

文章编号: 2097-681X (2025) 06-0001-12

间充质干细胞外囊泡: 急性肺损伤的无细胞治疗策略

陈佳威, 张惠兰

华中科技大学同济医学院附属同济医院 呼吸与危重症医学科, 湖北 武汉 430030

摘要: 急性肺损伤 (ALI) 及其严重形式急性呼吸窘迫综合征 (ARDS) 是临床常见的危重症, 病因多样, 亟需更有效的治疗方法。间充质干细胞外囊泡 (MSC-EV) 具有低免疫原性、无致瘤风险等优势, 为 ALI/ARDS 治疗带来希望。本文从免疫调节与炎症控制、肺泡-毛细血管屏障修复、细胞死亡调控、微生物清除与抗病毒活性、线粒体功能保护等多方面阐述 MSC-EV 治疗 ALI/ARDS 的作用机制, 系统总结外泌体工程化策略在提高治疗效果中的应用, 并探讨当前临床前研究与临床转化进展, 为 ALI/ARDS 治疗提供新的突破口, 具有重要的临床转化价值。

关键词: 间充质干细胞; 细胞外囊泡; 急性肺损伤; 呼吸窘迫综合征; 免疫调节; 无细胞治疗; 工程化策略

中图分类号: R563.9 文献标识码: A doi: 10.13885/j.issn.2097-681X.2025.06.001

Mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicle: a cell-free therapeutic strategy for acute lung injury

CHEN Jiawei, ZHANG Huilan

Department of Respiratory and Critical Care Medicine, Tongji Hospital, Tongji Medical College,
Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, China

Abstract: Acute lung injury (ALI) and its severe form, acute respiratory distress syndrome (ARDS), are common critical conditions in clinical practice. Due to their diverse etiologies and severe conditions, more effective treatment methods are still yet to be developed. Mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles (MSC-EV) have advantages such as low immunogenicity and no tumorigenic risk, bringing hope for the treatment of ALI/ARDS. This review elaborated on the mechanisms of MSC-EV in treating ALI/ARDS from multiple aspects, including immune regulation and inflammation control, alveolar-capillary barrier, cell death regulation, microbial clearance and antiviral activity, and mitochondrial function protection. Additionally, this article summarized the application of exosome engineering strategies in improving therapeutic effects and discussed the current preclinical and clinical research progress. MSC-EV provide a new breakthrough for the treatment of ALI/ARDS and have significant clinical translational value.

Keywords: mesenchymal stem cell; extracellular vesicle; acute lung injury; respiratory distress syndrome; immune regulation; cell-free therapeutic; engineering strategies

急性肺损伤 (acute lung injury, ALI) 及其严重形式急性呼吸窘迫综合征 (acute respiratory distress syndrome, ARDS) 是一种危及生命的临床综合征, 其特点是弥漫性肺泡-毛细血管膜损

伤、双肺水肿及不可控的炎症反应造成的顽固性低氧血症和呼吸衰竭^[1]。目前临幊上对 ALI/ARDS 多采取支持性治疗, 比如机械通气、液体管理等, 但因缺乏有效的治疗策略, 多数患者预后较差,

收稿日期: 2025-04-01 修回日期: 2025-04-21 接受日期: 2025-04-23

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (82170081); 华中科技大学同济医学院附属同济医院科研基金资助项目 (25-2KYC13066-32)

作者简介: 张惠兰, 女, 教授, 主任医师, 研究方向为间质性肺疾病, e-mail: huilan76@hust.edu.cn, 通信作者

其中, ARDS患者的死亡率可高达40%^[2], 部分幸存者患有后遗症如肺功能障碍及认知障碍等, 严重影响生活质量。间充质干细胞(mesenchymal stem cell, MSC)最初于1968年由Friedenstein等在骨髓中鉴定, 目前可在包括脐带血、沃顿氏胶、胎盘和脂肪组织等多种组织中分离获得MSC, 此细胞具有独特的多向分化潜能、自我更新能力和免疫调节作用, 已成为细胞治疗领域的研究热点, 有证据^[3]表明MSC可通过肺泡上皮和血管内皮修复、调控巨噬细胞极化以及减轻肺部中性粒细胞浸润等方式在ALI方面发挥良好作用, 但活细胞治疗仍面临许多挑战, 例如恶性变、免疫排斥、血管

栓塞、医学伦理等。目前已证明其治疗作用主要依赖于旁分泌机制, 这一发现让MSC分泌的细胞外囊泡(extracellular vesicle, EV)受到关注, 是ALI损伤修复领域的重要研究对象。

本文阐述MSC-EV治疗ALI/ARDS的机制进展见图1, 强调MSC-EV作用于免疫调节、屏障修复、细胞凋亡调控等多个环节的多靶点作用, 并归纳工程化策略, 增加外泌体(exosome, Exo)靶向性及有效性的方法; 同时, 也总结现阶段有关临床前实验与临床试验的研究成果和挑战, 以期为后续无细胞疗法的展开提供一定的理论基础及发展方向。

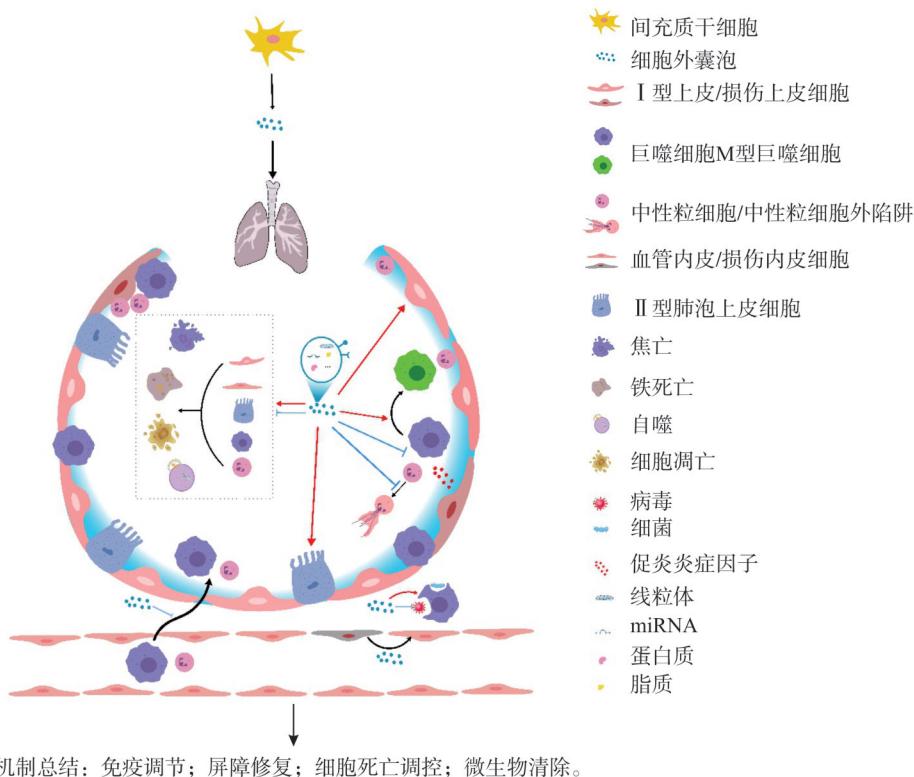


图1 细胞外囊泡在急性肺损伤中的治疗机制概述图

1 EV概述

MSC可分泌多种EV, 包括Exo、微囊泡(microvesicle, MV)和凋亡小体(apoptotic body, AB)3种类型, 其中Exo是由晚期内体膜向内出芽形成多泡体而后向外胞吐分泌的囊泡, 直径为30~150 nm; MV是由质膜直接向外胞吐产生的囊泡, 直径为100~1 000 nm; AB是由细胞凋亡产生的较大囊泡结构, 其直径>1 000 nm^[4]。这些EV完整保留了MSC的重要生物学特性, 内部富含脂质、蛋白质、核酸等多种生物活性分子, 能介导细胞之间

的通讯和信号传递, 同时具有低免疫原性和无致瘤风险等特点。MSC-EV在脓毒症、牙周炎、肾小管损伤和神经元疾病等多种ALI临床前模型中发挥作用, 其治疗机制和应用前景也正受到越来越多的关注。

2 EV在ALI中的治疗机制

2.1 免疫调节与炎症控制

2.1.1 巨噬细胞极化调控

巨噬细胞在包括肺在内的多种器官对颗粒和

病原体的先天性和适应性免疫反应中发挥重要作用。然而,在ALI/ARDS病理过程中,巨噬细胞和中性粒细胞过度浸润肺泡腔,过量产生促炎细胞因子,直接导致肺泡上皮和血管内皮损伤,成为肺部炎症恶化的重要驱动因素。巨噬细胞可以根据微环境改变极化为不同的状态,当巨噬细胞向M2表型转换时可减轻肺部炎症、恢复肺功能。

MSC-EV可通过调节巨噬细胞中的代谢程序介导巨噬细胞极化,M1和M2型巨噬细胞具有不同的代谢表型,M1型从有氧糖酵解中获得能量,而M2型主要利用脂肪酸氧化促进线粒体中的氧化磷酸化。巨噬细胞糖酵解的阻断可以有效抑制巨噬细胞向M1型极化,Deng等^[5]证明骨髓间充质干细胞(bone marrow mesenchymal stem cell, BMSC)来源的Exo可以抑制巨噬细胞糖酵解,该作用通过抑制缺氧诱导因子-1 α 下调糖酵解的几种必需蛋白的表达;通过AB的程序性细胞死亡(programmed cell death ligand1, PD)配体1和巨噬细胞的程序性细胞死亡蛋白1(programmed cell death protein 1, PD-1)之间的相互作用,可激活细胞外信号调节激酶通路,抑制糖酵解关键酶(如己糖激酶2、丙酮酸激酶M2型),促进氧化磷酸化^[6]。

MSC-EV载有的多种非编码RNA,在巨噬细胞极化中发挥重要作用。MSC-EV将miR-27a-3p转运至肺泡巨噬细胞中可促进巨噬细胞向M2型极化,这可能通过直接抑制核因子 κ B(nuclear factor kappa B, NF- κ B)通路关键亚基NF- κ B1发挥作用;人脂肪来源干细胞外囊泡通过转运miR-150-5p至巨噬细胞,直接与高迁移率族蛋白A2 mRNA的3'UTR互作并抑制其表达,导致丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)通路失活,促进巨噬细胞向M2型极化^[7]。人脐带来源MSC-Exo(human umbilical cord MSC, hucMSC-Exo)衍生的miR-451通过靶向抑制巨噬细胞迁移抑制因子进而导致磷脂酰肌醇3-激酶/蛋白激酶B(phosphoinositide 3-kinase/protein kinase B, PI3K/Akt)信号通路磷酸化水平下降,阻断炎性信号传导,使巨噬细胞向M2型极化^[8]。miR-21-5p有助于巨噬细胞向M2抗炎表型极化,且MSC-Exo的治疗效果与其miR-21-5p水平呈正相关^[9]。长链非编码RNA(long non-coding RNA,

lncRNA)调节细胞行为(增殖、迁移、分化和细胞凋亡),ADSC-Exo可将携带的lncRNA DLEU2递送至巨噬细胞内,通过靶向调节miR-106a-5p/LXN轴促进巨噬细胞M2极化^[10]。

调节免疫通路也可促使ALI中巨噬细胞向M2型极化,ADSC-Exo可抑制脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)刺激后干扰素调节因子7上调及焦亡蛋白NOD样受体热蛋白结构域相关蛋白3(NOD-like receptor thermal protein domain associated protein 3, NLRP3)、gasdermin D(GSDMD)氨基端结构域的表达,抑制M1极化^[11];而MSC-Exo能显著上调肺泡巨噬细胞中免疫应答基因1(immune responsive gene 1, IRG1)的表达,增加衣康酸(itaconic acid, ITA)的产生,进而通过抑制三羧酸循环减少活性氧簇(reactive oxygen species, ROS)和促炎因子,促使肺泡巨噬细胞向M2型极化^[11]。

2.1.2 促炎因子下调与抗炎因子上调

ALI/ARDS的核心病理特征是失控的炎症反应,其中涉及多种炎症因子和信号通路的激活。当病原体相关分子模式或损伤相关分子模式通过Toll样受体(toll-like receptor, TLR)、NLR等模式识别受体激活先天免疫系统时,肺泡巨噬细胞、上皮细胞等释放大量炎症介质,招募中性粒细胞等免疫细胞聚集于肺组织。而MSC-EV的给药改善了肺损伤的程度,减少了炎症,增加了抗炎细胞因子的表达水平,并保护了肺功能。多条炎症通路的调节参与其中,如通过miR-146a-5p靶向肿瘤坏死因子受体相关因子6,抑制NF- κ B激活^[12];抑制NLRP3/凋亡相关斑点样蛋白/caspase-1通路,减少白介素(interleukin, IL)-1 β 和IL-18成熟;通过miR-451抑制结节性硬化症复合体1(tuberous sclerosis complex 1, TSC1),激活哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mechanistic target of rapamycin, mTOR)通路,抑制巨噬细胞自噬^[13];激活核因子E2相关因子2(nuclear factor erythroid 2-related factor 2, Nrf2)抗氧化通路,上调血红素加氧酶-1、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)等,减轻氧化应激^[14]。

2.1.3 中性粒细胞浸润抑制

中性粒细胞是参与炎性疾病进展过程中最重要的白细胞亚群之一,在先天性免疫系统内作为关键效应细胞发挥作用,可以通过吞噬作用以及

抗菌肽的释放等发挥宿主防御功能。然而,当调控机制失衡时,中性粒细胞过度活化将导致组织损伤。在ALI/ARDS中, MSC-EV可表现出降低中性粒细胞浸润的功能^[6]。同时,除有经典效应分子以外,中性粒细胞还可以分泌细胞外纤维网络结构—中性粒细胞胞外陷阱(neutrophil extracellular trap, NET),它是一种以DNA和组蛋白为主要成分,但同时又含有中性粒细胞衍生的抗菌蛋白的细胞外网状体,可在感染期间捕获和杀死细胞外细菌和其他病原体,但NET释放过度也将对组织造成损伤。Tan等^[15]发现MSC衍生的凋亡囊泡可减少中性粒细胞的浸润,并通过CD73介导的腺苷信号减少血小板活化诱导的NET生成。Zou等^[16]也发现MSC-Exo可通过释放miR-127-5p抑制NET的形成,从而减轻ALI;而Zheng等^[17]研究则表明,在中性粒细胞内CD64是miR-127-5p的靶点。

2.2 肺泡—毛细血管屏障修复

ALI病理特点是肺泡—毛细血管屏障破坏,血管内液体外渗及炎性细胞侵入肺泡,修复肺泡—毛细血管屏障可能是治疗ALI的有效途径。

内皮屏障功能的稳定需依靠细胞骨架的动力学及细胞间的连接(紧密连接及黏附连接)完整。LPS显著抑制肺微血管内皮细胞(pulmonary microvascular endothelial cell, PMVEC)中紧密连接蛋白-1(zonula occludens-1, ZO-1)和ZO-5的表达,脂肪干细胞来源的细胞外囊泡ADSC(adipose-derived stemcell, ADSC)-sEV能有效恢复这一变化,并且可能是通过不同微小核糖核酸(microRNA, miRNA)的调控达到此目的^[18]。F-肌动蛋白在细胞骨架中扮演着重要角色,其动态调控对于细胞的多种生理过程至关重要,包括细胞黏附、迁移和分裂。LPS可使F-肌动蛋白聚合形成收缩肌动蛋白束和应力纤维,应力纤维收缩使细胞间隙形成,导致内皮屏障的通透性升高。既往研究^[19]报道血管生成素-1 mRNA的转移可修复肺毛细血管通透性,后续研究^[20]发现MSC-MV可通过CD44介导的内化和血管生成素-1 mRNA转移,激活酪氨酸激酶受体-2受体通路抑制肌动蛋白应激纤维形成、修复ZO和黏附连接蛋白的表达,维持内皮细胞骨架稳定性。肝细胞生长因子(hepatocyte growth factor, HGF)是与内皮通透性相关的关键分子, MSC-MV携带的HGF mRNA递送至内皮细胞后翻译为功能性HGF蛋白,上调E-钙黏蛋白和occludin表达,增强细胞间连接,并减少内皮细胞的凋亡^[21]。人胎盘MSC-Exo(human placental MSC-Exo, HPMSC-Exo)可通过miR-148a-3p直接抑制RHO相关卷曲螺旋激酶1表达来维持细胞骨架及细胞间连接的完整性(减少F-肌动蛋白紊乱,上调ZO-1)^[22]; BMSC-Exo通过miR-150上调CD34(血管完整性标志物)和E-钙黏蛋白,减轻微血管渗漏^[23]; BMSC-Exo显著上调上皮细胞中G蛋白偶联受体C5A的表达,通过激活Hippo通路效应因子YAP上调claudin-1、occludin、ZO-1和E-钙黏蛋白表达水平,并减少凋亡^[24]。

上皮钠通道(epithelial sodium channel, ENAC)是气道上皮细胞泡液清除的关键调节因子,位于肺泡上皮细胞的顶膜中,通过转运钠离子引起渗透压的改变从而对肺水肿重吸收,并通过位于基底膜上的钠钾泵排出钠离子。BMSC-sEV中的miR-34c可以特异性结合肉豆蔻酰化富含丙氨酸的C激酶底物,增加磷酸化的PI3K/Akt蛋白,从而增强LPS抑制的ENaC γ亚基表达^[25]; miR-199a-3p则可能通过调节脂多糖诱导的肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor-α, TNF-α)因子参与ENAC的调节^[26]。

此外,Shah等^[27]发现,具有高表达转化生长因子-β受体和Runt相关转录因子1 p66亚型MSC-EV亚型与ARDS患者的较高生存率有关,可能是由于该亚型EV通过促进内皮细胞增殖和改善内皮间隙通透性保护内皮连接完整性而发挥的作用。

2.3 细胞死亡途径调控

ALI通常伴随着多种细胞死亡形式,包括凋亡、坏死、焦亡、铁死亡等,这些细胞死亡形式不仅在ALI的病理机制中占据重要地位,还为治疗提供潜在的靶点。

2.3.1 MSC-EV的抗凋亡作用

细胞凋亡是一种高度程序化的细胞死亡方式,在ALI中,凋亡细胞释放的ROS和损伤相关分子模式不仅诱导周围细胞产生更多ROS,还会激活先天免疫系统,如血管内皮细胞凋亡会显著增加

血管通透性,导致中性粒细胞浸润和肺部炎症发展,加重肺水肿^[9]。

MSC-EV可通过下调TLR4和NF-κB水平而下调半胱天冬酶-3活性,减少肺微血管内皮细胞凋亡,保护肺屏障完整性,如在BMSC-EV中存在较高水平miR-191可以通过直接与死亡相关蛋白激酶1(death-associated protein kinase 1, DAPK1)mRNA结合阻止其翻译过程,已知DAPK1可激活NF-κB通路,从而促进炎症及凋亡^[28]。MSC-EV也通过调控PI3K/Akt通路发挥凋亡调控作用,例如miR-425直接靶向磷酸酶与张力蛋白同源物(phosphatase and tensin homolog, PTEN)mRNA的3'UTR,抑制PTEN表达^[29],上调PI3K/Akt通路,抑制细胞凋亡;MSC-MV通过转移HGF mRNA介导PI3K-Akt-mTOR的抗凋亡通路,激活并介导上皮细胞与内皮细胞间的抗凋亡作用^[30];另外,虽靶向不明,miR-126也被报道可能通过激活PI3K/Akt通路来抑制内皮细胞凋亡^[31];miR-21-5p则可同时抑制促凋亡基因PTEN和PD-4,阻断多条凋亡信号通路^[9,32]。

2.3.2 MSC-EV的铁死亡抑制

铁死亡是一种铁依赖性、以氧化应激和脂质过氧化为特征的非凋亡性细胞死亡方式,发生机制主要包含两大核心通路:一是SLC7A11-GSH-GPX4通路异常,二是铁依赖性脂质过氧化的异常激活。

MSC-EV经多种方式抑制铁死亡,发挥肺保护作用。在分子水平上可以显著降低细胞内铁沉积并上调重要抗铁死亡蛋白(如溶质载体家族7成员11和谷胱甘肽过氧化物酶4(glutathione peroxidase 4, GPX4))的表达,即MSC-EV一方面可以上调沉默信息调节因子1激活Nrf2信号通路,促进Nrf2下游靶基因血红素加氧酶-1和GPX4的表达、恢复线粒体膜电位以及增加SOD和GSH的含量,有效降低活性氧和丙二醛等脂质过氧化产物^[14];另一方面, MSC-EV可通过转运miR-125b-5p直接靶向抑制Keap1 mRNA表达,解除Keap1对Nrf2的抑制作用,进而上调GPX4的表达量,增加细胞抗氧化防御能力^[33]。

2.3.3 MSC-EV的细胞焦亡抑制

焦亡可以通过消除受损细胞来防御细胞内感

染,从而消除病原体的保护性生态位,同时引发炎症反应,GSDMD的裂解是Caspase-1和11触发焦亡的机制。MSCs-Exo通过下调caspase-1活化、GSDMD切割和IL-1β/IL-18释放,发挥抑制焦亡的作用,其过程可能由靶向焦亡通路的多条miRNA协同完成,如:miR-22-3p直接抑制NLRP3炎症小体、miR-214-3p结合caspase-1 mRNA降低其表达、miR-16-5p潜在靶向GSDMD^[34]。值得注意的是,NLRP3炎症小体作为激活caspase-1并促进IL-1β和IL-18分泌的关键蛋白质复合物,在焦亡调控中扮演重要角色。研究^[11]发现,ADSC-Exo能明显抑制LPS诱导的干扰素调节因子7上调及降低焦亡相关蛋白(包括NLRP3和GSDMD氮端结构域)的表达水平。此外,BMSC-Exo还通过促进yes相关蛋白与β-连环蛋白之间的相互作用,进而调节其转录活性,抑制体外循环诱导的焦亡过程^[35]。

2.3.4 MSC-EV调节细胞自噬

自噬是一种高度进化保守的细胞质成分回收和降解机制,在细胞的分化和稳态中具有多种作用,例如防止细胞死亡、提供能量以及允许不同代谢途径之间的切换。

从治疗机制的角度来看,各种来源MSC-Exo均可以通过特异性的调控自噬通路发挥作用。hucMSC-Exo传递miR-451靶向下调TSC1表达,解除TSC1对mTOR通路的负调控,从而抑制巨噬细胞自噬,减少NLRP3炎症小体激活及促炎因子释放^[13];BMSC-Exo则通过miR-384-5p直接作用于Beclin-1 mRNA 3'UTR,抑制自噬体的形成,抑制过度自噬导致的细胞损伤^[36]。

需要注意的是,自噬在ALI中发挥着双刃剑效应。一方面,促进巨噬细胞自噬可减少促炎因子分泌来缓解炎症反应;另一方面,上皮细胞中mTOR激活导致的自噬抑制可能通过NF-κB信号加剧LPS诱导的ALI^[37],不同细胞类型以及不同的病原菌或许是造成两种作用效果的根本原因。例如,hucMSC-Exo中高表达的miR-377-3p(表达量是成纤维细胞外泌体的3倍)通过抑制mTOR复合物1的调节相关蛋白取消mTORC1对上皮细胞自噬的抑制,促进微管相关蛋白1轻链3-II/Beclin-1表达上调以减轻肺泡上皮炎症^[38],

这些发现提示在开发基于自噬调控的 ALI 治疗策略时, 需要充分考虑靶细胞类型和疾病微环境的特异性。

2.4 微生物清除与抗病毒活性

微生物感染是引起 ALI/ARDS 的重要原因之一。已有研究证明 MSC-EV 不仅能够减少炎症, 而且能够改善微生物清除的能力。

2.4.1 增强巨噬细胞吞噬功能

LPS 刺激巨噬细胞样 THP-1 细胞后, 细胞的吞噬能力略有提高, 但无显著差异, 当细胞进一步用骨髓来源的 Exo 处理后, 其内吞包被的外来颗粒的能力增强^[39]。该作用可能经线粒体氧化代谢直接参与, MSC 条件培养基介导的巨噬细胞功能调节中, 寡霉素 (ATP 合酶抑制剂) 可完全逆转其对巨噬细胞吞噬作用的影响, 证明 MSC-EV 可通过转运线粒体恢复巨噬细胞内部氧化磷酸化, 促进其吞噬功能^[40]。

在分子机制方面, MSC-EV 可通过调控白三烯代谢通路增强抗菌活性。白三烯是重要的炎症介质, 参与调节吞噬作用和抗菌物质释放, MSC-EV 携带的 miR-145 能够靶向结合多药耐药相关蛋白 1 基因的 3'-UTR 区域降低其 mRNA 和蛋白表达水平, 抑制多药耐药相关蛋白 1 介导的白三烯 C₄ 转运。这一调控导致促炎性半胱氨酰白三烯减少而抗菌性白三烯 B₄ 增加, 最终通过白三烯 B₄ 受体 1 增强巨噬细胞抗菌作用^[41]。

2.4.2 直接抗病毒效应

除了增强吞噬作用, MSC-EV 还具有直接的抗病毒活性, 在流感病毒感染模型中 MSC-EV 通过作用于透明质酸 (hyaluronic acid, HA), 抑制病毒侵入呼吸道黏膜上皮细胞, 从而减少病毒在上皮细胞内的复制量, 并且阻止病毒诱导细胞凋亡^[42], 但其确切机制尚不清楚, 目前已经发现有两条可能的途径: 一方面, MSC-EV 携带抗病毒活性的 miRNA; 另一方面, MSC-EV 本身携带抗病毒因子干扰素诱导跨膜蛋白 3, 可以通过阻止病毒膜与宿主膜融合发挥作用^[43-44]。

3 Exo 工程化策略与优化

通过特定设计的体外预处理可提高 MSC 的治疗效果。将 MSC 预先进行工程化调控的物理或者

化学环境预处理能够使其得到良好的生存状态和发挥更强的免疫调节能力, 也进一步促进 MSC 分泌更多具有治疗作用的 EV, 能够改善 MSC 整体治疗效果。

3.1 亲本细胞预处理

LPS 是 TLR4 最重要的配体之一, LPS 预处理的 MSC 分泌更多的 EV 且有更高的蛋白质含量。LPS-EV 在炎症抑制、免疫调节、屏障修复中均展现作用, 其降低 IL-1 β 、TNF- α 、单核细胞趋化蛋白-1 等促炎因子含量, 促进巨噬细胞向 M2 型极化, 促进肺泡上皮细胞增殖, 恢复肺泡屏障减少水肿。此外, 与未处理 EV 比较, LPS-EV 可显著减少中性粒细胞浸润^[45], 在一项研究^[46]中发现, TLR4 激活后, MSC 中 lncRNA-p21 表达显著上调, 其作为 miR-181 的“海绵”, 可解除 miR-181 对沉默信息调节因 1 的抑制, 抑制 NLRP3 炎症小体, 从而减少肺泡细胞凋亡。用 TLR3 激动剂聚肌苷酸-聚胞苷酸预处理后的 MSC-EV 亦表现出相应的抗炎效应及免疫调节作用^[47]。然而, 对 LPS 预处理后 MSC-EV 发挥的功能存在争议, 有研究^[47]显示, 用 LPS 预处理的 MSC 增加了 CD3 $^+$ T 细胞增殖, 并诱导了 Th1 和 Th17 细胞, 以及促炎细胞因子 IL-6 的水平, 展现出促炎表型。二者展现的功能差异可能由 MSC 细胞的来源以及刺激条件差异引起, 低剂量/短时刺激 (如 1 h LPS) 可能诱导促炎表型, 高剂量/长时刺激 (如 24 h LPS) 更易触发抗炎表型^[47]。

凝血酶预处理的人间充质基质细胞中的蛋白含量和 EV 数产生亦显著增加, 该作用通过蛋白酶激活受体介导的 Ras 相关蛋白 5、早期内体抗原-1、细胞外信号调节激酶 1/2 和蛋白激酶 B 的激活促进 MSC 衍生的 EV 产生^[48], 凝血酶预处理的人间充质基质细胞明显减少肺部炎性因子水平, 降低肺水肿、肺泡壁增厚和白细胞浸润, 减少巨噬细胞向 M1 型极化, 但对 M2 型巨噬细胞无明显效用^[49], 但仍需要进一步的研究确定其疗效是否根据体内高凝状态的程度而变化。

TNF- α 与干扰素 γ 是炎症微环境中重要的促炎因子, 且已证明二者能够促进免疫调节、细胞修复相关基因的表达。与未处理 EV 比较, TNF- α /干扰素 γ 预处理的 EV 显著降低 TNF- α 、IL-1 β 水

并提升 IL-10 表达, 并且增加 E-钙黏蛋白(上皮标志物), 降低 N-钙黏蛋白/波形蛋白(间充质标志物)水平, 维持肺泡屏障完整性并抑制损伤后期的纤维化, 该作用可能通过改变的 miRNA 谱介导, 预处理 EV 中 miR-7704 表达显著上调, 其直接靶向骨髓分化初级反应基因 88 (myeloid differentiation primary response protein 88, *MyD88*), 抑制骨 *MyD88*/信号转导和转录激活因子 1 信号通路, 下调 M1 巨噬细胞的氧化应激和糖酵解相关蛋白(如诱导型一氧化氮合酶、SOD2), 维持能量稳态, 促进巨噬细胞向 M2 型极化。此外, 以干扰素 γ 预激活 hucMSC, 其 Exo 较普通 HUC-MSC 更显著地降低细胞中 NF- κ B p65 和 NLRP3 的表达^[50], 改善炎症反应与细胞焦亡, 并增强巨噬细胞对细菌的吞噬作用。

IL-1 β 预处理显著增加 ADSC-sEV 的分泌量, 并改变其 miRNA 表达谱(如上调 miR-21a, 下调 let-7a-1、miR-143、miR-145a), 减少内皮细胞凋亡, 维持紧密连接(防止 ZO-1/claudin-5 蛋白丢失)^[18]。

缺氧/复氧预处理的 MSC 分泌的 Exo 含更高水平 miR-21-5p^[9]。此外, 在缺氧预处理的 BMSC-Exo 中, 长链非编码 RNA XIST 含量丰富, claudin-4 是肺泡上皮屏障的关键蛋白, 长链非编码 RNA XIST 作为 miR-455-3p 的“海绵”, 可解除 miR-455-3p 对 claudin-4 的抑制, 维持上皮屏障的完整性^[51]。

传统的单层(2D)培养物中进行的培养在长期传代过程中存在有限的扩增、表型变化和细胞治疗活性的丧失, 而通过在旋转瓶或转壁容器生物反应器中动态培养 3D MSC 球体, 成功实现了 MSC 的大规模扩增, 有趣的是, 在 3D 球状体中培养的 MSC 协同其产生的 EV 表现出了更高的治疗潜力^[52]。MSC 的 3D 培养可上调基质金属蛋白酶、生长因子的基因表达, 并增加 EV 的产生, 3D-EV 富含 HGF, 通过恢复 PI3K/Akt 通路逆转 ZO-1 的下调, 维持肺泡上皮屏障的完整性, 减少肺泡蛋白渗漏和肺水肿, 促进 II 型肺泡上皮细胞合成表面活性蛋白 C 维持肺泡稳定性, 并降低支气管肺泡灌洗液中炎症细胞浸润和促炎因子。此外, 3D-EV 中部分蛋白可能通过丝裂原活化蛋白激酶信号通路促进细胞的增殖与存活^[53]。上述改变可能由于球状体核心细胞可模拟体内低氧状态, 上调促再生因子(如血管内皮细胞生长因子、

HGF) 和免疫调节因子(如 IL-10)。

3.2 外源性修饰

HA 是高分子量的非硫酸化糖胺聚糖, 在肺部其主要存在于支气管周围和肺泡周围的间质中, 是细胞外基质的主要组分之一, 对于维持肺泡气血屏障正常结构和体内稳态起着重要作用, 根据分子量可分为高分子量和低分子量两种类型。HA 通过结合细胞表面受体(如 CD44) 调节细胞行为, CD44 不仅能介导白细胞的 HA 摄取和清除, 也是 MSC-EV 被靶细胞内化的关键受体^[54]。MSC-EV 更倾向于与高分子量 HA(1.0 MDa) 相结合。对细菌性肺炎模型给予高分子量 HA 预处理后, 高分子量 HA 能够增强 MSC-EV 向肺、脾、肝等炎症部位靶向递送的作用, 并且能够显著降低肺泡、血液中细菌负荷。高分子量 HA 或可充当分子桥梁, 其通过与 MSC-EV 表面 CD44 受体结合, 促使 MSC-EV 进入受损肺泡内发挥作用。

甘露糖修饰的 EV 可通过甘露糖受体 C1 型特异性靶向巨噬细胞^[55], Lin 等^[56] 采用甘露糖-聚乙二醇-琥珀酰亚胺酯化学偶联法制备甘露糖化 Exo, 并通过优化电穿孔参数成功将其负载 miR-23b 模拟物, 在后续研究中证实甘露糖化 Exo 可通过甘露糖受体 C1 型特异性靶向巨噬细胞, 其内化效率较未修饰 Exo 提高约 50%, 装载的 miR-23b 通过靶向溶血磷脂酸受体 1 抑制 NF- κ B 通路激活, 从而阻止巨噬细胞向 M1 型极化, 而与游离 agomiR-23b 比较, 受甘露糖化 Exo 装载的 miR-23b 在肺组织的滞留时间显著延长, 为 ALI 治疗提供了新思路。

此外, 运用基因工程技术调控 MSC 特异性的分泌产物表达, 从而提高其外泌体中的目标物含量也是改善肺损伤的手段之一, 如慢病毒转染获得 PD-L1 高表达的 MSC^[57]。

3.3 载体化药物

MSC-Exo 兼有 MSC 本身具有的治疗潜能及天然药物载体的独特优势, 由于其脂质双层包裹, 可以保护其中的蛋白、核酸不受降解而维持生物活性, 并可以经过工程化改造装载特定的药物; 还可通过表面受体或者抗体修饰达到精准给药的目的, 在维持高效的同时实现精准靶向。

Let-7a-5p 是一种 miRNA, 已在抗病毒和抗炎

方面展现出潜能, Chen 等^[58]使用细胞纳米孔加工平台处理和转染沃顿胶来源 MSC 以制备富集有 let-7a-5p 的 EV, 利用 EV 中的 let-7a-5p 调节巨噬细胞的极化和诱导抗炎细胞因子 IL-10 的分泌, 在肺损伤的炎症微环境下发挥保护作用。

Huang 等^[59]利用化学交联剂二硬脂酰磷脂酰乙醇胺-聚乙二醇-琥珀酰亚胺酯将抗 PD-1 多肽共价连接至外泌体上, 制备负载抗 PD-1 多肽的 hucMSC-Exo (hucMSC-Exo loaded with anti-PD-1 peptide, MEP), 通过多靶点协同作用用于脓毒症相关 ALI 的治疗。此外, MEP 还可显著抑制 NLRP3/凋亡相关斑点样蛋白/Caspase-1 炎症小体通路活性和降低 IL-1 β 表达水平, 下调 GSDMD、诱导型一氧化氮合酶 的表达水平, 有效减少细胞死亡。这种双重免疫调控机制结合细胞死亡途径干预, 展现多维度治疗脓毒症 ALI 的独特优势。

维替泊芬能通过抑制 YAP1 活性减少肺损伤及调节巨噬细胞极化来改善相关肺功能。Liang 等^[60]设计出一种 VER 核心人工 Exo, 它将疏水性药物 VER 负载于介孔二氧化硅纳米颗粒, 再通过 BMSC 的内吞/外排作用封装到 Exo 中, 形成 EVM 复合体, VER 抑制 Hippo-YAP 通路促进 M2 巨噬细胞极化, 而 Exo 可靶向作用于炎性部位, 并且有避免 VER 被降解, 延长循环时间的优势, 在进入炎性组织后又可以借助其本身携带的抗炎成分(如 miRNA) 而发挥作用。

4 临床前研究与临床转化进展

尽管 MSC 衍生的 EV 显示出巨大的治疗潜力, 但很少有 EV 药物进入临床试验, 其中大多数研究仍处于临床前阶段。

4.1 动物模型效果

4.1.1 不同诱因模型

最常用的动物模型是 LPS 诱导的 ALI 小鼠模型, 操作简单且能模拟炎性肺损伤。但由于其与人类之间的差异较大(肺解剖结构不同、免疫应答较强等)、不能完全还原临床病人复杂病程。为推进转化医学研究, 还需在大型动物(猪、非人灵长类)中验证其机制, 目前只有少数的研究使用大型动物^[42, 61-62], 这可能与当前啮齿动物 ALI 模型已高度标准化及基因修饰技术在其中更成熟相

关, 也与成本、试验周期、伦理问题等密不可分。

此外, 现在大多数 EV 有效性的研究都在单一模型中开展, 但单一模型仅能概括人类 ARDS 的一部分, 在以后的研究中应该更多地使用不同动物模型来验证其效果和作用机制。

4.1.2 不同给药途径比较

MSC-EV 治疗肺部疾病主要有以下几种给药方式: 气管内给药、静脉注射、雾化吸入。临床前研究中最常用的给药途径是静脉内给药, 静脉注射虽然痛苦且患者依从性差, 但起效更快, 生物利用度高。注射后, EV 在血流中表现出高度稳定, 并可分布到肺部。气管内滴注是一种将药物或其他物质直接送入肺部的方法。有研究^[63]表明 GMP 级 MSC-Exo 不同给药途径的器官靶向性差异, 静脉注射主要富集于肝和脾, 其次为肺与肾, 有利于药物的全身分布, 但易被肝脾网状内皮系统捕获, 限制其向靶器官(如肺、脑)的递送效率; 而气管内注射则浓集于肺部。

直接给予液体悬浮剂冲击剂量可能会对已受感染的组织造成物理损伤, 将药物雾化能将药物直接送至肺部的同时, 减少对肺泡实质的直接液体损伤。Gonzalez 等^[39]发现雾化后 EV 表面标志物(CD9/CD29/CD146) 及内容物(miR-146、miR-181-5p) 无显著损失, 且雾化给药功效与静脉给药相似, 明显抑制炎症及促进细菌清除, 且在不同来源的 MSC 中效果相似。而在 Zhao 等^[64]的研究中, 雾化给药的 EV 靶向性更强, 肺组织富集效率显著高于尾静脉注射。

然而, 由于造成 ALI/ARDS 的原因多样, 在如脓毒症、烧伤、等情况下, 除肺部损伤, 可有全身多处器官受累, 在现有的研究中, 往往仅关注其在肺部的疗效, 鉴于 MSC-EV 的疗效广泛, 在使用时应需考虑对全身的作用。

4.2 临床试验

尽管近年来 MSC-EV 在肺部疾病(尤其是新型冠状病毒感染和 ARDS) 中的临床研究数量显著增加, 但截至目前, 仅有少数试验完成并公布了疗效与安全性的具体数据。

Sengupta 等^[65]在住院患者中评估骨髓 MSC-Exo(商品名 ExoFlo) 静脉输注治疗新型冠状病毒肺炎相关安全性和初步疗效, ExoFlo 在所有患

者中安全性和初步疗效较好,未出现治疗相关不良反应,在中重度ARDS患者接受机械通气的比例减少到仅25% (预期60%~79%),总生存率达83%,氧合指数平均提升191% ($P<0.001$),同时T细胞亚群趋于恢复正常,炎症指标降低。据上述研究推断,ExoFlo可能通过免疫调节和改善氧合的双重机制发挥作用,疗效峰值出现在给药后3~4 d,提示重复给药可能进一步优化疗效。尽管存在非随机、样本量小等局限性,但该研究为炎症性肺损伤提供了新的治疗选择,其应用潜力可扩展至经典ARDS、脓毒症等多种炎症性疾病,后续需通过随机对照试验进一步验证。

Lightner等^[66]研究表明,ExoFlo(15 mL)对重症新型冠状病毒感染患者有良好的安全性,且在特定年龄段的ARDS患者中可能具有降低死亡率和改善肺功能的潜力,但有待于更大的样本量加以证实。

Zamanian等^[67]通过双盲随机对照试验证实,hucMSC-EV可明显降低新型冠状病毒感染相关ARDS危重患者的死亡率(治疗组19.0%/对照组54.1%),且安全性良好。值得注意的是,虽然该研究中入组的治疗组患者比对照组患者入院时血氧饱和度更低、病情更重,但是依然能取得较好的治疗效果。而且与之前BMSC-EV的研究相比,该研究采用更加严格的设计(随机双盲设计),且使用新鲜制备的hucMSC-EV(总含量为 $1.05\times10^{11}\sim1.40\times10^{11}$ EV/70 kg),临床效果更好(死亡率低于骨髓EV研究的29.4%)。但由于样本量小等原因,还需要更多大样本量研究进一步证实MSVC-EV治疗ARDS的有效性和安全性。同时它也为之后MSC-EV治疗危重症提供了重要的循证依据。

5 结论与展望

近年来, MSC-EV在ALI/ARDS治疗中的应用展现出巨大的潜力。MSC-EV通过调控免疫炎症反应、修复肺泡-毛细血管屏障、抑制细胞死亡途径、促进微生物清除及保护线粒体功能等多种机制发挥治疗作用。此外,工程化策略(如亲本细胞预处理、靶向修饰和药物装载)进一步提高了Exo的治疗效果和特异性。尽管临床前研究结果令人鼓舞,但是现有研究也存在局

限性,如Exo大剂量的规模化制备、理想的用药剂量及用药方式的选择、长期安全性评价有待进一步探讨。

利益冲突声明 所有作者声明不存在利益冲突。

作者贡献声明 陈佳威:全面起草、撰写和修订论文最终版本;张惠兰:确定综述主题与框架,指导研究方向,修改论文内容并最终审定。

参 考 文 献

- [1] MATTHAY M A, WARE L B, ZIMMERMAN G A. The acute respiratory distress syndrome [J]. *Journal of clinical investigation*, 2012, 122(8):2731-2740.
- [2] BELLANI G, LAFFEY J G, PHAM T, et al. Epidemiology, patterns of care, and mortality for patients with acute respiratory distress syndrome in intensive care units in 50 countries [J]. *Journal of the American medical association*, 2016, 315(8):788-800.
- [3] LOY H, KUOK D I T, HUI K P Y, et al. Therapeutic implications of human umbilical cord mesenchymal stromal cells in attenuating influenza a (H5N1) virus-associated acute lung injury [J]. *The journal of infectious diseases*, 2019, 219(2):186-196.
- [4] DONG Z, FU Y, CAI Z, et al. Recent advances in adipose-derived mesenchymal stem cell-derived exosomes for regulating macrophage polarization [J]. *Frontiers in immunology*, 2025, 16:1525466.
- [5] DENG H, WU L, LIU M, et al. Bone marrow mesenchymal stem cell-derived exosomes attenuate LPS-induced ARDS by modulating macrophage polarization through inhibiting glycolysis in macrophages [J]. *Shock*, 2020, 54(6):828-843.
- [6] JIANG T, XIA Y, WANG W, et al. Apoptotic bodies inhibit inflammation by PDL1-PD1-mediated macrophage metabolic reprogramming [J]. *Cell proliferation*, 2024, 57(1):e13531.
- [7] ZHAO C, LUO Q, HUANG J, et al. Extracellular vesicles derived from human adipose-derived mesenchymal stem cells alleviate sepsis-induced acute lung injury through a microRNA-150-5p-dependent mechanism [J]. *Acute biomaterials science & engineering*, 2024, 10(2):946-959.
- [8] LIU J, XING F, FU Q, et al. Huc-mscs exosomal mir-451 alleviated acute lung injury by modulating macrophage m2 polarization via regulating MIF-PI3K-AKT signaling

- pathway [J]. Environmental toxicology, 2022, 37 (12) : 2819-2831.
- [9] 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 [J]. European journal of pharmacology, 2019, 852:68-76.
- [10] HE W, XU C, HUANG Y, et al. Therapeutic potential of ADSC-ev-derived lncRNA DLEU2: a novel molecular pathway in alleviating sepsis-induced lung injury via the mir-106a-5p/lxn axis [J]. International immunopharmacology, 2024, 130:111519.
- [11] REN J, LEI G, DONG A, et al. Therapeutic potential of ADSC-derived exosomes in acute lung injury by regulating macrophage polarization through IRF7/NLRP3 signaling [J]. International immunopharmacology, 2025, 156:114658.
- [12] PEI Z, CEN J, ZHANG X, et al. Mir-146a-5p delivered by hucMSC extracellular vesicles modulates the inflammatory response to sulfur mustard-induced acute lung injury [J]. Stem cell research & therapy, 2023, 14(1) : 149.
- [13] JIA Z G, LI L, ZHAO P, et al. Microrna-451 from human umbilical cord-derived mesenchymal stem cell exosomes inhibits alveolar macrophage autophagy via tuberous sclerosis complex 1/mammalian target of rapamycin pathway to attenuate burn-induced acute lung injury in rats [J]. Biomedical and environmental sciences, 2024, 37(9):1030-1043.
- [14] BAI X, LIU Y, LIU J, et al. Adscs-derived exosomes suppress macrophage ferroptosis via the SIRT1/NRF2 signaling axis to alleviate acute lung injury in sepsis [J]. International immunopharmacology, 2025, 146:113914.
- [15] TAN L, ZHANG C, KOU X, et al. Apoptotic vesicles attenuate acute lung injury via cd73-mediated inhibition of platelet activation and NETosis [J]. International journal of nanomedicine, 2025, 20:91-107.
- [16] ZOU T, LU J, ZHU Y, et al. Mesenchymal stem cell-derived exosomes improved septic lung injury by reducing excessive nets formation and alleviating inflammatory response [J]. Allergologia et immunopathologia, 2025, 53(1):63-68.
- [17] ZHENG X L, GU W J, ZHANG F, et al. Exosomal mir-127-5p from BMSCs alleviated sepsis-related acute lung injury by inhibiting neutrophil extracellular trap formation [J]. International immunopharmacology, 2023, 123:110759.
- [18] LI C, WANG M, WANG W, et al. Autophagy regulates the effects of ADSC-derived small extracellular vesicles on acute lung injury [J]. Respiratory research, 2022, 23(1):151.
- [19] TANG X D, SHI L, MONSEL A, et al. Mesenchymal stem cell microvesicles attenuate acute lung injury in mice partly mediated by ang-1 mRNA [J]. Stem cells, 2017, 35(7):1849-1859.
- [20] 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 [J]. Stem cells translational medicine, 2018, 7 (8):615-624.
- [21] WANG H, ZHENG R, CHEN Q, et al. Mesenchymal stem cells microvesicles stabilize endothelial barrier function partly mediated by hepatocyte growth factor (HGF) [J]. Stem cell research & therapy, 2017, 8(1) : 211.
- [22] LV Y, YU W, XUAN R, et al. Human placental mesenchymal stem cells-exosomes alleviate endothelial barrier dysfunction via cytoskeletal remodeling through hsa-miR-148a-3p/ROCK1 pathway [J]. Stem cells international, 2024, 2024:2172632.
- [23] XU J, XU D, YU Z, et al. Exosomal mir-150 partially attenuated acute lung injury by mediating microvascular endothelial cells and MAPK pathway [J]. Bioscience reports, 2022, 42(1):BSR20203363.
- [24] MAO G C, GONG C C, WANG Z, et al. Bmsc-derived exosomes ameliorate sulfur mustard-induced acute lung injury by regulating the GPRC5A-YAP axis [J]. Acta pharmacologica sinica, 2021, 42(12):2082-2093.
- [25] HUA Y, HAN A, YU T, et al. Small extracellular vesicles containing mir-34c derived from bone marrow mesenchymal stem cells regulates epithelial sodium channel via targeting marcks [J]. International journal of molecular sciences, 2022, 23(9):5196.
- [26] CHEN L, HOU Y, DU D, et al. Mir-199a-3p in mouse bone marrow mesenchymal stem cell exosomes increases epithelial sodium channel expression in lung injury [J]. Fundamental & clinical pharmacology, 2022, 36 (6) : 1011-1019.
- [27] SHAH T, QIN S, VASHI M, et al. Alk5/runx1 signaling mediated by extracellular vesicles promotes vascular repair in acute respiratory distress syndrome [J]. Clin-

- cal and translational medicine, 2018, 7(1):19.
- [28] LIU H, ZHANG L, LI M, et al. Bone mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles inhibit DAPK1-mediated inflammation by delivering mir-191 to macrophages [J]. Biochemical and biophysical research communications, 2022, 598:32-39.
- [29] WU Y, LI J, YUAN R, et al. Bone marrow mesenchymal stem cell-derived exosomes alleviate hyperoxia-induced lung injury via the manipulation of microRNA-425 [J]. Archives of biochemistry and biophysics, 2021, 697:108712.
- [30] CHEN W, WANG S, XIANG H, et al. Microvesicles derived from human wharton's jelly mesenchymal stem cells ameliorate acute lung injury partly mediated by hepatocyte growth factor [J]. The international journal of biochemistry & cell biology, 2019, 112:114-122.
- [31] MIZUTA Y, AKAHOSHI T, GUO J, et al. Exosomes from adipose tissue-derived mesenchymal stem cells ameliorate histone-induced acute lung injury by activating the PI3K/akt pathway in endothelial cells [J]. Stem cell research & therapy, 2020, 11(1):508.
- [32] CAI B, SONG W, CHEN S, et al. Bone mesenchymal stem cell-derived small extracellular vesicles ameliorated lipopolysaccharide-induced lung injury via the miR-21-5p/PCSK6 pathway [J]. Journal of immunology research, 2023, 2023:3291137.
- [33] SHEN K, WANG X, WANG Y, et al. Mir-125b-5p in adipose derived stem cells exosome alleviates pulmonary microvascular endothelial cells ferroptosis via keap1/nrf2/gpx4 in sepsis lung injury [J]. Redox biology, 2023, 62:102655.
- [34] LIU P, YANG S, SHAO X, et al. Mesenchymal stem cells-derived exosomes alleviate acute lung injury by inhibiting alveolar macrophage pyroptosis [J]. Stem cells translational medicine, 2024, 13(4):371-386.
- [35] ZHANG T, LU L, LI M, et al. Exosome from bmmSC attenuates cardiopulmonary bypass-induced acute lung injury via YAP/β-catenin pathway: downregulation of pyroptosis [J]. Stem cells, 2022, 40(12):1122-1133.
- [36] LIU X, GAO C, WANG Y, et al. Bmsc-derived exosomes ameliorate LPS-induced acute lung injury by miR-384-5p-controlled alveolar macrophage autophagy [J]. Oxidative medicine and cellular longevity, 2021, 2021:9973457.
- [37] HU Y, LOU J, MAO Y Y, et al. Activation of mtor in pulmonary epithelium promotes LPS-induced acute lung injury [J]. Autophagy, 2016, 12(12):2286-2299.
- [38] WEI X, YI X, LV H, et al. Microrna-377-3p released by mesenchymal stem cell exosomes ameliorates lipopolysaccharide-induced acute lung injury by targeting raptor to induce autophagy [J]. Cell death & disease, 2020, 11(8):657.
- [39] GONZALEZ H, MCCARTHY S, MASTERSON C, et al. Nebulised mesenchymal stem cell derived extracellular vesicles ameliorate e. Coli induced pneumonia in a rodent model [J]. Stem cell research & therapy, 2023, 14(1):151.
- [40] 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 [J]. American journal of respiratory and critical care medicine, 2017, 196(10):1275-1286.
- [41] HAO Q, GUDAPATI V, MONSEL A, et al. Mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles decrease lung injury in mice [J]. The journal of immunology, 2019, 203(7):1961-1972.
- [42] KHATRI M, RICHARDSON L A, MEULIA T. Mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles attenuate influenza virus-induced acute lung injury in a pig model [J]. Stem cell research & therapy, 2018, 9(1):17.
- [43] FEELEY E M, SIMS J S, JOHN S P, et al. IFITM3 inhibits influenza A virus infection by preventing cytosolic entry [J]. PLoS pathogens, 2011, 7(10):e1002337.
- [44] LEE J H, JEON H, LÖTVALL J, et al. Therapeutic potential of mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles in SARS-CoV-2 and H1N1 influenza-induced acute lung injury [J]. Journal of extracellular vesicles, 2024, 13(9):e12495.
- [45] ARENY-BALAGUERÓ A, CAMPRUBÍ-RIMBLAS M, CAMPAÑA-DUEL E, et al. Priming mesenchymal stem cells with lipopolysaccharide boosts the immunomodulatory and regenerative activity of secreted extracellular vesicles [J]. Pharmaceutics, 2024, 16(10):1316.
- [46] SUI X, LIU W, LIU Z. Exosomal lncRNA-p21 derived from mesenchymal stem cells protects epithelial cells during LPS-induced acute lung injury by sponging miR-181 [J]. Acta biochimica et biophysica sinica, 2021, 53(6):748-757.
- [47] VEGA-LETTER A M, KURTE M, FERNÁNDEZ-O'

- RYAN C, et al. Differential TLR activation of murine mesenchymal stem cells generates distinct immunomodulatory effects in EAE [J]. *Stem cell research & therapy*, 2016, 7(1):150.
- [48] SUNG D K, SUNG S I, AHN S Y, et al. Thrombin preconditioning boosts biogenesis of extracellular vesicles from mesenchymal stem cells and enriches their cargo contents via protease-activated receptor-mediated signaling pathways [J]. *International journal of molecular sciences*, 2019, 20(12):2899.
- [49] BANG Y, HWANG S, KIM Y E, et al. Therapeutic efficacy of thrombin-preconditioned mesenchymal stromal cell-derived extracellular vesicles on escherichia coli-induced acute lung injury in mice [J]. *Respiratory research*, 2024, 25(1):303.
- [50] WANG C, JIANG C, YANG Y, et al. Therapeutic potential of huc-msc-exos primed with IFN- γ against LPS-induced acute lung injury [J]. *Iranian journal of basic medical sciences*, 2024, 27(3):375-382.
- [51] REN Q, XU Y, XU L, et al. Hypoxic bone marrow mesenchymal stem cell-derived exosomal lncRNA xist attenuates lipopolysaccharide-induced acute lung injury via the mir-455-3p/claudin-4 axis [J]. *International immunopharmacology*, 2023, 125(Pt A):111066.
- [52] KIM M, YUN H-W, PARK D Y, et al. Three-dimensional spheroid culture increases exosome secretion from mesenchymal stem cells [J]. *Tissue engineering and regenerative medicine*, 2018, 15(4):427-436.
- [53] CHEN Y, LIN F, ZHANG T, et al. Engineering extracellular vesicles derived from 3d cultivation of BMSCs enriched with HGF ameliorate sepsis-induced lung epithelial barrier damage [J]. *Advanced science*, 2025, 12(16):e2500637.
- [54] JOHNSON P, ARIF A A, LEE-SAYER S S M, et al. Hyaluronan and its interactions with immune cells in the healthy and inflamed lung [J]. *Frontiers in immunology*, 2018, 9:2787.
- [55] TU W, HU X, WAN R, et al. Effective delivery of mir-511-3p with mannose-decorated exosomes with RNA nanoparticles confers protection against asthma [J]. *Journal of controlled release*, 2024, 365:602-616.
- [56] LIN J, YANG L, LIU T, et al. Mannose-modified exosomes loaded with mir-23b-3p target alveolar macrophages to alleviate acute lung injury in sepsis [J]. *Journal of controlled release*, 2025, 379:832-847.
- [57] WU Y, WANG H, SONG A, et al. PD-L1-expressing extracellular vesicles for the treatment of pneumonia [J]. *ACS biomaterials science & engineering*, 2023, 9(11):6464-6471.
- [58] CHEN S Y, CHEN Y L, LI P C, et al. Engineered extracellular vesicles carrying let-7a-5p for alleviating inflammation in acute lung injury [J]. *Journal of biomedical science*, 2024, 31(1):30.
- [59] HUANG Y, LI G, CHEN Z, et al. Exosomal drug delivery systems: a novel therapy targeting PD-1 in septic shock [J]. *Stem cell reviews and reports*, 2024, 20(8):2253-2267.
- [60] LIANG L, PENG W, QIN A, et al. Intracellularly synthesized artificial exosome treats acute lung injury [J]. *Academy of science*, 2024, 18(32):21009-21023.
- [61] HOMMA K, BAZHANOV N, HASHIMOTO K, et al. Mesenchymal stem cell-derived exosomes for treatment of sepsis [J]. *Frontiers in immunology*, 2023, 14:1136964.
- [62] ZHU Y G, FENG X M, ABBOTT J, et al. Human mesenchymal stem cell microvesicles for treatment of escherichia coli endotoxin-induced acute lung injury in mice [J]. *Stem cells*, 2014, 32(1):116-125.
- [63] TOLOMEO A M, ZUCCOLOTTO G, MALVICINI R, et al. Biodistribution of intratracheal, intranasal, and intravenous injections of human mesenchymal stromal cell-derived extracellular vesicles in a mouse model for drug delivery studies [J]. *Pharmaceutics*, 2023, 15(2):548.
- [64] ZHAO R, WANG L, WANG T, et al. Inhalation of msc-exos is a noninvasive strategy for ameliorating acute lung injury [J]. *Journal of controlled release*, 2022, 345:214-230.
- [65] SENGUPTA V, SENGUPTA S, LAZO A, et al. Exosomes derived from bone marrow mesenchymal stem cells as treatment for severe COVID-19 [J]. *Stem cells and development*, 2020, 29(12):747-754.
- [66] LIGHTNER A L, SENGUPTA V, QIAN S, et al. Bone marrow mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicle infusion for the treatment of respiratory failure from COVID-19 [J]. *Chest*, 2023, 164(6):1444-1453.
- [67] ZAMANIAN M H, NOROOZNEZHAD A H, HOSSEINI KHANI Z, et al. Human placental mesenchymal stromal cell-derived small extracellular vesicles as a treatment for severe COVID-19: a double-blind randomized controlled clinical trial [J]. *Journal of extracellular vesicles*, 2024, 13(7):e12492.