

间充质干细胞来源细胞外囊泡对肺部疾病作用研究进展*

王泽华 张丽昀 马春燕**

(宁夏大学生命科学学院 西部特色生物资源保护与利用教育部重点实验室 银川 750021)

摘要 细胞外囊泡(extracellular vesicles, EVs)是细胞自然分泌的脂质囊泡结构,在生理和病理过程中发挥信息交流作用。间充质干细胞(mesenchymal stromal cell, MSCs)是一种来源广泛的多能基质干细胞,其强大的再生潜能及免疫调节能力在肺部疾病的修复和治疗中显示出广阔前景。间充质干细胞来源细胞外囊泡(mesenchymal stromal cell extracellular vesicles, MSCs-EV)具有类似 MSCs 的功能特性,其携带的多种活性因子在肺部组织、肺微环境及肺部疾病中展现出良好治疗效果。主要总结了 MSCs 及 MSCs-EV 生物特性,深入讨论了 MSCs-EV 在肺部疾病中的作用机制及临床应用价值。

关键词 间充质干细胞 细胞外囊泡 肺部疾病 治疗

中图分类号 Q819

吸烟、创伤、空气污染及病原体感染等多种因素都会引起气道和肺部结构出现功能障碍,引发多种类型肺部疾病的发生。近年来,肺部疾病的发病率和死亡率急剧增高,已成为全球主要公共卫生问题之一。在最近十几年里,干细胞疗法在治疗肺部疾病和组织损伤方面得到了广泛关注。在各种类型的干细胞中,间充质干细胞(mesenchymal stromal cell, MSCs)因其潜在的再生和免疫调节作用在肺部疾病治疗方面引起关注^[1]。尽管 MSCs 的作用机制尚未完全阐明,但在肺部疾病中局部或全身注射 MSCs 具有促进生物活性物质释放、激活相关内源性修复途径和重编程途径,影响肺部环境的炎症,并对肺部重塑过程进行调节,达到修复和治疗肺组织的目的^[2]。

细胞外囊泡(extracellular vesicles, EVs)是细胞在多种生理状态释放的膜结合球形结构,携带蛋白质、核酸、脂质等生物活性分子,在细胞通信中发挥重要作用。体内或体外培养的 MSCs 在生长过程中会分泌大量细胞因子,其中 EV 所占比率最高。MSCs-EV 可通过

递送遗传信息、蛋白质、活性因子等物质介导 MSCs 与靶细胞之间的相互作用,在心血管疾病、慢性肾脏疾病、呼吸系统疾病和癌症治疗中引起广泛关注^[3]。MSCs-EV 具有类似 MSCs 的治疗效果,也能避免细胞疗法在疾病中的局限性,如细胞群体的异质性、肿瘤发生、栓塞、MSCs 的细胞质量等^[4]。近年来,越来越多的研究集中在 MSC-EVs 在慢性呼吸系统疾病中的治疗作用上。本文综述了 MSCs 和 MSCs-EV 的特性,以及 MSCs-EV 在多种肺部疾病中的作用,为预防和治疗呼吸系统疾病提供新视角。

1 间充质干细胞

MSCs 是一类具有自我更新、再生、分化和修复功能,来源于中胚层的多能干细胞^[5-6]。MSCs 在 1971 年由 Friedenstein 等^[7]从豚鼠骨髓中发现, Caplan^[8]在 1991 年将其命名为间充质干细胞,1998 年 Majumdar 等^[9]进一步证明了这些细胞存在于包括人类在内的其他物种。MSCs 在人体组织中分布广泛,通常从骨髓、脂肪组织、骨髓、胎盘、脐带、肝脏、滑膜和其他组织分离获得^[6]。不同组织的 MSCs 具有相似形态和表型特征,但决定 MSCs 特定功能的是其细胞起源^[10]。在机

收稿日期:2023-01-19 修回日期:2023-03-24

* 国家自然科学基金(31660255)资助项目

**通讯作者,电子邮箱:machnyan0411@163.com

体免疫系统中 MSCs 可以调节各类免疫细胞的激活和功能,但这种免疫调节能力不是自身具有的,而是取决于 MSCs 存在的炎症环境。近年来,由于 MSCs 相对容易从各种组织中提取并在体外培养,且具有免疫调节、促进细胞存活、高分化潜力、归巢能力等优点,在肺部疾病、神经系统疾病、造血性疾病、心血管疾病等多种疾病的研究潜力得到广泛关注^[11]。此外, MSCs 在生长存活过程中可以产生多种活性物质如生长因子、细胞因子、趋化因子,也间接参与组织损伤再生的细胞外囊泡。现在,越来越多的证据表明 MSCs 的多种生理功能与本身的旁分泌成分有关,而细胞外囊泡作为 MSCs 分泌最多也最重要的成分随之成为研究热点^[12]。

2 细胞外囊泡及间充质干细胞胞外囊泡

EVs 是细胞自然释放颗粒的总称,在机体内细胞通信机制及各种生理过程中充当媒介,发挥重要作用^[13]。EVs 为球形,其本质为脂质双层结构,几乎所有类型细胞和生物都普遍分泌,目前已从细培养上清液和多种组织液中提取,包括血浆、唾液、尿液、胆汁、羊

水、母乳、精液和腹水等^[14]。根据颗粒大小、生物发生和分泌机制的不同,细胞外囊泡通常分为外泌体、微泡和凋亡小体^[15](图 1)。外泌体和微泡是最早研究的 EV 类型,外泌体直径为 30 ~ 150 nm,由多胞体(MVB)与质膜融合向外释放^[16]。与外泌体相比,微泡直径为 100 ~ 1 000 nm,由质膜向外出芽分裂形成;而凋亡小体直径为 500 ~ 4 000 nm,是细胞凋亡过程中细胞起泡产生^[17-18]。不同来源 EV 具有很大的异质性,其包裹的核酸、蛋白质、脂质和代谢物等可以反映不同病理条件下机体的代谢状态和亲代细胞的生理功能,临床诊断具有极大潜力^[19]。迄今为止,从 MSC-EVs 已经鉴定出 5 000 多种蛋白质,这些蛋白质的调控功能包括控制自我更新、分化、迁移、增殖、调控免疫反应等。MSCs-EV 也含有许多黏附分子,包括 CD44、CD29、 $\alpha 4$ -整合素和 $\alpha 5$ -整合素等,这些分子有助于对 MSCs-EVs 的鉴定^[20]。目前,已发现 MSCs-EV 的 miRNA 有 150 多种,这些 miRNA 的功能通常与细胞凋亡、肿瘤发生、免疫反应、血管生成和生物体发育有关^[21]。近年来,在肺部疾病的防治方面 MSCs-EV 调控作用展现出优良前景。

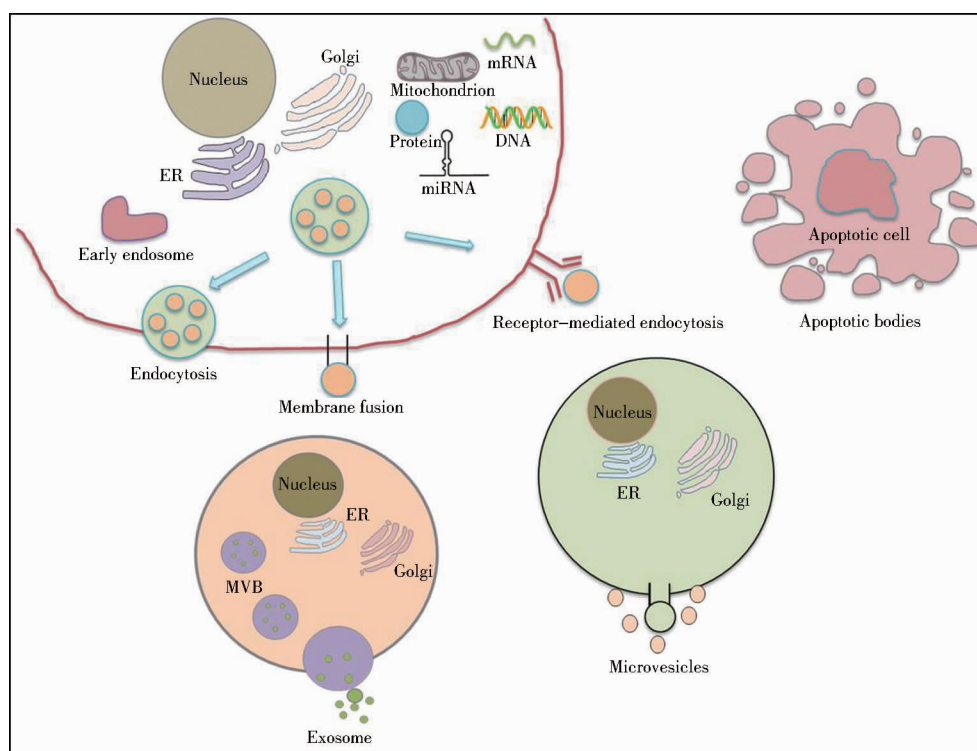


图 1 细胞外囊泡分类

Fig. 1 Classification of extracellular vesicles

3 MSCs-EV 作为药物运输的理想载体

肺是呼吸系统的主要器官,由局部基质细胞和常驻免疫细胞之间的通信维持肺内稳定。EV 作为细胞间通信的重要载体在维持肺内微环境稳态方面发挥重要作用^[22]。虽然从生物体液提取的 EV 是不同疾病诊断的生物标志物,但细胞来源的 EV 仍是药物递送的首选。几乎所有细胞都会分泌 EV,最为常见的细胞包括免疫细胞、癌细胞和 MSCs。与其他细胞来源的 EV 相比, MSCs 是分泌 EV 最多的细胞, MSCs-EV 具有和 MSCs 同样的免疫抑制活性和免疫调节特性^[23]。多项临床试验表明, MSCs-EV 具有良好的治疗效果,并且在不同疾病动物模型中具有耐受性,且无明显不良反应^[24]。此外, MSCs-EV 还继承亲本细胞的内在肿瘤性,其复杂表面蛋白为靶向外源配体和通过其他表面修饰手段增强靶向能力提供了工程化方向。MSCs-EV 在生物工程化改造方面也表现出很高的灵活性,在储存过程中展现出良好的稳定性。药物加载和表面修饰是 MSCs-EV 工程化最常用手段,这些方式不但避免 MSCs-EV 被吞噬细胞吞噬增强靶向性,也极大提高 MSCs-EV 运输药物的效率。与传统纳米载体相比, MSCs-EV 是天然的内源性载体,具有更高的生物相容性和更低的免疫原性^[25]。在给药方面,通过 MSCs-EV 给药可以在初次治疗时降低患者对药物的抵抗性,大大提高药物的有效性^[26]。在穿过血脑屏障和血-视网膜等生物屏障中, MSCs-EV 可以自由通过,具有更好的通透性,在治疗眼和中枢神经系统疾病方面显示出光明的前景。

4 间充质干细胞来源细胞外囊泡与肺部疾病

4.1 支气管肺发育不良

支气管肺发育不良 (bronchopulmonary dysplasia, BPD) 是经常发生于新生儿或早产儿的一种慢性呼吸系统疾病,通常采取药物、呼吸管理、营养支持等方式对 BPD 进行治疗,但这些方法的有效性利弊不明确,目前尚未存在改善 BPD 患者的有效方法^[27]。在 MSCs 研究中,通常将新生小鼠暴露于高氧 (75%) 微环境来模拟 BPD 病理模型。Willis 等^[28]首次对 MSCs-EV 进行研究,实验表明将 MSCs 来源外泌体以 8.5×10^8 颗粒/50 μL 剂量静脉给药可增强巨噬细胞表型和外周肺动脉重塑,改善高氧条件的新生小鼠肺室间隔纤维化

和肺部发育,恢复肺结构。肿瘤坏死因子刺激蛋白-6 (tumor necrosis factor α stimulating gene-6 protein, TSG-6) 是 MSCs 发挥免疫抑制作用的关键因子,一般受肿瘤坏死因子 α (TNF- α) 和白介素-1 β (IL-1 β) 等炎症因子的影响而产生,不但可以诱导巨噬细胞从促炎 M1 型向抗炎 M2 型转变,还可以通过 MSC 分泌的外泌体传递 TSG-6 因子恢复肺泡毛细血管渗透压,并减少肺泡空心化,缓解高氧诱导的 BPD 小鼠^[29]。绒毛膜羊膜炎是 BPD 发生的主要因素,由内毒素诱导的新生小鼠 BPD 模型中,骨髓来源 MSCs-EV 治疗可减少促炎因子如趋化因子 I (IP-10) 的表达,增强抗炎因子如白介素-4 (IL-4)、白介素-13 (IL-13) 的表达,并逆转 BPD 小鼠模型中的胎盘血管发育和产后远端肺生长^[30]。血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) 也是 BPD 治疗中研究最多的方向, MSCs-EV 所携带的 VEGF 是一种关键的旁分泌因子,在减轻新生大鼠的高氧 BPD 中起着重要作用^[31]。此外,多种方式 MSCs-EV 给药在调控巨噬细胞极化、改善肺泡形成、血管生成及降低胶原密度方面具有重要作用,也在 BPD 治疗方面具有极大潜力。

4.2 急性呼吸窘迫综合征

急性呼吸窘迫综合征 (acute respiratory distress syndrome, ARDS) 是一种发病率和死亡率都较高,由脓毒症、肺炎和外伤引起的急性炎症性肺部疾病^[32]。MSCs 分泌的多种因子在恢复上皮和内皮细胞通透性、促进巨噬细胞吞噬、下调急性炎症、改善肺泡液清除率等方面发挥重要功能^[33]。在多种因素诱导的急性肺损伤模型中, MSCs-EV 已被证明对 ARDS 产生有益作用。在甲型流感 H5N1 诱导的肺损伤中,与脐带来源的 MSCs 作用相比, MSCs-EV 在降低肺泡液清除率和肺泡上皮细胞的蛋白质通透性方面作用更明显。另外, MSCs-EV 也可进入上皮细胞,在其他流感诱导的肺损伤模型中能够抑制病毒复制、肺泡细胞凋亡和血凝活性^[34]。肺内皮细胞和上皮细胞是 ARDS 中受损伤的主要细胞类型,已经广泛进行了 MSCs-EV 对这些细胞修复潜力的研究。Hu 等^[35]发现 MSCs-EV 能够将血管生成素-1 的 mRNA 转移到受损伤的内皮细胞来恢复人肺血管内皮细胞,防止肌动蛋白“应激纤维”的形成。目前,仅在少部分研究中进行 MSCs-EV 对肺泡上皮细胞生物学功能的探讨。MSCs-EV 携带的 miRNA 在减轻 ARDS 中同样发挥重要作用。据报道, MSCs-EV 通过传递 miR-21-5p、miR-30b-3p、miR-100、miR-145a、miR-

146a 来减轻炎症反应,也通过转运 miR-27a-3p、miR-146a 来调节巨噬细胞极化^[36-41]。线粒体的能量调节在 ARDS 的发病机制中也起着关键作用,MSCs-EV 可以向巨噬细胞转运功能性线粒体,通过增强氧化磷酸化来调节巨噬细胞极化,改善上皮细胞的线粒体功能,从而在 ARDS 模型中促进伤口闭合^[42]。目前预防 ARDS 后肺纤维化是改善长期预后的最佳方法,因此需要研究 MSCs-EV 在预防或逆转 ARDS 后肺纤维化等方面的潜在功能。

4.3 特发性肺纤维化

特发性肺纤维化是一种慢性、间质性肺部疾病,成纤维细胞异常增殖和细胞外基质过度沉积是其主要病理特征^[43]。其病理因素与遗传因素和环境因素密切相关,但仍无明确病因和有效疗法^[44]。在预防和治疗博来霉素诱导的肺纤维化中,静脉注射 MSCs-EV 可改善肺形态结构并减少胶原沉积,调节巨噬细胞经典和非经典表型转变,使肺泡巨噬细胞的数量转向正常^[45]。在二氧化硅诱导小鼠肺纤维化中,MSCs-EV 可以调节肺功能,抑制硅肺纤维化的进程^[46]。此外,骨髓 MSCs-EV 也同样抑制纤维组织中 Wnt/ β -catenin 相关蛋白质的表达,逆转上皮间质转化缓解二氧化硅诱导的肺纤维化^[47]。MSCs-EV 运输中的 miRNA 抗纤维化作用也成为研究热点。Sun 等^[48]研究表明,来自月经血的 MSCs-EV 通过传递 miR-let-7 到肺泡上皮细胞中调节活性氧、线粒体 DNA 损伤和 NLRP3 炎性小体激活来缓解肺纤维化。同样脂肪来源 MSCs-EV 向上皮细胞转移 miR-let-7,通过靶向 *TGF- β RI* 基因,降低 ROS 水平和炎症水平,抑制 PM2.5 诱导的肺纤维化^[49]。成纤维细胞增殖在肺纤维化中起着重要作用,Wan 等^[50]研究表明骨髓来源 MSCs-EV 通过 miR-29-3p 下调成纤维细胞中 FZD6 的表达抑制成纤维细胞增殖进而抑制肺纤维化发生。另有一项研究同样发现,骨髓来源 MSCs-EV 中的 miR-186 通过抑制 SRY 相关的 HMG 盒转录因子 4(SOX4)和下游基因 *Dickkopf-1* (DKK1) 的表达来阻断成纤维细胞活化缓解肺纤维化^[51]。MSCs-EV 还可以转移蛋白质缓解肺纤维化,人基质来源 MSCs-EV 能够向人基底支气管细胞转移锌指激活剂来激活囊性纤维化跨膜传导调节因子(CFTR)来治疗肺纤维化^[52]。

4.4 慢性阻塞性肺病

慢性阻塞性肺病(chronic obstructive pulmonary disease, COPD)是一种气体交换功能障碍,气道和肺泡受损产生炎症反应的进行性肺部疾病^[53]。香烟烟雾是

引发 COPD 的首要因素,香烟烟雾可诱导中性粒细胞、淋巴细胞和巨噬细胞数量增加,释放促炎因子表达引起肺部炎症^[54]。在香烟烟雾诱导的 COPD 小鼠模型中,MSCs 来源外泌体可以明显降低巨噬细胞和嗜中性粒细胞的数量,减少肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) 和 IL-1 β 的产生,恢复 O₂ 饱和度,改善肺功能和减弱的气道炎症^[55]。成纤维细胞生长因子-2 (fibroblast growth factor 2, FGF-2) 是一种具有再生作用的因子,对肺部发育具有重要作用。与 MSCs 来源的天然外泌体相比,MSCs 来源人工合成纳米囊泡同样存在相似的表面标志物、生长因子和 FGF-2。此外,人工纳米囊泡显示出更强大的再生效果,其主要通过激活 FGF-2 信号通路来产生,表明人工纳米囊泡具有极大经济优势,临床适用于 COPD 患者^[56]。线粒体功能失调也是促进 COPD 发生的重要起因,MSCs-EV 还可以通过调控靶细胞失调的线粒体而在 COPD 中发挥治疗功效。Maremanda 等^[57]证明在香烟烟雾诱导的 COPD 模型中,小鼠 MSCs 来源外泌体可以修饰支气管上皮细胞中的线粒体基因,缓解线粒体功能障碍和炎症反应。MSCs-EV 治疗作为一个前沿领域,通过调节慢性炎症,抑制肺气肿和恢复功能失调的线粒体,在治疗 COPD 中具有令人期望的前景。

4.5 硅肺

硅肺是一种职业性慢性呼吸系统疾病,由长时间吸入结晶二氧化硅粉尘引起肺部炎症,导致进行性和不可逆的肺纤维化,缺乏特异性药物治疗并可能增加肺结核的发病率^[58]。在二氧化硅诱导的硅肺模型中,通过移植 MSCs 可降低纤维化标志蛋白和胱天蛋白酶-3 的表达,增加抗凋亡蛋白 Bcl-2 和促凋亡蛋白 Bax 的比值和上皮标志蛋白的含量,降低胶原蛋白 III 和纤连蛋白的 mRNA 水平以及转化生长因子- β (transforming growth factor- β , TGF- β) 和羟脯氨酸的含量,对二氧化硅诱导的肺纤维化产生抑制作用^[59]。Choi 等^[60]首次证明人骨髓 MSCs-EV 能减轻小鼠硅肺肺纤维化模型中炎症细胞的流入和胶原沉积,虽然 MSCs-EV 对硅肺具有有益作用,但其治疗效果远不如 MSC 移植。骨髓 MSCs-EV 通过携带逮捕素结构域的蛋白质 1 将去极化的线粒体靶向质膜调节细胞内氧化应激反应,随后这些 EV 被吞噬、吸收而增强生物能量,并在巨噬细胞融合过程中被重新利用^[61]。此外, MSCs-EV 所包含的 miRNA 可抑制 Toll 样受体信号转导来抑制巨噬细胞活

化,从而使巨噬细胞对摄入的线粒体脱敏。在硅肺小鼠模型中,通过气管滴注脂肪 MSCs-EV 可减少胶原沉积、肉芽肿大小和巨噬细胞流入^[62]。目前,尽管 MSCs-EV 在硅肺中展现优良的治疗前景,但具体机制仍有待后续研究。

4.6 哮喘

哮喘是一种发生在成人和儿童体内的慢性炎症性的肺部疾病^[63]。在开发和研究新的治疗方法过程中, MSCs 在缓解和治疗哮喘的主要病理特征方面具有极大潜力。单次注射 MSCs 可减少嗜酸性粒细胞、淋巴细胞、总蛋白质、H₂O₂ 及肺泡灌洗液中(BALF)白介素因子(IL-5、IL-13 和 IL-17a)的表达水平,减轻肺部炎症浸润、胶原蛋白沉积及黏液产生^[64]。近年来,有关 MSCs-EV 治疗过敏性哮喘的研究已有进展。MSCs-EV 能促进外周血单核细胞 IL-10 和 TGF- β 1 表达,进而调节 T 细胞增殖和免疫能力,这些研究结果表明 MSCs-EV 对哮喘的治疗潜力^[65]。脂肪来源的 MSCs 和 MSCs-EV 能有效降低肺组织和 BALF 中的嗜酸性粒细胞数量,减少炎症并调节气道重塑^[66]。在抑制炎症细胞浸润、黏液分泌、气道高反应性、下调 T 细胞和调控先天淋巴细胞功能方面, MSCs-EV 所包括的 miR-146a-5p 已被证明介导上述功能,使先天淋巴细胞能显著预防过敏性气道炎症^[67]。缺氧环境可促使 MSCs 释放更多 EV,人脐带 MSCs-EV 显著改善哮喘小鼠的 BALF 总细胞、嗜酸性粒细胞和促炎介质,并且 MSCs 在缺氧条件下产生的 EVs 比正常条件下的 EVs 治疗哮喘的效果更显著^[68]。

4.7 肺动脉高压

肺动脉高压(pulmonary arterial hypertension, PAH)是一种罕见的进行性疾病,是指肺循环的血流动力学改变,其中肺动脉压为 >25 mmHg^[69]。尽管在阐明 PAH 的治疗及其分子机制方面取得重大进展,但 PAH 对大多数常规药物治疗仍然无效。MSCs-EV 在预防和治疗 PAH 中展现出优良前景。为研究 MSCs-EV 对肺血管系统的影响, Lee 等^[70]对缺氧条件诱导的 PAH 小鼠模型采取静脉注射 MSCs-EV 的方式,可抑制肺巨噬细胞流入,促进多种炎症因子表达,并抑制血管重塑,防止右心室肥大而导致 PAH。缺氧是参与肺血管系统对缺氧反应的关键因素, MSCs-EV 通过抑制缺氧诱导的转录因子 3 的激活和上调 miRNA 簇的 miR-17,增加 miR-204 的肺内表达水平,而 miR-204 是一种已知在人类肺动脉高压中受到抑制的 miRNA。在苦百合碱诱导的 PAH 大鼠模型中,静脉注射 MSCs 和 MSCs-EV 可以

改善平均肺动脉压和平均右心室压,也可以降低 PAH 大鼠右心室肥大及肺小动脉面积指数和厚度指数^[71]。此外,骨髓 MSCs-EV 不仅可以预防苦百合碱诱导的 PAH 发生,还可以逆转肺高压变化,包括右心室肥大和肺血管重塑,这些变化取决于 MSCs-EV 所携带的 miRNA 种类^[72]。在这项研究中,还发现相比 MSCs 来源微泡, MSCs 所分泌外泌体具有更好的治疗效果,与从健康小鼠血浆中收获的外泌体相比,这种差异部分归因于 MSCs 外泌体富含抗炎和抗增殖 miRNA,包括 miR-34a、miR-122、miR-124 和 miR-127。另外,脂肪来源 MSCs 外泌体包裹的 miR-191 通过抑制骨形态发生蛋白受体 2 的表达来恢复久效吡咯诱导的 PAH^[73]。在缺氧诱导的 PAH 小鼠模型中, MSCs 来源外泌体还可以通过上调丙酮酸脱氢酶和谷氨酸脱氢酶 1 的表达,改善线粒体功能障碍缓解 PAH^[74]。

5 总结与展望

在全球范围内,肺部呼吸系统疾病仍然严重威胁数百万人的健康,因此迫切需要开发新的预防或治疗方法去面对呼吸系统疾病的挑战。MSCs-EV 作为一种全新的无细胞疗法,在治疗肺部疾病等方面具有比 MSCs 更安全、更有效、更方便的优势,有望替代 MSCs 移植成为全新治疗方案。首先, MSCs-EV 有高度稳定性,适合长期储存,且无须添加有潜在毒性的冷冻保存剂。其次, MSC-EVs 可直接将功能蛋白和 miRNA 转移到受体细胞,在细胞间通信中发挥更强大的信号转导功能。最后, MSCs-EV 无任何异源风险,同种异体应用后没有免疫反应,也可以避免 MSCs 治疗的潜在致癌性风险。

虽然 MSCs-EV 在肺部疾病中的治疗潜力得到广泛关注,但对 MSCs-EV 的研究仍处于起步阶段,在临床治疗中仍存在诸多问题。现阶段,大部分体内和体外实验所采用的 MSCs 和 MSCs-EV 都未经处理。MSCs 的大规模培养在临床研究依然是一大难题,需保证 MSCs 培养传代过程中无污染和生理状态一致。EV 的提取、分离和纯化仍未有明确的标准规范,导致获得的 EV 存在极大异质性特征,需要统一 EV 的分离标准,并且开发新的提取分离方法确保纯度和质量。MSCs-EV 发挥功效的精准货物分子仍有待确定,并且可能因细胞类型、培养条件以及提取和纯化方法等因素而异,对 MSCs-EV 的功能作用有潜在影响。由于 MSCs 是从各种供体中收获的,因此需要探索了解供体的特征如何

改变 EV 成分及功能。MSCs-EV 的功能化策略仍有局限性,缺乏系统性比较和评价体系。目前有关药物加载方法较多,药物加载效率决定 MSCs-EV 治疗的成败,因此要对不同药物建立特定的有针对性的加载策略,确保药物尽最大程度发挥功效。在多种肺部疾病中 MSCs-EV 的给药方式、给药剂量、给药次数均有所不同,还需后续大规模临床研究统一确定。目前, MSCs-EV 的治疗潜力在肺部疾病得到广泛研究,但具体是 MSCs-EV 的哪种成分发挥功效以及具体机制是什么尚未明确,因此需要进一步深入研究讨论。综上所述,虽然 MSCs-EV 仍存在诸多尚未解决的问题,但随着生命科学与生物技术的不断进步,这些问题有望逐一被解决, MSCs-EV 作为一种非细胞的治疗方式有着更为广阔的前景。

参考文献

- [1] Cruz F F, Rocco P R M. The potential of mesenchymal stem cell therapy for chronic lung disease. *Expert Review of Respiratory Medicine*, 2020, 14(1): 31-39.
- [2] Guo H Y, Su Y, Deng F. Effects of mesenchymal stromal cell-derived extracellular vesicles in lung diseases: current status and future perspectives. *Stem Cell Reviews and Reports*, 2021, 17(2): 440-458.
- [3] de Abreu R C, Fernandes H, da Costa Martins P A, et al. Native and bioengineered extracellular vesicles for cardiovascular therapeutics. *Nature Reviews Cardiology*, 2020, 17(11): 685-697.
- [4] Shi M M, Yang Q Y, Monsel A, et al. Preclinical efficacy and clinical safety of clinical-grade nebulized allogenic adipose mesenchymal stromal cells-derived extracellular vesicles. *Journal of Extracellular Vesicles*, 2021, 10(10): e12134.
- [5] Yang C J, Sun J M, Tian Y P, et al. Immunomodulatory effect of MSCs and MSCs-derived extracellular vesicles in systemic lupus erythematosus. *Frontiers in Immunology*, 2021, 12: 714832.
- [6] Aravindhan S, Ejam S S, Lafta M H, et al. Mesenchymal stem cells and cancer therapy: insights into targeting the tumour vasculature. *Cancer Cell International*, 2021, 21(1): 158.
- [7] Friedenstein A J, Chailakhjan R K, Lalykina K S. The development of fibroblast colonies in monolayer cultures of Guinea-pig bone marrow and spleen cells. *Cell and Tissue Kinetics*, 1970, 3(4): 393-403.
- [8] Caplan A I. Mesenchymal stem cells. *Journal of Orthopaedic Research: Official Publication of the Orthopaedic Research Society*, 1991, 9(5): 641-650.
- [9] Majumdar M K, Thiede M A, Mosca J D, et al. Phenotypic and functional comparison of cultures of marrow-derived mesenchymal stem cells (MSCs) and stromal cells. *Journal of Cellular Physiology*, 1998, 176(1): 57-66.
- [10] Wu R Q, Fan X L, Wang Y, et al. Mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles in liver immunity and therapy. *Frontiers in Immunology*, 2022, 13: 833878.
- [11] Keshtkar S, Azarpira N, Ghahremani M H. Mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles: novel frontiers in regenerative medicine. *Stem Cell Research & Therapy*, 2018, 9(1): 63.
- [12] Rezaie J, Nejati V, Mahmoodi M, et al. Mesenchymal stem cells derived extracellular vesicles: a promising nanomedicine for drug delivery system. *Biochemical Pharmacology*, 2022, 203: 115167.
- [13] van Niel G, Carter D R F, Clayton A, et al. Challenges and directions in studying cell-cell communication by extracellular vesicles. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 2022, 23(5): 369-382.
- [14] Yáñez-Mó M, Siljander P R M, Andreu Z, et al. Biological properties of extracellular vesicles and their physiological functions. *Journal of Extracellular Vesicles*, 2015, 4(1): 27066.
- [15] van Niel G, D'Angelo G, Raposo G. Shedding light on the cell biology of extracellular vesicles. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 2018, 19(4): 213-228.
- [16] Pegtel D M, Gould S J. Exosomes. *Annual Review of Biochemistry*, 2019, 88: 487-514.
- [17] Battistelli M, Falcieri E. Apoptotic bodies: particular extracellular vesicles involved in intercellular communication. *Biology*, 2020, 9(1): 21.
- [18] Sun H Y, Burrola S, Wu J C, et al. Extracellular vesicles in the development of cancer therapeutics. *International Journal of Molecular Sciences*, 2020, 21(17): 6097.
- [19] Lo Cicero A, Stahl P D, Raposo G. Extracellular vesicles shuffling intercellular messages: for good or for bad. *Current Opinion in Cell Biology*, 2015, 35: 69-77.
- [20] Cheng Y W, Cao X, Qin L J. Mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles: a novel cell-free therapy for Sepsis. *Frontiers in Immunology*, 2020, 11: 647.
- [21] Jafarinia M, Alsahebhosoul F, Salehi H, et al. Mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles: a novel cell-free therapy. *Immunological Investigations*, 2020, 49(7): 758-780.
- [22] Bartel S, Deshane J, Wilkinson T, et al. Extracellular vesicles as mediators of cellular cross talk in the lung microenvironment. *Frontiers in Medicine*, 2020, 7: 326.
- [23] Doeppner T R, Herz J, Görgens A, et al. Extracellular vesicles improve post-stroke neuroregeneration and prevent postischemic immunosuppression. *Stem Cells Translational Medicine*, 2015, 4

- (10): 1131-1143.
- [24] Kamekar S, LeBleu V S, Sugimoto H, et al. Exosomes facilitate therapeutic targeting of oncogenic KRAS in pancreatic cancer. *Nature*, 2017, 546(7659): 498-503.
- [25] Zhu X H, Badawi M, Pomeroy S, et al. Comprehensive toxicity and immunogenicity studies reveal minimal effects in mice following sustained dosing of extracellular vesicles derived from HEK293T cells. *Journal of Extracellular Vesicles*, 2017, 6(1): 1324730.
- [26] Martin J D, Cabral H, Stylianopoulos T, et al. Improving cancer immunotherapy using nanomedicines: progress, opportunities and challenges. *Nature Reviews Clinical Oncology*, 2020, 17(4): 251-266.
- [27] Davidson L M, Berkelhamer S K. Bronchopulmonary dysplasia: chronic lung disease of infancy and long-term pulmonary outcomes. *Journal of Clinical Medicine*, 2017, 6(1): 4.
- [28] Willis G R, Fernandez-Gonzalez A, Anastas J, et al. Mesenchymal stromal cell exosomes ameliorate experimental bronchopulmonary dysplasia and restore lung function through macrophage immunomodulation. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 2018, 197(1): 104-116.
- [29] Chaubey S, Thuesen S, Ponnalagu D, et al. Early gestational mesenchymal stem cell secretome attenuates experimental bronchopulmonary dysplasia in part via exosome-associated factor TSG-6. *Stem Cell Research & Therapy*, 2018, 9(1): 173.
- [30] Abele A N, Taglauer E S, Almeda M, et al. Antenatal mesenchymal stromal cell extracellular vesicle treatment preserves lung development in a model of bronchopulmonary dysplasia due to chorioamnionitis. *American Journal of Physiology. Lung Cellular and Molecular Physiology*, 2022, 322(2): L179-L190.
- [31] Ahn S Y, Park W S, Kim Y E, et al. Vascular endothelial growth factor mediates the therapeutic efficacy of mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles against neonatal hyperoxic lung injury. *Experimental & Molecular Medicine*, 2018, 50(4): 1-12.
- [32] Lopes-Pacheco M, Robba C, Rocco P, et al. Current understanding of the therapeutic benefits of mesenchymal stem cells in acute respiratory distress syndrome. *Cell Biol Toxicol*, 2019, 36: 83.
- [33] Abraham A, Krasnodembskaya A. Mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles for the treatment of acute respiratory distress syndrome. *Stem Cells Translational Medicine*, 2020, 9(1): 28-38.
- [34] Khatri M, Richardson L A, Meulia T. Mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles attenuate influenza virus-induced acute lung injury in a pig model. *Stem Cell Research & Therapy*, 2018, 9(1): 17.
- [35] Hu S, Park J, Liu A, et al. Mesenchymal stem cell microvesicles restore protein permeability across primary cultures of injured human lung microvascular endothelial cells. *Stem Cells Translational Medicine*, 2018, 7(8): 615-624.
- [36] Li J W, 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. *European Journal of Pharmacology*, 2019, 852: 68-76.
- [37] Yi X, Wei X, Lv H, 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.
- [38] Chen W X, Zhou J, Zhou S S, et al. Microvesicles derived from human Wharton's jelly mesenchymal stem cells enhance autophagy and ameliorate acute lung injury via delivery of miR-100. *Stem Cell Research & Therapy*, 2020, 11(1): 113.
- [39] Hao Q, Gudapati V, Monsel A, et al. Mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles decrease lung injury in mice. *Journal of Immunology (Baltimore, Md. : 1950)*, 2019, 203(7): 1961-1972.
- [40] Song Y, Dou H, Li X, et al. Exosomal miR-146a contributes to the enhanced therapeutic efficacy of interleukin-1 β -primed mesenchymal stem cells against sepsis. *Stem Cells (Dayton, Ohio)*, 2017, 35(5): 1208-1221.
- [41] Wang J, Huang R, Xu Q, et al. Mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles alleviate acute lung injury via transfer of miR-27a-3p. *Critical Care Medicine*, 2020, 48(7): e599-e610.
- [42] Morrison T J, Jackson M V, Cunningham E K, et al. Mesenchymal stromal cells modulate macrophages in clinically relevant lung injury models by extracellular vesicle mitochondrial transfer. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 2017, 196(10): 1275-1286.
- [43] Moss B J, Ryter S W, Rosas I O. Pathogenic mechanisms underlying idiopathic pulmonary fibrosis. *Annual Review of Pathology*, 2022, 17: 515-546.
- [44] Schäfer S, Funke-Chambour M, Berezowska S. Idiopathic pulmonary fibrosis-epidemiology, causes, and clinical course. *Der Pathologe*, 2020, 41(1): 46-51.
- [45] 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.
- [46] Xu C, Zhao J, Li Q, et al. Exosomes derived from three-dimensional cultured human umbilical cord mesenchymal stem cells ameliorate pulmonary fibrosis in a mouse silicosis model. *Stem Cell Research & Therapy*, 2020, 11(1): 503.
- [47] Zhang E, Geng X, Shan S, et al. Exosomes derived from bone

- marrow mesenchymal stem cells reverse epithelial-mesenchymal transition potentially via attenuating Wnt/ β -catenin signaling to alleviate silica-induced pulmonary fibrosis. *Toxicology Mechanisms and Methods*, 2021, 31(9): 655-666.
- [48] Sun L, 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.
- [49] Gao Y, Sun J, Dong C, et al. Extracellular vesicles derived from adipose mesenchymal stem cells alleviate PM_{2.5}-induced lung injury and pulmonary fibrosis. *Medical Science Monitor : International Medical Journal of Experimental and Clinical Research*, 2020, 26: e922782.
- [50] Wan X, Chen S, Fang Y, et al. Mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles suppress the fibroblast proliferation by downregulating FZD6 expression in fibroblasts via miRNA-29b-3p in idiopathic pulmonary fibrosis. *Journal of Cellular Physiology*, 2020, 235(11): 8613-8625.
- [51] Zhou J, Lin Y, Kang X, et al. microRNA-186 in extracellular vesicles from bone marrow mesenchymal stem cells alleviates idiopathic pulmonary fibrosis via interaction with SOX4 and DKK1. *Stem Cell Research & Therapy*, 2021, 12(1): 96.
- [52] Villamizar O, Waters S A, Scott T, et al. Mesenchymal stem cell exosome delivered zinc finger protein activation of cystic fibrosis transmembrane conductance regulator. *Journal of Extracellular Vesicles*, 2021, 10(3): e12053.
- [53] Agustí A, Hogg J C. Update on the pathogenesis of chronic obstructive pulmonary disease. *The New England Journal of Medicine*, 2019, 381(13): 1248-1256.
- [54] Rovina N, Koutsoukou A, Koulouris N G. Inflammation and immune response in COPD: where do we stand? *Mediators of Inflammation*, 2013, 2013: 413735.
- [55] Harrell C R, Miloradovic D, Sadikot R, et al. Molecular and cellular mechanisms responsible for beneficial effects of mesenchymal stem cell-derived product "Exo-d-MAPPS" in attenuation of chronic airway inflammation. *Analytical Cellular Pathology (Amsterdam)*, 2020, 2020: 3153891.
- [56] Kim Y S, Kim J Y, Cho R, et al. Adipose stem cell-derived nanovesicles inhibit emphysema primarily via an FGF2-dependent pathway. *Experimental & Molecular Medicine*, 2017, 49(1): e284.
- [57] Maremanda k P, Sundar I K, Rahman I. Protective role of mesenchymal stem cells and mesenchymal stem cell-derived exosomes in cigarette smoke-induced mitochondrial dysfunction in mice. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 2019, 385: 114788.
- [58] Hoy R F, Chambers D C. Silica-related diseases in the modern world. *Allergy*, 2020, 75(11): 2805-2817.
- [59] Li X, An G, Wang Y, et al. Targeted migration of bone marrow mesenchymal stem cells inhibits silica-induced pulmonary fibrosis in rats. *Stem Cell Research & Therapy*, 2018, 9(1): 335.
- [60] Choi M, Ban T, Rhim T. Therapeutic use of stem cell transplantation for cell replacement or cytoprotective effect of microvesicle released from mesenchymal stem cell. *Molecules and Cells*, 2014, 37(2): 133-139.
- [61] Phinney D G, Di Giuseppe M, Njah J, et al. Mesenchymal stem cells use extracellular vesicles to outsource mitophagy and shuttle microRNAs. *Nature Communications*, 2015, 6: 8472.
- [62] 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.
- [63] Papi A, Brightling C, Pedersen S E, et al. Asthma. *Lancet (London, England)*, 2018, 391(10122): 783-800.
- [64] Boldrini-Leite L M, Michelotto P V Jr, de Moura S A B, et al. Lung tissue damage associated with allergic asthma in BALB/c mice could be controlled with a single injection of mesenchymal stem cells from human bone marrow up to 14 d after transplantation. *Cell Transplantation*, 2020, 29: 963689720913254.
- [65] Du Y M, Zhuansun Y X, Chen R, et al. Mesenchymal stem cell exosomes promote immunosuppression of regulatory T cells in asthma. *Experimental Cell Research*, 2018, 363(1): 114-120.
- [66] de Castro L L, Xisto D G, Kitoko J Z, et al. Human adipose tissue mesenchymal stromal cells and their extracellular vesicles act differentially on lung mechanics and inflammation in experimental allergic asthma. *Stem Cell Research & Therapy*, 2017, 8(1): 151.
- [67] Fang S B, Zhang H Y, Wang C, et al. Small extracellular vesicles derived from human mesenchymal stromal cells prevent group 2 innate lymphoid cell-dominant allergic airway inflammation through delivery of miR-146a-5p. *Journal of Extracellular Vesicles*, 2020, 9(1): 1723260.
- [68] Dong L Y, Wang Y, Zheng T T, et al. Hypoxic hUCMSC-derived extracellular vesicles attenuate allergic airway inflammation and airway remodeling in chronic asthma mice. *Stem Cell Research & Therapy*, 2021, 12(1): 4.
- [69] Guazzi M, Naeije R. Pulmonary hypertension in heart failure: pathophysiology, pathobiology, and emerging clinical perspectives. *Journal of the American College of Cardiology*, 2017, 69(13): 1718-1734.
- [70] Lee C J, Alex Mitsialis S, Aslam M, et al. Exosomes mediate the cytoprotective action of mesenchymal stromal cells on hypoxia-induced pulmonary hypertension. *Circulation*, 2012, 126(22):

- 2601-2611.
- [71] Chen J Y, An R, Liu Z J, et al. Therapeutic effects of mesenchymal stem cell-derived microvesicles on pulmonary arterial hypertension in rats. *Acta Pharmacologica Sinica*, 2014, 35(9): 1121-1128.
- [72] Aliotta J M, Pereira M, Wen S C, et al. Exosomes induce and reverse monocrotaline-induced pulmonary hypertension in mice. *Cardiovascular Research*, 2016, 110(3): 319-330.
- [73] Zhang C, Wang P, Mohammed A, et al. Function of adipose-derived mesenchymal stem cells in monocrotaline-induced pulmonary arterial hypertension through miR-191 via regulation of BMPR2. *BioMed Research International*, 2019, 2019: 2858750.
- [74] Hogan S E, Rodriguez Salazar M P, Cheadle J, et al. Mesenchymal stromal cell-derived exosomes improve mitochondrial health in pulmonary arterial hypertension. *American Journal of Physiology. Lung Cellular and Molecular Physiology*, 2019, 316(5): L723-L737.

Research Progress on the Role of Mesenchymal Stem Cell Extracellular Vesicles in Lung Diseases

WANG Ze-hua ZHANG Li-yun MA Chun-yan

(Key Laboratory of Conservation and Utilization of Special Biological Resources in the Western China, Ministry of Education, College of Life Sciences, Ningxia University, Yinchuan 750021, China)

Abstract Extracellular vesicles (EVs) are lipid vesicles naturally secreted by cells. They play an important role in communication of information in physiological and pathological processes. Mesenchymal stem cells are pluripotent stromal stem cells from a wide range of sources. The potential of mesenchymal stem cell regeneration and its ability of immunomodulation have shown great promise in the repair in and treatment of lung diseases. Mesenchymal stromal cells-EVs (MSCs-EVs) have the same functional characteristics as MSCs, and many active factors carried by MSCs-EVs have shown good therapeutic effects in lung tissue, lung microenvironment and lung diseases. In this paper, the biological characteristics of MSCs and MSCs-EVs were summarized, and the mechanism and clinical application of MSCs-EVs in pulmonary diseases were discussed.

Key words Mesenchymal stem cell Extracellular vesicles Lung disease Treatment