物^[63]。外泌体能够介导体内的细胞间通讯,具有靶向组织和细胞的能力,并且可以穿过生物屏障如血脑屏障^[64]。外泌体除了作为天然性转运载体外,还能够通过人工修饰与靶向疾病的各分子相结合,更精准地递送药物^[65]。以上特性和功能,使得外泌体具有将 PF 治疗剂(如药物)递送到目标部位的潜力。

Kim 等^[66]将 RAGE 结合肽(RBP,一种抗炎肽)装入外泌体并与外泌体膜蛋白 Lamp2b 相连,形成 RBP 连接的外泌体(RBP-exo)。细胞实验表明,RBP-exo 具有抗炎作用。研究人员将姜黄素加载到 RBP-exo 中以增强抗炎作用。结果显示,负载姜黄素的 RBP-exo(RBP-exo/Cur)比单独的姜黄素或负载在未修饰的外泌体(unmod-exo/Cur)中的姜黄素具有更高的细胞内传递效率。这表明 RBP-exo 表面的 RBP 可能与 RAGE 相互作用,从而提高姜黄素的细胞内递送效率。此外,RBP-exo/Cur 在体外的抗炎作用优于单独的姜黄素、RBP 和姜黄素的混合物。在体内评估中,通过气管内灌注将 RBP-exo/Cur 送入急性肺损伤(acute lung injury, ALI)模型的肺部。结果显示,RBP-exo/Cur 比单独的姜黄素、RBP-exo 和 unmod-exo/Cur 能够更有效地减少促炎细胞因子,表明使用外泌体作为载体的 RBP 和姜黄素的组合对 ALI 治疗可能具有益处。

Sun 等^[67]设计了一种具有非特异性吞噬抑制作用和成纤维细胞归巢特性的装载氯膦酸盐(clodronate-loaded, CLD)的脂质体与成纤维细胞衍生的外泌体(fibroblast-derived exosome clodronate-loaded, EL-CLD)混合药物递送系统,用于治疗 PF。研究发现,经静脉注射后,EL-CLD 通过被动靶向有效地减少了 Kupffer 细胞的凋亡,从而显著降低 Kupffer 细胞在肝脏中的蓄积。EL-CLD 混合系统优先积聚在纤维化肺中,由于对同种外泌体的成纤维细胞具有特定的亲和力,因此通过靶向递送显著增加了肺纤维化组织内部的渗透性。尼达尼布是一种用于治疗 PF 的抗纤维化药物,已装入 EL-CLD 系统中并取得了显著的疗效改善。尼达尼布增强的治疗功效是肺纤维化组织积累和递送增强的结果,同时巨噬细胞诱导的炎症反应减弱。EL-CLD 混合系统作为肺抗纤维化药物的有效载体可望发展为一种有效的成纤维细胞特异性疗法。随着技术的不断改进,

外泌体在抗 PF 治疗中作为药物递送载体的应用前景非常广阔。

综上所述,外泌体作为一种具有独特优势的药物递送系统,在 PF 治疗中具有重要的应用价值。然而,外泌体在 PF 治疗中的应用仍面临一些挑战,如提高药物负载效率、优化药物释放和控制副作用等。未来,随着外泌体研究的深入和技术的进步,有望解决这些问题,使外泌体成为一种更加有效和安全的药物递送载体,为 PF 患者带来更好的治疗效果。

6 结 论

近年来,对外泌体的研究呈现快速增长的趋势,对外泌体与多种呼吸系统疾病(包括 PF)之间关系的研究已经取得了许多进展。外泌体在人类细胞间的通讯中扮演着重要角色,参与多种生理病理过程,与许多治疗机制密切相关。多项研究表明,外泌体参与了 PF 中的炎症、免疫和 ECM 沉积等过程,这与其调节肺部炎症细胞浸润、免疫细胞增殖以及成纤维细胞增殖和分化的能力相关。因此,外泌体在 PF 的诊断和预后判断方面具有巨大的潜力,显示出预防、缓解甚至逆转 PF 的治疗前景。此外,外泌体具有生物相容性、低免疫原性和靶向组织的能力,这为抗 PF 药物递送系统的研究提供了新的思路。然而,要将外泌体作为 PF 中的生物标志物和治疗剂的潜力转化为临床应用,仍需进行深入的研究。当前,外泌体在 PF 中的诊断和治疗机制仍不清楚,而外泌体提取、保存和载药等方面存在一些障碍,技术基础尚不成熟,因此需要探索有效、快速、简化、可重复和可扩展的途径以推动其临床应用,这需要多学科团队的持续努力。随着外泌体在 PF 的临床应用逐渐成熟,将会使更多的 PF 患者受益。

致谢 感谢河北大学医学学科培育项目(2021A02)对本研究的资助。

参考文献

- [1] Wijzenbeek M. Progress in the treatment of pulmonary fibrosis. *The Lancet Respiratory Medicine*, 2020, 8(5): 424-425.
- [2] Anel A, Gallego-Lleyda A, de Miguel D, et al. Role of exosomes in the regulation of T-cell mediated immune responses and in autoimmune disease. *Cells*, 2019, 8(2): 154.
- [3] Popowski K, Lutz H, Hu S Q, et al. Exosome therapeutics for lung regenerative medicine. *Journal of Extracellular Vesicles*, 2020, 9(1): 1785161.

- [4] Zhang T, Zhang M, Yang L Q, et al. Potential targeted therapy based on deep insight into the relationship between the pulmonary microbiota and immune regulation in lung fibrosis. *Frontiers in Immunology*, 2023, 14: 1032355.
- [5] Mathieu M, Martin-Jaulier L, Lavieu G, et al. Specificities of secretion and uptake of exosomes and other extracellular vesicles for cell-to-cell communication. *Nature Cell Biology*, 2019, 21 (1): 9-17.
- [6] Cui X J, Huang M S, Wang S W, et al. Circulating exosomes from patients with Graves' disease induce an inflammatory immune response. *Endocrinology*, 2021, 162(3): bqaa236.
- [7] Zhang B, Yeo R W Y, Lai R C, et al. Mesenchymal stromal cell exosome-enhanced regulatory T-cell production through an antigen-presenting cell-mediated pathway. *Cyotherapy*, 2018, 20 (5): 687-696.
- [8] Zhong Y X, Li X, Wang F L, et al. Emerging potential of exosomes on adipogenic differentiation of mesenchymal stem cells. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 2021, 9: 649552.
- [9] Liu K, Gao X, Kang B Q, et al. The role of tumor stem cell exosomes in cancer invasion and metastasis. *Frontiers in Oncology*, 2022, 12: 836548.
- [10] Ferguson S W, Wang J L, Lee C J, et al. The microRNA regulatory landscape of MSC-derived exosomes: a systems view. *Scientific Reports*, 2018, 8(1): 1419.
- [11] Yang Y F, Huang H, Li Y. Roles of exosomes and exosome-derived miRNAs in pulmonary fibrosis. *Frontiers in Pharmacology*, 2022, 13: 928933.
- [12] 彭雪强. IKK β 激活诱导肿瘤细胞自噬内涵体形成和细胞外囊泡分泌的机制研究. 沈阳: 中国医科大学, 2021.
Peng X Q. The mechanism of IKK β activation promotes amphisome formation and extracellular vesicle secretion in tumor cells. Shenyang: China Medical University, 2021.
- [13] Xu M X, Ji J, Jin D D, et al. The biogenesis and secretion of exosomes and multivesicular bodies (MVBs): intercellular shuttles and implications in human diseases. *Genes & Diseases*, 2023, 10(5): 1894-1907.
- [14] Wang X N, Wu R Y, Zhai P S, et al. Hypoxia promotes EV secretion by impairing lysosomal homeostasis in HNSCC through negative regulation of ATP6V1A by HIF-1 α . *Journal of Extracellular Vesicles*, 2023, 12(2): e12310.
- [15] Pfeffer S R. Unsolved mysteries in membrane traffic. *Annual Review of Biochemistry*, 2007, 76: 629-645.
- [16] Bröcker C, Engelbrecht-Vandré S, Ungermann C. Multisubunit tethering complexes and their role in membrane fusion. *Current Biology*, 2010, 20(21): R943-R952.
- [17] Mulcahy L A, Pink R C, Carter D R F. Routes and mechanisms of extracellular vesicle uptake. *Journal of Extracellular Vesicles*, 2014, 3: 24641.
- [18] Krylova S V, Feng D R. The machinery of exosomes: biogenesis, release, and uptake. *International Journal of Molecular Sciences*, 2023, 24(2): 1337.
- [19] Tian T, Zhu Y L, Zhou Y Y, et al. Exosome uptake through clathrin-mediated endocytosis and macropinocytosis and mediating miR-21 delivery. *Journal of Biological Chemistry*, 2014, 289 (32): 22258-22267.
- [20] Puglisi S, Torrisi S E, Giuliano R, et al. What we know about the pathogenesis of idiopathic pulmonary fibrosis. *Seminars in Respiratory and Critical Care Medicine*, 2016, 37(3): 358-367.
- [21] Mei Q R, Liu Z, Zuo H, et al. Idiopathic pulmonary fibrosis: an update on pathogenesis. *Frontiers in Pharmacology*, 2021, 12: 797292.
- [22] Deng Z J, Fear M W, Choi Y S, et al. The extracellular matrix and mechanotransduction in pulmonary fibrosis. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 2020, 126: 105802.
- [23] Bueno M, Calyeca J, Rojas M, et al. Mitochondria dysfunction and metabolic reprogramming as drivers of idiopathic pulmonary fibrosis. *Redox Biology*, 2020, 33: 101509.
- [24] Zhu L, Chen Y H, Chen M, et al. Mechanism of miR-204-5p in exosomes derived from bronchoalveolar lavage fluid on the progression of pulmonary fibrosis via AP1S2. *Annals of Translational Medicine*, 2021, 9(13): 1068.
- [25] Chen L, Yang Y, Yue R M, et al. Exosomes derived from hypoxia-induced alveolar epithelial cells stimulate interstitial pulmonary fibrosis through a HOTAIR1-dependent mechanism. *Laboratory Investigation*, 2022, 102: 935-944.
- [26] Martin-Medina A, Lehmann M, Burgi O, et al. Increased extracellular vesicles mediate WNT5A signaling in idiopathic pulmonary fibrosis. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 2018, 198(12): 1527-1538.
- [27] Tsukui T, Sun K H, Wetter J B, et al. Collagen-producing lung cell atlas identifies multiple subsets with distinct localization and relevance to fibrosis. *Nature Communications*, 2020, 11 (1): 1920.
- [28] Heukels P, Moor C C, von der Thüsen J H, et al. Inflammation and immunity in IPF pathogenesis and treatment. *Respiratory Medicine*, 2019, 147: 79-91.
- [29] Hewlett J C, Kropski J A, Blackwell T S. Idiopathic pulmonary fibrosis: epithelial-mesenchymal interactions and emerging therapeutic targets. *Matrix Biology*, 2018, 71-72: 112-127.
- [30] Lv M, Liu Y, Ma S L, et al. Current advances in idiopathic pulmonary fibrosis: the pathogenesis, therapeutic strategies and candidate molecules. *Future Medicinal Chemistry*, 2019, 11 (19): 2595-2620.
- [31] Cameli P, Carleo A, Bergantini L, et al. Oxidant/antioxidant

- disequilibrium in idiopathic pulmonary fibrosis pathogenesis. *Inflammation*, 2020, 43(1) : 1-7.
- [32] Tan J L, Lau S N, Leaw B, et al. Amnion epithelial cell-derived exosomes restrict lung injury and enhance endogenous lung repair. *Stem Cells Translational Medicine*, 2018, 7 (2) : 180-196.
- [33] Sun L F, Zhu M, Feng W, et al. Exosomal miRNA let-7 from menstrual blood-derived endometrial stem cells alleviates pulmonary fibrosis through regulating mitochondrial DNA damage. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2019, 2019: 4506303.
- [34] Mansouri N, Willis G R, Fernandez-Gonzalez A, et al. Mesenchymal stromal cell exosomes prevent and revert experimental pulmonary fibrosis through modulation of monocyte phenotypes. *JCI Insight*, 2019, 4 (21) : e128060.
- [35] Zhou Y, Gao Y, Zhang W, et al. Exosomes derived from induced pluripotent stem cells suppresses M2-type macrophages during pulmonary fibrosis via miR-302a-3p/TET1 axis. *International Immunopharmacology*, 2021, 99: 108075.
- [36] Qin X F, Lin X F, Liu L, et al. Macrophage-derived exosomes mediate silica-induced pulmonary fibrosis by activating fibroblast in an endoplasmic reticulum stress-dependent manner. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 2021, 25 (9) : 4466-4477.
- [37] Sun N N, Zhang Y, Huang W H, et al. Macrophage exosomes transfer angiotensin II type 1 receptor to lung fibroblasts mediating bleomycin-induced pulmonary fibrosis. *Chinese Medical Journal*, 2021, 134(18) : 2175-2185.
- [38] Yi X M, Wei X X, Lv H J, et al. Exosomes derived from microRNA-30b-3p-overexpressing mesenchymal stem cells protect against lipopolysaccharide-induced acute lung injury by inhibiting SAA3. *Experimental Cell Research*, 2019, 383(2) : 111454.
- [39] Guiot J, Cambier M, Boeckx A, et al. Macrophage-derived exosomes attenuate fibrosis in airway epithelial cells through delivery of antifibrotic miR-142-3p. *Thorax*, 2020, 75 (10) : 870-881.
- [40] Qin X J, Zhang J X, Wang R L. Exosomes as mediators and biomarkers in fibrosis. *Biomarkers in Medicine*, 2020, 14 (8) : 697-712.
- [41] Wu Y H, Yuan W, Ding H, et al. Serum exosomal miRNA from endometriosis patients correlates with disease severity. *Archives of Gynecology and Obstetrics*, 2022, 305(1) : 117-127.
- [42] Lacedonia D, Scioscia G, Soccio P, et al. Downregulation of exosomal let-7d and miR-16 in idiopathic pulmonary fibrosis. *BMC Pulmonary Medicine*, 2021, 21(1) : 188.
- [43] Shaba E, Landi C, Carleo A, et al. Proteome characterization of BALF extracellular vesicles in idiopathic pulmonary fibrosis: unveiling undercover molecular pathways. *International Journal of Molecular Sciences*, 2021, 22 (11) : 5696.
- [44] Liu B, Jiang T S, Hu X G, et al. Downregulation of microRNA-30a in bronchoalveolar lavage fluid from idiopathic pulmonary fibrosis patients. *Molecular Medicine Reports*, 2018, 18 (6) : 5799-5806.
- [45] Vasse G F, Nizamoglu M, Heijink I H, et al. Macrophage-stroma interactions in fibrosis: biochemical, biophysical, and cellular perspectives. *The Journal of Pathology*, 2021, 254 (4) : 344-357.
- [46] Kishore A, Petrek M. Roles of macrophage polarization and macrophage-derived miRNAs in pulmonary fibrosis. *Frontiers in Immunology*, 2021, 12: 678457.
- [47] Guiot J, Demarche S, Henket M, et al. Methodology for sputum induction and laboratory processing. *Journal of Visualized Experiments*, 2017(130) : e56612.
- [48] Njock M S, Guiot J, Henket M A, et al. Sputum exosomes: promising biomarkers for idiopathic pulmonary fibrosis. *Thorax*, 2019, 74 (3) : 309-312.
- [49] Wollin L, Distler J H W, Redente E F, et al. Potential of nintedanib in treatment of progressive fibrosing interstitial lung diseases. *The European Respiratory Journal*, 2019, 54 (3) : 1900161.
- [50] Dinh P U C, Paudel D, Brochu H, et al. Inhalation of lung spheroid cell secretome and exosomes promotes lung repair in pulmonary fibrosis. *Nature Communications*, 2020, 11 (1) : 1064.
- [51] Worthington E N, Hagood J S. Therapeutic use of extracellular vesicles for acute and chronic lung disease. *International Journal of Molecular Sciences*, 2020, 21 (7) : 2318.
- [52] Mehryab F, Rabbani S, Shahhosseini S, et al. Exosomes as a next-generation drug delivery system: an update on drug loading approaches, characterization, and clinical application challenges. *Acta Biomaterialia*, 2020, 113: 42-62.
- [53] Lai R C, Arslan F, Lee M M, et al. Exosome secreted by MSC reduces myocardial ischemia/reperfusion injury. *Stem Cell Research*, 2010, 4 (3) : 214-222.
- [54] Liang H Y, Zhang L Y, Zhao X X, et al. The therapeutic potential of exosomes in lung cancer. *Cellular Oncology*, 2023, 46 (5) : 1181-1212.
- [55] Wang X, Gao J L, Zhao M M, et al. Therapeutic effects of conditioned medium from bone marrow-derived mesenchymal stem cells on epithelial-mesenchymal transition in A549 cells. *International Journal of Molecular Medicine*, 2018, 41 (2) : 659-668.
- [56] Bandeira E, Oliveira H, Silva J D, et al. Therapeutic effects of adipose-tissue-derived mesenchymal stromal cells and their extracellular vesicles in experimental silicosis. *Respiratory*

- Research, 2018, 19(1): 104.
- [57] Hostettler K E, Gazdhar A, Khan P, et al. Multipotent mesenchymal stem cells in lung fibrosis. *PLoS One*, 2017, 12(8): e0181946.
- [58] 郝东霞, 田梦园, 刘洋, 等. 乳外泌体的基本性质及其应用. *中国生物工程杂志*, 2023, 43(Z1): 26-42.
- Hao D X, Tian M Y, Liu Y, et al. Basic properties and applications of milk exosomes. *China Biotechnology*, 2023, 43(Z1): 26-42.
- [59] Skibba M, Drelich A, Poellmann M, et al. Nanoapproaches to modifying epigenetics of epithelial mesenchymal transition for treatment of pulmonary fibrosis. *Frontiers in Pharmacology*, 2020, 11: 607689.
- [60] 吴忧, 辛林. 新的药物传递系统: 外泌体作为药物载体递送. *中国生物工程杂志*, 2020, 40(9): 28-35.
- Wu Y, Xin L. New drug delivery system: delivery of exosomes as drug carriers. *China Biotechnology*, 2020, 40(9): 28-35.
- [61] Hazrati A, Mirsanei Z, Heidari N, et al. The potential application of encapsulated exosomes: a new approach to increase exosomes therapeutic efficacy. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2023, 162: 114615.
- [62] Moholkar D N, Kandimalla R, Gupta R C, et al. Advances in lipid-based carriers for cancer therapeutics: liposomes, exosomes and hybrid exosomes. *Cancer Letters*, 2023, 565: 216220.
- [63] Guiot J, Struman I, Louis E, et al. Exosomal miRNAs in lung diseases: from biologic function to therapeutic targets. *Journal of Clinical Medicine*, 2019, 8(9): 1345.
- [64] Chen C C, Liu L N, Ma F X, et al. Elucidation of exosome migration across the blood-brain barrier model *in vitro*. *Cellular and Molecular Bioengineering*, 2016, 9(4): 509-529.
- [65] 吕慧中, 赵晨辰, 朱链, 等. 外泌体靶向递药在肿瘤治疗中的进展. *中国生物工程杂志*, 2021, 41(5): 79-86.
- Lv H Z, Zhao C C, Zhu L, et al. Progress of using exosome for drug targeted delivery in tumor therapy. *China Biotechnology*, 2021, 41(5): 79-86.
- [66] Kim G, Lee Y, Ha J, et al. Engineering exosomes for pulmonary delivery of peptides and drugs to inflammatory lung cells by inhalation. *Journal of Controlled Release*, 2021, 330: 684-695.
- [67] Sun L N, Fan M R, Huang D, et al. Clodronate-loaded liposomal and fibroblast-derived exosomal hybrid system for enhanced drug delivery to pulmonary fibrosis. *Biomaterials*, 2021, 271: 120761.

Research Progress on Extracellular Vesicles and Pulmonary Fibrosis

YE Haoxin WANG Xiaoxu LI Mingfei WANG Yu

(College of Traditional Chinese Medicine, Hebei University, Baoding 071002, China)

Abstract Pulmonary fibrosis is a disease characterized by irreversible structural and functional changes in the lung caused by excessive deposition of extracellular matrix proteins, resulting in fibrotic remodeling and alveolar destruction. As extracellular vesicles, exosomes can mediate intercellular communication by delivering functional nucleic acids and proteins produced by specific cell types. Recent studies have shown that exosomes play an important role in the diagnosis and treatment of pulmonary fibrosis and are considered to be a potential biological treatment method and drug delivery carrier. This review aims to summarize the current research on the role and therapeutic application of exosomes in pulmonary fibrosis, and to provide insights into the future development direction and prospects of exosome research, so as to provide new ideas for the treatment of exosomes in pulmonary fibrosis.

Key words Exosomes Pulmonary fibrosis Extracellular vesicles Drug delivery vehicle Diagnosis and treatment