

· 综述 ·

干细胞源性外泌体在损伤修复中作用的研究进展

崔凤瑞 李芳 张铁凝 李全

【摘要】 器官和组织发生损伤后,干细胞自身的增殖与分化在损伤修复中只发挥很少一部分作用,其修复作用主要是通过干细胞旁分泌功能发挥。外泌体是以胞吐方式分泌到细胞外的纳米级囊泡,靶细胞吸收外泌体后其自身功能会受到调节。干细胞源性外泌体通过传递蛋白质、脂质和微小RNA(miRNA)实现细胞间的通讯。干细胞源性外泌体的靶向性和生物学特性是由其携带的 miRNA 水平决定的。外泌体到达靶细胞并发生融合后,通过降解后再表达来改变靶细胞的基因表达。此外干细胞源性外泌体的 RNA 和蛋白质还会通过细胞归巢作用来限制损伤的发展。本文将对干细胞源性外泌体在创面愈合、关节损伤、骨折愈合和心脏损伤中的作用机制作一综述。

【关键词】 干细胞; 伤口愈合; 外泌体; 微小 RNA; 损伤修复

Research progress of stem cell-derived exosomes in injury repair Cui Fengrui, Li Fang, Zhang Tiening, Li Quan. Department of Burn surgery, Third Affiliated Hospital of Inner Mongolia Medical University, Inner Mongolia Institute of Burn Research, Baotou 014010, China

Corresponding author: Li Quan, Email: bgyylq@126.com

【Abstract】 After organ and tissue injury, the proliferation and differentiation of stem cells themselves play only a small role in the repair of injury, and their repair function is mainly played by the paracrine function of stem cells. Exosomes are nano-scale vesicles that are secreted out of the cell by exocytosis. After target cells absorb exosomes, their own functions will be regulated. Stem cell-derived exosomes achieve intercellular communication by delivering proteins, lipids, and microRNA (miRNA). The targeting and biological characteristics of stem cell-derived exosomes are determined by the level of miRNA that they carry. After the exosomes reach the target cells and undergo fusion, they are degraded and then expressed to change the gene expression of the target cells. In addition, the RNA and protein of stem cell-derived exosomes can also limit the development of damage through cell homing. This article will review the mechanism of stem cell-derived exosomes in wound healing, joint injury, fracture healing and heart injury.

【Key words】 Stem cells; Wound healing; Exosomes; microRNA; Injury repair

外泌体是主动或被动释放到细胞外的大小约 30 ~ 150 nm 的纳米级囊泡,其生成以后便以胞吐形式从细胞内释放到细胞外^[1-2]。外泌体由脂质双分子膜结构组成,可由成纤维细胞、肿瘤细胞、淋巴细胞等不同种类的细胞进行释放,释放以后伴随体液循环到达远处的靶点,被受体细胞吸收后调节其生理功能^[3]。近些年来越来越多的研究结果均证明,干细胞发挥组织修复功能时,只有很少部分通过干细胞自身分化和增殖来发挥,旁分泌作用是其作用方式^[4-6]。本综述将对来源于干细胞的外泌体在创面愈合、关节损伤、骨折愈合以及心脏组织损伤的作用及相关机制进行总结。

一、干细胞源性外泌体在创面愈合中的作用及相关机制

在损伤修复领域中,干细胞发挥了巨大作用,旁分泌或自分泌是干细胞产生细胞因子的主要方式,而这些细胞因子

可以影响修复细胞的增殖和迁移^[7-8]。Rodriguez 等^[9]研究结果表明:采用脂肪干细胞处理皮肤全层缺损,实验组的愈合率较对照组显著增加,研究结果为干细胞修复皮肤缺损创面提供了新的视野。有研究证明,脂肪干细胞可以促进成纤维细胞的迁移与增殖,旁分泌是其作用方式^[10];另外也有研究结果表明,干细胞源性外泌体在受损的血管和创面修复中,与其来源的母细胞有相似的功能^[11];Quesemberry 等^[12]研究也表明,干细胞生物学机制中起主要作用的为干细胞源性外泌体。

由创伤、烧伤等造成的皮肤软组织损伤后,受损创面可能迁延不愈或者形成增生性瘢痕,对患者的生活质量会造成一定的影响。Fang 等^[13]研究表明,采用脐带间充质干细胞源性外泌体来修复皮肤缺损的小鼠,受损创面愈合后瘢痕组织明显减轻,通过对外泌体微小 RNA(miRNA)高通量 RNA 测序和功能分析发现:外泌体中富含 miR-23a、miR-145、miR-21 和 miR-125b,以上 miRNA 能够抑制转化生长因子 β 2/Smad 蛋白 2 信号通路,减少了 α -平滑肌肌动蛋白形成,其作用机制可能是通过减少肌成纤维细胞转分化抑制了过量肌成纤维细胞的生成,起到减少瘢痕生成的作用。Kang 等^[14]实验结果表明,创面

DOI:10.3877/cma.j.issn.1673-9450.2021.01.014

基金项目:内蒙古自治区自然科学基金项目(2017MS0877, 2020MS03022),内蒙卫生计生委员会科研计划项目(201703157)

作者单位:014010 包头,内蒙古医科大学第三附属医院烧伤外科,内蒙古烧伤研究所

通信作者:李全, Email: bgyylq@126.com

组织血管形成的过程中,缺氧诱导因子-1 受 miR-31 含量的靶向调节,脂肪干细胞源性外泌体的 miR-31 可以显著促进受损创面周围血管的形成。另外 Hu 等^[15] 研究报道表明,脂肪干细胞源性外泌体可以优化成纤维细胞功能,缩短创面愈合时间;干细胞源性外泌体还可通过上调 N-钙黏蛋白与细胞周期蛋白-1 的表达,来缩短创面愈合时间。

二、干细胞源性外泌体在关节损伤中的作用及相关机制

在损伤后的关节腔微环境中,可以代偿性分泌干细胞源性外泌体,抑制炎症因子的产生,从而延缓炎症进程,保护受损的关节。Toh 等^[16] 研究表明,外泌体携带的多种蛋白或 RNA 的转运与骨性关节炎的病理过程紧密关联;Nakamura 等^[17] 实验结果证明,软骨的发育与 miR-140 含量的变化紧密关联,在骨性关节炎中,患者 miR-140 的表达显著降低,受 miR-140 调控的 *Dnpep* 基因呈现高表达。Li 等^[18] 实验证明,干细胞源性外泌体可以通过调节 miR-146a/b 的含量来减少炎症因子的表达,治疗骨性关节炎。此外有研究发现,来自干细胞源性外泌体的 miR-22 在组织肥大和骨性关节炎发生过程中也发挥一定的作用^[19];miR-98、miR-9 和 miR-146 可以对肿瘤坏死因子- α 表达进行调控,进而调节骨性关节炎的进展,以上参与调控的 miRNA 不但可以减轻关节的炎症反应,而且可以修复受损的软骨。

干细胞源性外泌体主要通过传递 mRNA、miRNA、蛋白质和脂质等来实现细胞间的通讯,进而改变靶细胞的生物学特性^[20]。由于不同源性的外泌体各种 miRNA 含量不尽相同,所以其靶向性和生物学特性是不同的,miRNA 含量的不同与细胞凋亡、迁移和增殖等各项生命进程息息相关;骨性关节炎中,miRNA-34a 沉默可以明显减少软骨细胞的凋亡数量^[21]。Zhang 等^[22] 研究结果表明,抗 CD3 活化的 T 细胞可以摄取类风湿关节炎患者血液提取的外泌体,类风湿关节炎源性外泌体与正常细胞外泌体通过信号传递,激活核因子 κ B 和丝氨酸/苏氨酸激酶信号通路来抑制细胞凋亡。干细胞源性外泌体在关节炎中作用机制的研究对于治疗关节炎具有重要的作用。

三、干细胞源性外泌体在骨折愈合中的作用及相关机制

Hao 等^[23] 研究结果证明,干细胞源性外泌体通过携带选择性生物活性物质,促进损伤部位新生血管的形成,同时促成多能干细胞向成骨分化,增加基质矿化与无机盐沉积,缩短骨折后愈合时间。有研究表明,骨折愈合过程中,miRNA 可以在骨细胞间与干细胞间传递遗传物质,实现骨折修复重建的转录后调控,从而缩短骨折愈合周期^[24]。有研究结果表明,转化生长因子 β 1 和血小板源性生长因子在成骨分化中具有重要作用^[25];另外有研究证明,骨形态发生蛋白 2 的产生是由骨髓间充质干细胞源性外泌体进行调控的,骨形态发生蛋白 2 促成干细胞向成骨分化是通过级联激活转录因子 OSX 作用的^[26]。

干细胞源性外泌体 miRNA 具有激活靶细胞、促进血管形成和成骨分化的作用^[27],外泌体 miRNA 在脂质膜的包裹下,可以有效逃避免疫系统的监视,以胞吞方式进入靶细胞来发挥作用;另外有研究表明,干细胞可以通过选择携带不同种类的 miRNA,来增加促成骨分化能力^[28]。Furuta 等^[29] 研究结果表明,高表达状态的骨髓间充质干细胞外泌体的

miR-4332 和 miR-21 可以明显缩短骨折愈合时间,通过对调控骨骼肌细胞外泌体的成分实验发现,调控成分对骨骼肌干细胞和微环境的功能改善都有积极作用。

四、干细胞源性外泌体在心脏损伤中的作用及相关机制

Bilal 等^[30] 通过心肌损伤模型实验表明,干细胞移植后旁分泌途径为主要作用方式,干细胞源性外泌体通过抗凋亡和抗纤维化,加速受损心肌血管生成,来实现受损心肌细胞尽快恢复。心脏损伤过程中,血肌钙蛋白增高是确诊的重要生物标志物之一,但是 Pereg 等^[31] 通过研究发现,心肌梗死发生后,血浆外泌体的 miRNA 水平也可作为诊断标志物,其中 miRNA-499 和 miRNA-208b 的含量明显增加;另外在急性心肌梗死患者中,如 miR-34a、miR-194 和 miR-192 等多种与 p53 相关的 miRNA 也会显著升高^[31]。将人干细胞源性外泌体植入急性心肌梗死的鼠体内,鼠心肌梗死的面积明显缩小,心肌收缩力明显增加^[32]。有实验结果证明,干细胞源性外泌体通过对哺乳动物的自噬相关蛋白和雷帕霉素靶蛋白水平调节来降低自噬作用^[33];另外有研究结果表明,凋亡执行因子 Caspase7 和 Caspase3 的活化可以被心脏祖细胞外泌体抑制,从而减少心肌细胞的凋亡^[34];心脏纤维母细胞源性外泌体在氧化应激条件下可以保护受损心肌,其机制可能是通过蛋白激酶 C 信号通路来调控心肌细胞线粒体 ATP 敏感的离子通道,从而增加受损心肌细胞的存活率^[35]。

五、总结与展望

随着研究的不断进展,干细胞源性外泌体在细胞之间通讯的机制逐渐浮出水面,干细胞源性外泌体在创面愈合、关节损伤、骨折修复以及心脏损伤修复中发挥了积极的作用。干细胞源性外泌体作为信息载体,主要通过传递 miRNA 实现细胞与细胞之间的交流;干细胞源性外泌体到达靶细胞后会和靶细胞产生融合,通过降解后再表达来调节靶细胞的基因表达,此外干细胞源性外泌体所携带的蛋白质与 RNA 还可以通过细胞归巢作用来限制损伤继续发展。在今后的研究中,只有通过深入阐明干细胞源性外泌体在细胞通讯中作用的具体机制,才能进一步将外泌体应用于临床治疗,为临床治疗提供新的靶点。

参 考 文 献

- [1] Gauthier SA, Pérez-González R, Sharma A, et al. Enhanced exosome secretion in down syndrome brain - a protective mechanism to alleviate neuronal endosomal abnormalities [J]. *Acta Neuropathol Commun*, 2017, 5(1): 65.
- [2] Mobergslien A, Sioud M. Exosome-derived miRNAs and cellular miRNAs activate innate immunity [J]. *J Innate Immun*, 2014, 6(1): 105-110.
- [3] Katsuda T, Tsuchiya R, Kosaka N, et al. Human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells secrete functional neprilysin-bound exosomes [J]. *Sci Rep*, 2013, 3: 1197.
- [4] 肖胜红, 冉曦, 冉新泽. 干细胞治疗皮肤创伤的研究 [J/CD]. *中华损伤与修复杂志(电子版)*, 2016, 11(5): 357-360.
- [5] Strong AL, Neumeister MW, Levi B. Stem cells and tissue engineering: Regeneration of the skin and its contents [J]. *Clin Plast Surg*, 2017, 44(3): 635-650.
- [6] 曹胜军, 王凌峰, 巴特, 等. 脂肪源性间充质干细胞的基础与临床应用研究进展 [J]. *中华烧伤杂志*, 2017, 33(3): 184-189.

- [7] Zhang LX, Shen LL, Ge SH, et al. Systemic BMSC homing in the regeneration of pulp-like tissue and the enhancing effect of stromal cell-derived factor-1 on BMSC homing[J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2015, 8(9): 10261-10271.
- [8] 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.
- [9] Rodriguez J, Boucher F, Lequeux C, et al. Intradermal injection of human adipose-derived stem cells accelerates skin wound healing in nude mice[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2015, 6: 241.
- [10] Vèrter S, André W, Aouassar N, et al. Human adipose-derived mesenchymal stem cells in cell therapy: Safety and feasibility in different "hospital exemption" clinical applications[J]. *PLoS One*, 2015, 10(10): e0139566.
- [11] 李全, 崔凤瑞, 巴特, 等. 脂肪干细胞来源的外泌体促进肉芽组织来源的成纤维细胞增殖的初步研究[J/CD]. *中华损伤与修复杂志(电子版)*, 2019, 14(2): 91-96.
- [12] Quesenberry PJ, Dooner MS, Aliotta JM. Stem cell plasticity revisited: The continuum marrow model and phenotypic changes mediated by microvesicles[J]. *Exp Hematol*, 2010, 38(7): 581-592.
- [13] Fang S, Xu C, Zhang Y, et al. Umbilical cord-derived mesenchymal stem cell-derived exosomal microRNAs suppress myofibroblast differentiation by inhibiting the transforming growth factor-beta/Smad2 pathway during wound healing[J]. *Stem Cells Transl Med*, 2016, 5(10): 1425-1439.
- [14] Kang T, Jones TM, Naddell C, et al. Adipose-derived stem cells induce angiogenesis via microvesicle transport of miRNA-31[J]. *Stem Cells Transl Med*, 2016, 5(4): 440-450.
- [15] 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.
- [16] Toh WS, Lai RC, Hui JHP, et al. MSC exosome as a cell-free MSC therapy for cartilage regeneration: Implications for osteoarthritis treatment[J]. *Semin Cell Dev Biol*, 2017, 67: 56-64.
- [17] Nakamura Y, Inloes JB, Katagiri T, et al. Chondrocyte-specific microRNA-140 regulates endochondral bone development and targets Dnpep to modulate bone morphogenetic protein signaling[J]. *Mol Cell Biol*, 2011, 31(14): 3019-3028.
- [18] Li J, Huang J, Dai L, et al. MiR-146a, an IL-1beta responsive miRNA, induces vascular endothelial growth factor and chondrocyte apoptosis by targeting Smad4[J]. *Arthritis Res Ther*, 2012, 14(2): R75.
- [19] Jones SW, Watkins G, Le Good N, et al. The identification of differentially expressed microRNA in osteoarthritic tissue that modulate the production of TNF-alpha and MMP13[J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2009, 17(4): 464-472.
- [20] Lai RC, Yeo RW, Lim SK. Mesenchymal stem cell exosomes[J]. *Semin Cell Dev Biol*, 2015, 40: 82-88.
- [21] Yan S, Wang M, Zhao J, et al. MicroRNA-34a affects chondrocyte apoptosis and proliferation by targeting the SIRT1/p53 signaling pathway during the pathogenesis of osteoarthritis 崔凤瑞, 李芳, 张铁凝, 等. 干细胞源性外泌体在损伤修复中作用的研究进展[J/CD]. *中华损伤与修复杂志(电子版)*, 2021, 16(1): 71-73.
- [J]. *Int J Mol Med*, 2016, 38(1): 201-209.
- [22] Zhang HG, Liu C, Su K, et al. A membrane form of TNF-alpha presented by exosomes delays T cell activation-induced cell death[J]. *J Immunol*, 2006, 176(12): 7385-7393.
- [23] Hao ZC, Lu J, Wang SZ, et al. Stem cell-derived exosomes: A promising strategy for fracture healing[J]. *Cell Prolif*, 2017, 50(5): e12359.
- [24] Liu X, Li Q, Niu X, et al. Exosomes secreted from human-induced pluripotent stem cell-derived mesenchymal stem cells prevent osteonecrosis of the femoral head by promoting angiogenesis[J]. *Int J Biol Sci*, 2017, 13(2): 232-244.
- [25] Lamplot JD, Qin J, Nan G, et al. BMP9 signaling in stem cell differentiation and osteogenesis[J]. *Am J Stem Cells*, 2013, 2(1): 1-21.
- [26] Martins M, Ribeiro D, Martins A, et al. Extracellular vesicles derived from osteogenically induced human bone marrow mesenchymal stem cells can modulate lineage commitment[J]. *Stem Cell Reports*, 2016, 6(3): 284-291.
- [27] Inose H, Ochi H, Kimura A, et al. A microRNA regulatory mechanism of osteoblast differentiation[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2009, 106(49): 20794-20799.
- [28] Xu JF, Yang GH, Pan XH, et al. Altered microRNA expression profile in exosomes during osteogenic differentiation of human bone marrow-derived mesenchymal stem cells[J]. *PLoS One*, 2014, 9(12): e114627.
- [29] 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.
- [30] Bilal M, Haseeb A, Sher Khan MA. Intracoronary infusion of wharton's jelly-derived mesenchymal stem cells: A novel treatment in patients of acute myocardial infarction[J]. *J Pak Med Assoc*, 2015, 65(12): 1369.
- [31] Pereg D, Cohen K, Mosseri M, et al. Incidence and expression of circulating cell free p53-related genes in acute myocardial infarction patients[J]. *J Atheroscler Thromb*, 2015, 22(9): 981-998.
- [32] 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(3): 301-312.
- [33] Suzuki T, Inoki K. Spatial regulation of the mTORC1 system in amino acids sensing pathway[J]. *Acta Biochim Biophys Sin*, 2011, 43(9): 671-679.
- [34] Barile L, Lionetti V, Cervio E, et al. Extracellular vesicles from human cardiac progenitor cells inhibit cardiomyocyte apoptosis and improve cardiac function after myocardial infarction[J]. *Cardiovasc Res*, 2014, 103(4): 530-541.
- [35] Nakazato K, Naganuma W, Ogawa K, et al. Attenuation of ischemic myocardial injury and dysfunction by cardiac fibroblast-derived factors[J]. *Fukushima J Med Sci*, 2010, 56(1): 1-16.

(收稿日期:2020-12-01)

(本文编辑:杨立妍)