

## 间充质干细胞及其来源的胞外囊泡

王 华\*

(军事医学研究院辐射医学研究所, 北京 100850)

**摘要** 间充质干细胞(MSCs)是一类多组织来源的成体干细胞,具有自我更新及多项分化潜能。移植后,MSCs可以迁移归巢至受损组织,通过分泌免疫调节因子,细胞因子,生长因子,胞外囊泡和其他生物活性物质,发挥抗炎,抗病毒,抗凋亡,抗纤维化,促进血管新生和免疫调节等作用,在治疗自身免疫性疾病及组织器官修复中表现出较好的疗效。目前,国际上已有10余款MSCs产品上市,我国也有30余款间充质干细胞新药获得临床试验默许。胞外囊泡是来源于膜系统,由细胞分泌的双层脂质颗粒,携带有亲本细胞的生物活性物质,包含蛋白质,脂质,mRNA和细胞因子等,可以将亲本细胞信号传递给受体细胞。间充质干细胞来源的胞外囊泡具有与其来源的间充质干细胞相似的生物学特性。因其体积小,免疫原性低,组织渗透性强,循环半衰期长,稳定性高,使用风险低等优点,近年来,胞外囊泡作为非细胞产品逐渐受到关注。除其本身具有组织发育与功能维持,调节免疫,抗氧化应激和促进再生等作用之外,间充质干细胞及其胞外囊泡还可以作为生物载体递送生物活性物质,发挥抗肿瘤和促进组织修复等作用。本文就间充质干细胞及其胞外囊泡的功能及其作为药物载体的研究进展进行综述。

**关键词** 间充质干细胞; 胞外囊泡; 药物载体

中图分类号 R329.2

## Mesenchymal Stem Cells and Mesenchymal Stem Cells Derived Extracellular Vesicles

WANG Hua\*

(Institute of Radiation Medicine, Academy of Military Medical Sciences, Beijing 100850)

**Abstract** Mesenchymal stem cells (MSCs) are a kind of adult stem cells capable of self-renewal and multiple differentiation, they can derive from multiple tissues. After transplantation, MSCs can migrate and home to the sites of damaged tissues. By secreting immunomodulatory factors, cytokines, growth factors, extracellular vesicles and other bioactive substances, they play the roles of anti-inflammatory, anti-viral, anti-apoptosis, anti-fibrosis, promotion of angiogenesis and immune regulation. They have shown good efficacy in the treatment of autoimmune diseases and promote tissue and organ repair. At present, more than 10 MSC products have been listed in the world, and more than 20 MSC drugs have been acquired in clinical trials in China. Extracellular vesicles are bilayer lipid particles secreted by cells and derived from the membrane system. They carry bioactive substances of parent cells, including proteins, lipids, mRNA and cytokines, and can transmit parent cell signals to recipient cells. Therefore, extracellular vesicles derived from MSCs have biological characteristics similar to their parent MSCs. Because of its small size, low immunogenicity, strong tissue permeability, long cycle half-life, high stability and low risk, it has attracted more and more attention as a non-cell therapy product in recent years. In addition to

收稿日期: 2022-06-23; 修回日期: 2022-07-27; 接受日期: 2022-08-22

全军后勤重大项目(No. AWS21J003)资助

\* 通讯作者 Tel: 010-66932041; E-mail: 18511712135@163.com

Received: June 23, 2022; Revised: July 27, 2022; Accepted: August 22, 2022

Supported by Major Military Logistics Project (No. AWS21J003)

\* Corresponding author Tel: 010-66932041; E-mail: 18511712135@163.com

the functions of tissue development and function maintenance, immune regulation, anti-oxidative stress and promoting regeneration, MSCs and their extracellular vesicles can also be used as biological carriers to deliver bioactive substances, therefore playing an important role in the process of anti-tumor and tissue repair. The review provides an overview of function of the MSCs and their extracellular vesicles, and the research progress of MSC extracellular vesicles as drug carriers.

**Key words** mesenchymal stem cells(MSCs); extracellular vesicles; drug carrier

间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)是一类具有自我更新与多项分化潜能的成体干细胞。1976年, Freidenstein等首次在骨髓发现并分离出一类非造血的形状似成纤维的细胞,他们贴壁生长并具有分化为中胚层组织的多能性<sup>[1]</sup>。1988年, Freidenstein和Owen将其命名为骨髓基质干细胞<sup>[2,3]</sup>。1991年, Caplan教授发表论文首次将这类细胞命名为间充质干细胞<sup>[4]</sup>。2006年, Dominici等<sup>[5]</sup>对间充质干细胞的属性进行了描述:在标准培养条件下具有塑料贴壁性,表达CD73、CD90、CD105,低表达或不表达CD45、CD34、CD14或CD11b、CD79 $\alpha$ 或CD19和HLA-DR等表面分子,体外具有向成骨细胞、脂肪细胞和成软骨细胞分化的能力。随着对间充质干细胞在基础科研及临床应用的深入研究,科学家逐渐认识到,其治疗潜能并不主要依赖于最初认为的分化潜能。也就是说, MSCs迁移至受损组织,分化为受损组织的细胞,发挥替换作用微乎其微。MSCs发挥免疫调节及修复作用更多的是由于其归巢至受损部位或疾病部位,分泌生物活性物质。因此,2017年, Caplan教授建议将之命名为医用信号细胞(medicinal signaling cells, MSCs)<sup>[6]</sup>。本文主要阐述MSCs的旁分泌作用及其在旁分泌作用中发挥着重要功能的胞外囊泡。

## 1 间充质干细胞的主要功能

间充质干细胞由于其免疫原性低,且具有较强的免疫调节和促进组织修复的功能,因此,受到越来越多的关注。

### 1.1 MSCs的免疫调节及组织修复功能

MSCs可以分泌多种免疫调节因子、细胞因子、生长因子、胞外囊泡和其他生物活性物质,发挥抗炎、抗凋亡、抗纤维化和免疫调节效应,从而调节机体系列生理过程<sup>[7]</sup>。

MSCs可以通过分泌细胞因子,如趋化因子C-C基序配体2(chemokine C-C motif ligand 2, CCL-2)、CCL-5、胰岛素样生长因子-1(insulin-like growth factor-1, IGF-1)、白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6)和血管内皮生长因子(vascular endothelial growth fac-

tor, VEGF)等,参与细胞和组织发育,分化和死亡<sup>[8]</sup>。通过分泌IL-6、IL-10、前列腺素E2(prostaglandin E2, PGE2)和转化生长因子 $\beta$ (transforming growth factor beta, TGF- $\beta$ )等细胞因子,发挥免疫调节作用<sup>[9]</sup>。MSCs还可以通过分泌具有免疫调节特性的外泌体,参与细胞间的交流,从而有利于免疫系统识别并清除外来抗原<sup>[10]</sup>。

1.1.1 间充质干细胞对免疫细胞的调节作用 间充质干细胞可以调节多种免疫细胞的增殖、成熟、分化、激活、极化、活性物质释放等过程,从而发挥免疫调节功能。

(1)间充质干细胞对巨噬细胞(macrophage, M $\Phi$ )的调节作用:M $\Phi$ 是机体免疫系统的重要组成部分,在机体的免疫反应中发挥不同的功能,如调节凋亡,吞噬病原体,重塑胞外基质,激活其他免疫细胞。M $\Phi$ 可以极化为M1型M $\Phi$ 和M2型M $\Phi$ 。其中,M1型M $\Phi$ 可以促进炎症因子分泌,促进抗菌反应;M2型M $\Phi$ 发挥免疫抑制效应<sup>[11]</sup>。MSCs可以通过促进某些蛋白质高表达,分泌炎症细胞因子和外泌体等抑制M1型M $\Phi$ 的活化,促进M1型M $\Phi$ 向M2型M $\Phi$ 转化,如骨髓间充质干细胞(bone-marrow MSCs, BMMSCs)可以通过促进Toll样受体4(Toll-like receptor 4, TLR4)的表达而抑制M $\Phi$ 向M1分化<sup>[12]</sup>;BMMSC还可以通过分泌炎症趋化因子CCL2和C-X-C基序趋化因子2(C-X-C motif chemokine 2, CXCL2),使小鼠腹腔M $\Phi$ 向IL-10表型M $\Phi$ 极化,从而修复肠损伤<sup>[13]</sup>。

(2)间充质干细胞对树突状细胞(dendritic cell, DC)的调节作用:DC是一种抗原呈递细胞,在驱动特异性免疫反应以及启动和调节获得性免疫反应过程中发挥着重要作用。MSCs可以直接抑制DC的增殖、成熟和分化,也可以通过调节DC与淋巴细胞之间的相互作用,从而发挥免疫调节和免疫抑制效应。研究发现,不成熟DC与MSCs共培养48h, CD11c、CD80、CD86、IL-6、肿瘤坏死因子 $\alpha$ (tumor necrosis factor  $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )和干扰素 $\gamma$ (interferon, IFN- $\gamma$ )表达水平降低,而CD11b、IL-10和TGF- $\beta$ 表达水平显著升高,表明MSCs可以诱导不成熟DC向调节型DC转化<sup>[14]</sup>。

(3) 间充质干细胞对 T 淋巴细胞的调节作用: T 淋巴细胞起源于骨髓, 在胸腺中发育成熟。T 淋巴细胞是机体免疫反应的重要组成, 维持机体自稳, 免疫记忆, 识别病原体。MSCs 可以调节 T 细胞的活化, 增殖, 分化和表型转化。BMMSCs 可以通过 IFN- $\gamma$  依赖的途径促进抗原特异性 CD4<sup>+</sup> T 细胞向 Th1 细胞表型分化, 抑制 Th2 细胞介导的气道变应性炎症<sup>[15]</sup>。

(4) 间充质干细胞对 B 淋巴细胞的调节作用: B 淋巴细胞来源于骨髓干细胞, 主要位于淋巴结和脾脏。B 细胞分泌抗体, 参与调节免疫反应。MSCs 可以调节 B 细胞增殖, 抑制成熟 B 细胞分化为抗体分泌细胞, 调节 B 细胞分化和表型转化, 上调 Breg 细胞数量。在小鼠结肠炎模型中, 腹腔注射 BMMSCs 可以通过上调 IL-10 表达, 诱导 CD23<sup>+</sup>CD43<sup>+</sup>B 调节细胞, 从而减轻模型鼠的症状及病理改变<sup>[16]</sup>。

(5) 间充质干细胞对自然杀伤细胞(natural killer cells, NK 细胞)的调节作用: NK 细胞是一种重要免疫细胞, 参与机体超敏反应, 其表面受体严密调控其活性, 使其可以准确识别正常和异常细胞。MSCs 可以抑制 NK 细胞的增殖, 增强其脱颗粒效应, 调节 NK 细胞的活化与表型。健康供者外周血单个核细胞来源的 NK 细胞与 BMMSCs 条件培养上清(BMMSCs-CM)共培养 72 h 后, 再与人骨髓瘤细胞系 SKO-007(J3)细胞共培养, 结果发现, CD107a 表达显著高于未与 BMMSCs 共培养的细胞, 表明 NK 细胞的脱颗粒作用增强<sup>[17]</sup>。

1.1.2 间充质干细胞对多种疾病的治疗作用 基于间充质干细胞的免疫调节及组织修复能力, 其对自身免疫性疾病, 神经系统疾病, 心脑血管疾病, 传染性疾病等均有较好的治疗潜能。我国目前对于间充质干细胞的监管模式, 采用的是国家药品监督管理局按照新药进行管理, 国家卫生健康委员会按照医疗技术进行管理。截止目前为止, 我国已有 43 项间充质干细胞新药获临床试验默许。获批间充质干细胞新药来源包括脐带、脂肪、骨髓、牙髓、宫血等。适应症包括移植物抗宿主病、类风湿性关节炎、溃疡性结肠炎、银屑病、膝骨关节炎、慢性牙周炎、特发性肺纤维化、糖尿病足等。

(1) 间充质干细胞对自身免疫性疾病的治疗作用 MSCs 可来源于不同组织, 如骨髓、脂肪组织、脐带、牙髓等, MSCs 通过细胞间相互作用或分泌可溶性细胞因子, 参与多条免疫反应途径, 这些特性使得 MSCs 具有治疗自身免疫性疾病的潜在价值<sup>[18]</sup>。MSCs 可以表达/分泌细胞毒 T 细胞抗原 4 (cytotoxic

T cell antigen 4, CTLA-4)、程序性细胞死亡蛋白质 1 配体(ligand for programmed cell death protein 1, PD-L1)、吡啶胺 2,3-双加氧酶 1 (indoleamine 2,3-dioxygenase 1, IDO-1)、Fas 配体(Fas ligand, FasL)、诱导型一氧化氮合酶(inducible nitric oxide synthase, iNOS)、TGF- $\beta$  和前列腺素 E2 (prostaglandin E2, PGE2)等免疫抑制分子, 发挥抑制淋巴细胞激活与增殖, 促进 Tregs 细胞形成的作用, 这些分子的表达是 MSCs 治疗自身免疫性疾病的物质基础<sup>[19]</sup>。

MSCs 对系统性红斑狼疮(systemic lupus erythematosus, SLE)等自身免疫性疾病具有免疫调节功能。研究表明, 与健康对照组相比, SLE 患者尤其是狼疮性肾炎患者的外周血耐受性 CD1c<sup>+</sup>DC 数量和血清 Fms-样酪氨酸激酶-3 配体(Fms-like tyrosine kinase-3 ligand, FLT3L)水平显著降低, 而移植 MSCs, 可通过其表达的 FLT3L 与 CD1c<sup>+</sup>DC 上的 FLT3 结合, 促进耐受性 CD1c<sup>+</sup>DC 的增殖并抑制其凋亡, 显著上调外周血 CD1c<sup>+</sup>DC 和血清 FLT3L 水平。因此, MSCs 可能通过上调耐受性 DC 来抑制狼疮的炎症反应<sup>[20]</sup>。

我们前期建立了胶原诱导的小鼠关节炎模型(collagen-induced arthritis, CIA), 利用静脉给予牙髓干细胞(dental pulp stem cells, DPSCs)进行治疗。结果发现, 治疗组小鼠关节肿胀相对较轻, 关节表面红疹较少; 组织病理学结果证实, DPSCs 治疗能够有效降低滑膜炎的严重程度。CIA 小鼠外周血及关节免疫分析结果提示, 经 DPSCs 治疗后, 小鼠 Treg 细胞比例升高, 外周血 Th1/Th2 细胞比例降低, 血清及关节 IL-6 保持较低水平<sup>[21]</sup>。

(2) 间充质干细胞对神经系统疾病的治疗作用 神经系统疾病是以广泛的神经元丢失和/或功能紊乱为主要病理学改变的一类疾病。以干细胞为核心的再生医学手段为这类疾病的修复提供了新的策略。

利用快速老化小鼠 SAMP8 建立阿尔兹海默症模型, 评价脐带间充质干细胞(umbilical cord-derived mesenchymal stem cells, UC-MSCs)对小鼠认知功能恢复的影响。结果表明, UC-MSCs 可以通过分泌肝细胞生长因子(hepatocyte growth factor, HGF), 激活 cMet-AKT-GSK3 $\beta$  信号通路, 作用于海马, 下调过度磷酸化的 tau 蛋白质, 从而修复损伤的神经元细胞, 促进突触可塑性恢复, 增强认知功能<sup>[22]</sup>。

脊髓损伤(spinal cord injury, SCI)是最复杂和最具破坏性的神经系统疾病之一, 可导致暂时或永久丧失触觉感知、神经肌肉功能和自主调节障碍。

干细胞移植可以通过多个靶点发挥保护神经和促进神经再生的作用。MSCs 主要通过分泌活性细胞因子等发挥作用:分泌 VEGF、HGF、IGF-I、TGF- $\beta$  和粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子 (granulocyte macrophage colony stimulating factor, GM-CSF) 促进损伤神经元和少突胶质细胞的存活,与胎盘生长因子 (placental growth factor, PIGF)、单核细胞趋化蛋白质-1 (monocyte chemoattractant protein-1, MCP-1)、碱性成纤维细胞生长因子 (basic fibroblast growth factor, bFGF) 和 IL-6 等共同促进血管生成;分泌胶质细胞源性神经营养因子 (glialcelline-derived neurotrophic factor, GDNF)、脑源性神经营养因子 (brain-derived neurotrophic factor, BDNF) 和神经生长因子 (nerve growth factor, NGF) 促进残留神经元的增殖与再生;通过细胞之间直接接触与分泌 IL-10、TGF- $\beta$ 、PGE-2、半乳糖苷凝集素-1 (galectin-1)、IDO 和人类白细胞抗原-G (HLA-G) 发挥免疫调节作用。MSCs 可以抑制胶质增生,从而改善细胞外基质环境,利于神经再生;具有抗氧化特性,可以刺激细胞产生抗氧化酶。除此之外,直接细胞融合,线粒体转移和胞外囊泡等也参与了 MSCs 对脊髓损伤的治疗作用。线粒体转移是干细胞治疗的一种新机制,受到越来越多的关注。MSCs 通过隧道纳米管 (tunneling nanotubes, TNT) 等多种途径将线粒体转移至线粒体功能障碍的受损细胞,从而恢复细胞的有氧呼吸及线粒体功能,挽救细胞损伤。在脊髓损伤模型中, MSCs 可以将线粒体转移至氧化应激所导致的损伤神经元中,产生代谢受益<sup>[23-24]</sup>。

脑卒中是最常见的脑血管疾病之一,可导致严重的神经功能丧失,在世界范围内发病率与死亡率均占首位。BMSCs 释放内源性血管生长因子增强新生血管稳定性,从而增加脑卒中部位脑血管生成<sup>[25]</sup>。

(3) 间充质干细胞对心血管疾病的治疗作用包括 58 项临床前研究的 meta-分析结果提示,在急性心肌梗死和慢性缺血性心肌病动物模型使用 MSCs 治疗,可使总梗死面积减少约 7%,心脏功能改善约 11%<sup>[26]</sup>。Karantalis 等<sup>[27]</sup>证实,在接受冠状动脉搭桥术的患者中,心肌内注射自体间充质干细胞可以减少疤痕大小,改善心肌灌注以及注射部位的局部功能。干细胞具有向心肌细胞、内皮细胞和平滑肌细胞分化的能力,参与再生过程。然而,大量体内外的数据均表明,干细胞主要是通过间接的旁分泌途径,重塑受损组织中细胞外基质 (extracellular matrix, ECM),促进新生血管的形成,调节免疫,从

而发挥治疗效果。大量临床前研究表明,干细胞治疗具有显著的疗效,包括减少纤维化和梗死面积、增加灌注和改善心功能。然而,在临床试验中获得的功能数据与临床前数据并不一致,未能证实在各种动物模型中观察到的干细胞治疗的显著益处,提示在向临床转化的过程中尚需注意许多细节的问题,如剂量、疗程、给药方式、疗效评价指标、疗效终点等等<sup>[28]</sup>。

(4) 间充质干细胞对传染性疾病的治疗作用新冠肺炎是由严重急性呼吸综合征冠状病毒-2 (severe acute respiratory syndrome coronavirus 2, SARS-CoV-2) 感染所导致的以肺部急性炎症性损伤为主要表现的一种传染病。虽然对于新冠肺炎的病原学及发病机理已基本阐明,但是仍然没有特异的治疗措施。对于重症患者,急性 SARS-CoV-2 病毒感染可导致免疫紊乱,损坏先天免疫与获得性免疫,而 MSCs 由于可以调节过度激活的免疫反应,促进损伤肺组织再生,所以成为治疗新冠肺炎的新策略。

SARS-CoV-2 病毒主要侵犯包括肺脏在内的呼吸道,导致中性粒细胞,单核/巨噬细胞, NK 细胞, CD4<sup>+</sup>T 淋巴细胞, CD8<sup>+</sup>T 淋巴细胞, Th17 细胞和 B 淋巴细胞等免疫细胞浸润增加,从而引发细胞因子风暴,机体释放大量的炎性细胞因子,如 IFN- $\alpha$ 、IL-1、IL-6 和 TNF- $\alpha$  等,导致肺细胞分泌大量纤维黏液样渗出物及肺细胞脱落。针对其发病机制, MSCs 可以通过以下两方面作用,发挥其再生和免疫调节的作用,从而修复肺损伤,抑制过度激活的炎症反应,影响肺纤维化进程: MSCs 通过分泌 HGF、VEGF、角质形成细胞生长因子 (keratinocyte growth factor, KGF) 等促进 II 型肺泡上皮细胞再生; MSCs 被趋化因子募集至炎症局部,通过直接接触或者旁分泌效应,分泌 IDO、TGF- $\beta$  和 PGE2 来调节 NK 细胞、DC、B 细胞、T 细胞、中性粒细胞和 M $\Phi$  等多种免疫细胞的功能<sup>[29]</sup>。I 期临床试验结果提示,脐带和宫血等多种来源的间充质干细胞治疗中重度新冠肺炎均安全,耐受,有效<sup>[30-32]</sup>。II 期临床试验结果表明,与对照组相比, MSCs 移植组病变肺体积显著减少,肺实质性病变体积显著减少,6 min 步行距离增加,显著降低炎性细胞因子的水平,提高伴有呼吸窘迫综合征患者的生存率<sup>[33-34]</sup>。间充质干细胞治疗新冠肺炎的临床方案,如给药时机,给药途径,剂量,疗程等对其疗效的影响,尚需开展进一步临床试验验证。其对新冠肺炎的并发症及后遗症,如肺纤维化等的治疗作用,尚需延长随访时间获得<sup>[29]</sup>。

另外, MSCs 对肝炎、艾滋病等传染性疾病也有

治疗作用。在抗肝炎治疗中, MSCs 主要发挥着是抗炎以及向功能性肝细胞样细胞分化的作用, 因此成为治疗 HBV 相关急慢性肝衰竭一种新方法<sup>[35-36]</sup>。MSCs 移植可以通过促进体内 CD4<sup>+</sup>T 细胞数量增加, 降低炎性细胞因子水平, 从而发挥治疗难治性艾滋病的作用<sup>[37]</sup>。

尽管 MSCs 对多种疾病均显示出了较好的治疗效果, 但是其疗效尚可进一步提高, 如通过药物、细胞因子和生长因子、环境因素等对细胞进行预处理, 将细胞与生物材料相结合, 对细胞进行基因修饰, 采用个体化 MSCs 进行治疗, 不同适应症选择不同来源 MSCs 等。

## 1.2 间充质干细胞作为治疗载体

MSCs 可以调节参与抗肿瘤免疫的所有免疫细胞的表型和功能: MSCs 调控 DC 的抗原提呈特性, 影响 MΦ 和 CD4<sup>+</sup>T 细胞分泌趋化因子和细胞因子, 改变 CD8<sup>+</sup>T 细胞和 NK 细胞的细胞毒性, 调节髓细胞源性抑制细胞和 Treg 细胞的产生与扩增。由于 MSCs 具有可塑性, 因此, 根据暴露的肿瘤微环境不同, MSCs 可获得促进肿瘤或抗肿瘤表型, 从而促进或者抑制肿瘤生长。所以, 在临床研究方案中会将罹患恶性肿瘤或筛选过程中肿瘤检查呈阳性作为排除标准。但是, MSCs 表达多种趋化因子受体, 静脉注射后具有向肿瘤归巢的特性, 因此, 常用作递送载体, 将抗肿瘤物质递送至肿瘤细胞, 减弱肿瘤细胞的活性及侵袭能力。基于 MSCs 为载体的抗肿瘤研究主要包括以下 3 种情况:

### 1.2.1 间充质干细胞作为载体携带抗肿瘤因子

TNF 相关凋亡诱导配体 (TNF related apoptosis inducing ligand, TRAIL) 高表达或 IFN-β 高表达 MSCs 或对照 MSCs 来源的条件培养上清与人肺癌细胞 H460 共培养。结果发现, IFN-β 高表达 MSCs 条件培养上清诱导 H460 凋亡的作用强于 TRAIL 高表达 MSCs。在 H460 移植瘤模型, 对照 MSCs 促进肿瘤生长, 而两种细胞因子高表达 MSCs 均可以显著抑制肿瘤生长。其中, IFN-β 高表达 MSCs 效果最好, 仅在 20% 裸鼠观察到有肿瘤生长, 而且这些肿瘤的体积与重量均较其他组小 (低), 表明 IFN-β 高表达 MSCs 可以分泌更高水平的 TRAIL<sup>[38]</sup>。

### 1.2.2 间充质干细胞作为载体携带治疗药物

近年来发展起来的仿生策略是提高多种纳米药物治疗效果的最有效策略之一, 包裹有细胞膜的纳米颗粒可以伪装成“自我”, 逃避免疫系统的监视, 并主动积聚到肿瘤部位。利用 MSCs 包被负载有 Fe(III) 和吡啶青绿衍生物 cypate 的聚甲基丙烯酸 (poly-

methacrylic acid, PMAA) 纳米粒, 制备成 Cyp-PMAA-Fe@ MSCs。在体外和体内治疗肺癌时, 其具有高稳定性、理想的肿瘤部位聚积和高效的光热转换效率。荷瘤鼠静脉注射 Cyp-PMAA-Fe@ MSCs 或 Cyp-PMAA-Fe@ RBCs, 活体荧光成像显示, MSCs 组在肿瘤部位的荧光信号比红细胞组强 21%, 肿瘤部位磁共振成像 (magnetic resonance imaging, MRI) 信号降低了 30%, 表现出更强的光热热疗效应, 因此, 与放疗联合治疗时, 肿瘤体积比单独放疗组缩小了 32%<sup>[39]</sup>。

多项报道证实, 高表达 TRAIL 的 MSC (MSC-TRAIL) 具有抗肿瘤作用, 然而, 由于肿瘤干细胞 (cancer stem cells, CSCs) 的存在, 一些肿瘤对 TRAIL 具有耐药性。用一线化疗药, 如顺铂, 长春瑞滨, 5-氟尿嘧啶等预处理 MSC-TRAIL, 可产生化疗增敏效应, 增强 MSC-TRAIL 对非小细胞肺癌 (non-small cell lung cancer, NSCLCs) CSCs 的抑制作用。另外, 化疗增敏效应具有细胞类型特异性, 因此, 针对不同类型 NSCLC 需选择不同化疗药预处理<sup>[40]</sup>。

### 1.2.3 间充质干细胞作为载体负载溶瘤病毒

溶瘤病毒在肿瘤细胞中选择性复制, 利用自体或异体 MSCs 负载溶瘤病毒技术, 可以增强溶瘤病毒向肿瘤部位的递送能力, 克服宿主的免疫防御机制, 快速改变肿瘤微环境; 同时, 还可以克服肿瘤局部用药的局限性, 对远处转移肿瘤也具有很强的抗肿瘤疗效。西班牙 Children's University Hospital of Jesus 公司开发了 Celyvir, 即间充质干细胞携带溶瘤腺病毒 ICOVIR5, 治疗神经母细胞瘤的抗肿瘤疗效已得到证实。利用 C57BL/6 小鼠建立腺癌模型, 评价携带 ICOVIR-5 的小鼠 MSCs 的抗肿瘤效果。将接受治疗的小鼠脾细胞过继转移到新的荷瘤小鼠, 然后二次过继转移到第三组荷瘤小鼠。在负载 ICOVIR-5 的 MSCs 治疗组, 观察到抑制肿瘤生长和激活固有和适应性免疫系统的效果。此外, 通过免疫荧光观察到 Celyvir 治疗组中不同的免疫细胞浸润模式: 未经治疗组, 浸润性免疫细胞主要分布在肿瘤周边; Celyvir 治疗组, CD45<sup>+</sup> 浸润性免疫细胞主要分布在肿瘤核心部位。上述结果表明, Celyvir 可诱导机体免疫的系统性激活, 导致较高的白细胞肿瘤内浸润, 发挥抗肿瘤作用<sup>[41]</sup>。进一步, 使用同基因小鼠肺腺癌细胞系 CMT64 建立人类腺病毒半许可性肿瘤模型, 评价小鼠 Celyvir (mCelyvir) 向 CMT64 肿瘤的归巢能力。结果发现, mCelyvir 联合瘤内注射 ICOVIR5 比单独瘤内注射 ICOVIR5 更有效, 这与联合治疗组具有较高的 CD8<sup>+</sup> 和 CD4<sup>+</sup>T 细胞肿瘤浸润有关。表明利用

MSCs 作为溶瘤病毒的载体,不仅可以将病毒递送至肿瘤,还可以通过其招募 T 细胞的潜力,提高病毒疗法抗肿瘤的临床疗效<sup>[42]</sup>。临床前小鼠肿瘤模型及临床试验结果均提示,该疗法不仅安全耐受,还可以增强全身和肿瘤局部抗肿瘤活性。

## 2 间充质干细胞胞外囊泡

越来越多的研究表明,间充质干细胞发挥作用主要是通过其分泌的生物活性物质,而不是依赖于其细胞本身。值得注意的是,MSCs 来源的胞外囊泡 (MSC-derived extracellular vesicles, MSC-EVs) 不仅具有与 MSCs 相同的疗效,而且还由于装载有特定的 miRNA,在某些方面比亲代细胞 MSCs 更具有优势。MSC-EVs 不仅易于保存、转移和生产,而且给药也更安全,因此受到越来越多的关注,有多项临床试验正在进行中<sup>[43]</sup>。

### 2.1 胞外囊泡概述

胞外囊泡是来源于膜系统,由细胞分泌的双层脂质颗粒,携带有亲本细胞的生物活性物质,是将亲本细胞信号传递给受体细胞的重要生物信息介质。所有细胞均可分泌胞外囊泡,另外,胞外囊泡也存在于血液,滑膜液,尿液,唾液等体液中。细胞外成分,如蛋白质、脂质、核酸和小分子,以及表面蛋白质,可以通过不同的机制被包裹在胞外囊泡中,例如转运所需的内体分拣复合物 (endosomal sorting complex required for transport, ESCRT) 依赖与非依赖途径。根据颗粒大小,可以分为外泌体,微囊泡和凋亡小体。外泌体,直径 50~100 nm,通过 ESCRT 机制的内体途径产生,ESCRT 机制可协助腔内囊泡在与胞浆膜融合并被释放到胞外环境之前内陷在多泡体中。微囊泡,直径 150~1 000 nm,平均 250~400 nm,是通过质膜向外挤压产生的,质膜包裹着附近的蛋白质和核酸,包括该区域周围的胞浆表面蛋白质。细胞程序性死亡时产生凋亡泡,细胞自我解构,细胞外成分被随机包裹在大的凋亡泡中,成为直径 1~5  $\mu\text{m}$  的凋亡小体。凋亡小体可以被细胞吞噬,而微囊泡和外泌体可以通过各种机制被内化,例如通过脂筏形成、小窝或网格蛋白质坑,或通过受体介导的信号传导。间充质干细胞来源的胞外囊泡包含蛋白质,脂质,mRNA 和细胞因子等,囊泡可以将这些内容物释放入靶细胞,从而调节其生物学活性,诱导修复过程<sup>[44-45]</sup>。国际细胞外囊泡协会 (The International Society of Extracellular Vesicles, ISEV) 发布指南,描述了胞外囊泡的特征并确定了胞外囊泡的纯度。2018 版胞外囊泡研究最低要求 (Minimal Infor-

mation for Studies of EVs 2018, MISEV2018), 建议胞外囊泡研究者根据胞外囊泡的粒径大小,密度,来源组织/细胞或特定生化成分对胞外囊泡进行命名,除非研究者可以通过自己的实验证明其囊泡来源<sup>[45]</sup>。

### 2.2 间充质干细胞胞外囊泡在抗炎及组织修复中的应用

与 MSCs 相比,MSC-EVs 的优势在于免疫原性低,安全,稳定性高,易于制备、储存、运输及使用<sup>[46]</sup>。作为一种非细胞产品,MSC-EVs 的研究逐渐成为再生医学领域的热点。MSC-EVs 在调节免疫反应,抗氧化应激,组织修复等方面发挥着重要的作用。

2.2.1 间充质干细胞胞外囊泡在组织发育与功能维持中的作用 在不同的组织微环境中,特异的靶细胞摄取胞外囊泡,囊泡中活性物质释放,调节细胞功能,如细胞增殖,迁移和器官形态发生。如 BMSCs 来源的胞外囊泡所携带的特定 miRNA 可以调节成骨分化,从而促进成骨细胞活性和骨再生<sup>[47]</sup>。

2.2.2 间充质干细胞胞外囊泡在调节免疫反应中的作用 研究表明,MSC-EVs 可以通过递送生物活性物质,如 IL-2、IL-6、IL-10、TNF- $\alpha$ 、TGF- $\beta$  和 IFN- $\gamma$  等细胞因子,CCL-2、CCL-3 和 CCL-7 等趋化因子,从而发挥强大的免疫调节作用。同时,这些生物活性物质还可以与各种免疫细胞相互作用,包括 M $\Phi$ 、NK、T 细胞、B 细胞、Treg 和 DC 等<sup>[48-52]</sup>。

M $\Phi$  在牙周疾病发生发展过程中发挥着重要的免疫调节作用,参与炎症与破骨的启动与进展。MSC-EVs 可以通过促进牙周组织中 M1 型 M $\Phi$  向 M2 型 M $\Phi$  分化来抑制局部过度的炎症反应。将 DPSCs 来源的外泌体 (DPSC-Exos) 与负载壳聚糖水凝胶的外泌体分别注射到牙周炎模型鼠的牙周袋中,可以发现,无论是 DPSC-Exos 还是与负载壳聚糖水凝胶的外泌体均可以在一定程度上减轻牙槽骨缺损及牙周组织损伤,负载壳聚糖水凝胶的外泌体效果更好。进一步机制研究证实,DPSC-Exos 可以通过递送 miR-1246 诱导 M $\Phi$  向具有抗炎活性的 M2 型 M $\Phi$  极化,下调核因子- $\kappa\text{B}$  (nuclear factor- $\kappa\text{B}$ , NF- $\kappa\text{B}$ ) p65 及 p38 丝裂原活化蛋白质激酶 (Mitogen activated protein kinase, MAPK) 信号通路,从而减轻牙周炎症<sup>[53]</sup>。BMSCc 来源的外泌体 (bone marrow mesenchymal stem cell-derived exosomes, BMSC-Exos) 可以通过下调 NF- $\kappa\text{B}$  受体活化因子配基 (receptor activator of nuclear factor- $\kappa\text{B}$  ligand, RANKL)/破骨细胞抑制因子 (osteoclastogenesis inhibitory factor,

OPG)比例以及抗酒石酸酸性磷酸酶(tartrate-resistant acid phosphatase, TRAP)阳性细胞抑制牙周炎大鼠的破骨发生<sup>[54]</sup>。

MSC-Exos 对于细菌/病毒感染导致的肺炎具有保护作用,其机制在于可以促进 M2 型 M $\Phi$  极化,减少支气管肺泡灌洗液中 IL-1 $\beta$ , IL-6 和 TNF- $\alpha$  等炎症因子的表达,从而减轻过度的炎症反应<sup>[55]</sup>;通过减弱多药耐药相关蛋白质 1 的活性从而提高白三烯 B4 的产生,增强单核细胞吞噬作用及释放抗微生物活性物质发挥抑菌效果<sup>[56]</sup>。

**2.2.3 间充质干细胞胞外囊泡在抗氧化应激中的作用** MSC-EVs 可以通过调节核因子 E2 相关因子 2(nuclear factor E2-related factor 2, Nrf2)系统减少活性氧产生, DNA 损伤,异常钙信号以及线粒体改变,从而减轻氧化应激所诱导的皮肤损伤<sup>[57]</sup>;人 UC-MSCs 来源的外泌体(human umbilical cord MSC-derived exosome, hucMSC-Ex),可以通过递送谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase 1, GPX 1)发挥抗氧化应激和抗凋亡作用,促进肝脏氧化应激损伤的修复,挽救四氯化碳诱导的肝衰竭<sup>[58]</sup>。MSC-EVs 还可以通过抑制 NLR 家族吡喃结构域包含 3(NLR family pyrin domain containing 3, NLRP3)炎症小体的激活并递送线粒体蛋白质恢复受损髓核细胞的线粒体,达到减轻椎间盘退变的效果<sup>[59]</sup>。

**2.2.4 间充质干细胞胞外囊泡在促进再生中的作用** 最早报道 MSC-EVs 促进再生效果的是 Lai RC 团队,他们通过小鼠心肌缺血/再灌注损伤模型,证实了 MSC-EVs 的心肌保护作用<sup>[60]</sup>。进一步研究发现, MSCs 来源的 EVs 可以通过 miRNA-22 靶向 Mecp2 基因,减少心肌缺血面积,发挥保护作用<sup>[61]</sup>。MSC-EVs 可以通过血脑屏障,因此是治疗退行性脑疾病的理想选择。研究表明, MSC-EVs 用于治疗脑卒中,可以促进卒中后神经再生,预防缺血后免疫抑制<sup>[62]</sup>;促进卒中后神经功能恢复和神经血管的可塑性<sup>[63]</sup>。除此之外, MSC-EVs 还可以促进软骨再生与骨关节炎修复<sup>[64]</sup>,促进肝纤维化及急性肝损伤肝脏的再生<sup>[65]</sup>等。

**2.2.5 间充质干细胞胞外囊泡对肿瘤的作用** MSC-EVs 对于肿瘤来讲是一把双刃剑,有研究认为, MSC-EVs 在肿瘤窝中作为介质,促进肿瘤发生,血管生成及肿瘤转移;但也有研究报道, MSC-EVs 可以通过抑制肿瘤细胞周期,诱导其凋亡,下调 VEGF 抑制血管生成,而发挥抑制肿瘤的作用<sup>[66]</sup>。

不同 MSCs 来源的胞外囊泡,其分泌谱不同,修复作用也不同,因此,要根据适应症选择更为合适的

MSC-EVs。如牙齿来源的间充质干细胞,因起源于外胚层的神经嵴,因此分泌或表达巢蛋白质、 $\beta$ -3 微管蛋白、神经营养素受体和神经丝等蛋白质,具有更强的神经保护和神经再生潜能。

### 2.3 胞外囊泡作为递送载体

胞外囊泡是由细胞分泌的天然载体,具有较好的生物相容性,较低免疫原性和更强靶向特异性。胞外囊泡还具有较深的组织渗透性和较长的循环半衰期的优势。胞外囊泡膜表面的鞘磷脂,信号转导分子和黏附分子等物质,有助于他们轻易跨越生物屏障,如血脑屏障和血气屏障等。越来越多的研究着眼于胞外囊泡作为靶向递送载体,向受体细胞递送小化合物,蛋白质,小干扰 RNA 等。MSC-EVs 可能比亲代 MSCs 或其分泌组更有效,这一发现推动了胞外囊泡的广泛应用。一些公司已经生产了旨在简化现有疗法,或者利用基因手段生产具有特定组织和细胞类型靶向性的的外泌体。胞外囊泡的载药方式大致分为 2 种:一种是被动载药,只需要通过疏水相互作用简单地将 EVs 与所需药物或可以自发分泌所需药物的细胞孵育即可,这种方法装载药物的效率低;另一种是主动载药,主要是通过一些物理、化学和遗传/生物工程,以修饰/插入 EVs 的内容物或表面蛋白质,使得工程化 EVs 可以携带更高水平的特定内容物或细胞靶向配体,从而增强治疗效果,还可以插入成像分子进行长期跟踪<sup>[67]</sup>。目前, MSC-EVs 作为递送载体主要应用在抗肿瘤与组织修复等方面。

**2.3.1 胞外囊泡作为递送载体在治疗肿瘤中的作用** MSC-EVs 和 MSCs 一样,具有很强的肿瘤靶向能力。同时,低免疫原性使得他们可以避免激活机体免疫反应,进而被机体免疫系统清除;由于体积较小, MSC-EVs 对实体肿瘤的渗透性和在肿瘤组织中停留能力较强;另外, MSC-EVs 的脂质双层膜结构可以保护其内容物不受肿瘤微环境的影响,不被细胞吞噬溶酶体途径所杀伤。这些特性使得 MSC-EVs 成为肿瘤治疗理想的药物载体<sup>[68]</sup>。未经修饰的 MSC-EVs 可促进或者抑制肿瘤,而经修饰的 MSC-EVs 可以通过递送包括化疗药, miRNAs, anti-miRNAs, 特异性 siRNAs 和自杀基因 mRNAs 等治疗分子,发挥抑制肿瘤发生与进展的作用<sup>[46]</sup>。

在 MDA-MB-231 乳腺癌动物模型中证实,携带紫杉醇的 MSC-EVs 可以抑制肿瘤生长。体外实验也证实,其可以抑制乳腺癌细胞系的生长<sup>[69]</sup>。携带自杀基因胸腺激酶的 MSC-EVs 能够促进更昔洛韦对神经胶质细胞瘤细胞系与原代细胞的杀伤作

用<sup>[70]</sup>。携带干扰基因 siGRP78 的 BMMSC-EVs 可以改变肝癌细胞对索拉菲尼的敏感性<sup>[71]</sup>。Zhou 等用半乳糖凝集素-9 siRNA 对 BMMSC-EVs 进行表面修饰,发现修饰后的 EVs 对胰腺癌的靶向效率及肿瘤抑制效果显著提高<sup>[72]</sup>。

恢复肿瘤细胞 miRNA 的调节体系是肿瘤治疗的一种新策略。O'Brien 等的研究提示,抑癌基因 miR-379 高表达的 MSC-EVs 可以通过调节 COX-2 抑制乳腺癌移植小鼠的肿瘤生长<sup>[73]</sup>。

2.3.2 胞外囊泡作为递送载体在促进组织修复中的作用 利用 MSCs-EVs 携带可以促进组织细胞增殖、迁移、分化,抑制细胞凋亡、氧化应激等的基因或 miRNAs,可以增强 MSCs-EVs 的组织修复功能。

miR-140-5P 高表达的 MSCs 外泌体可以促进软骨细胞增殖及迁移<sup>[74]</sup>;高表达 KLF3-AS1 的 MSC-EVs 可以通过上调软骨细胞 II 型胶原 Col2A1 和蛋白质聚糖的表达,下调基质金属蛋白酶-13(matrix metalloproteinase-13, MMP-13) 和 Runt 相关转录因子 2(Runt related transcription factor 2, RUNX2) 的表达,促进软骨细胞增殖,抑制其凋亡<sup>[75]</sup>;上述作用可以增强软骨组织再生,减轻骨关节炎病变。

利用缺氧预处理的脐静脉内皮细胞(umbilical vein endothelial cells, HUVEC)模型研究发现,低氧诱导因子 1 $\alpha$ (hypoxia inducible factor-1 $\alpha$ , HIF-1 $\alpha$ )过表达的 MSCs 来源外泌体可以改善受损 HUVEC 细胞的血管生成、迁移和增殖能力;建立大鼠心肌梗死模型,发现 HIF-1 $\alpha$  过表达 MSCs 来源的外泌体可以通过上调促血管生长因子和促进血管新生发挥心脏保护作用<sup>[76]</sup>。

### 3 问题与展望

以干细胞为基础的再生医学已经成为疑难疾病的一种崭新的治疗模式,对疾病的治疗理念、治疗手段和康复策略产生了重大影响。尽管目前的实验及临床研究已经证实 MSCs 对多种疾病的治疗作用,同时对于 MSCs 的作用机制也有初步探索,但这些研究仅停留在机制的某一方面,全景机制尚未阐明。研究损伤组织细胞的异质性及亚群分布变化,组织器官内浸润的免疫细胞的复杂性,以及 MSCs 归巢后与周围细胞之间的分子网络和相互作用,有助于解析组织损伤与修复的细胞与分子机制,发现损伤评估敏感生物标志物和治疗新靶点,从而更深入地揭示 MSCs 发挥作用的复杂机制。另外,如何进一步提高 MSCs 的疗效,实现 MSCs 的精准治疗,也是值得关注的问题。

作为天然来源的信号分子载体,胞外囊泡因具有纳米级大小、可透过生物屏障、免疫原性低、细胞毒性低、储存方便等优点,其临床应用正在兴起。MSCs-EVs,具有与 MSCs 类似的免疫调节及修复受损组织的能力。因此,在再生医学领域受到越来越多的关注。对于其表达谱、生物合成、释放、摄取等的深入研究,将明确 MSCs-EVs 的组成成分,并阐明其分泌调控靶点及机制,为选择特异的胞外囊泡亚群、提高胞外囊泡产率提供理论基础。目前,包装到 MSCs-EVs 的货物通常为较小的蛋白质和较短的 RNA,而将大型蛋白质货物包装到 EV 中仍具有挑战性,需要进一步改造。另外,为获得 MSCs 胞外囊泡的最佳治疗效果,需进一步研究其最佳的细胞来源,最佳给药途径与给药间隔和给药剂量,以及其发挥生物学功能的机制。MSCs-EVs 在应用于临床之前,还需要解决其稳定的生产工艺,规模化制备技术,标准化的质量控制体系等。在完成规范化、规模化外泌体制备及其标准化临床试验之后,才可以应用于临床实践。

### 参考文献(References)

- [1] Friedenstein AJ. Precursor cells of mechanocytes[J]. *Int Rev Cytol*, 1976, **47**: 327-359
- [2] Owen M. Marrow stromal stem cells[J]. *J Cell Sci Suppl*, 1988, **10**: 63-76
- [3] Owen M, Friedenstein AJ. Stromal stem cells: marrow-derived osteogenic precursors[J]. *Ciba Found Symp*, 1988, **136**: 42-60
- [4] Caplan AI. Mesenchymal stem cells[J]. *J Orthop Res*, 1991, **9**(5): 641-650
- [5] Dominici M, Le Blanc K, Mueller I, et al. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement[J]. *Cytotherapy*, 2006, **8**(4): 315-317
- [6] Caplan AI. Mesenchymal stem cells: time to change the name! [J]. *Stem Cells Transl Med* 2017, **6**(6): 1445-1451
- [7] Wang Y, Qi Z, Yan Z, et al. Mesenchymal stem cell immunomodulation: a novel intervention mechanism in cardiovascular disease[J]. *Front Cell Dev Biol*, 2022, **9**: 742088
- [8] Wang S, Zhu R, Li H, et al. Mesenchymal stem cells and immune disorders: from basic science to clinical transition [J]. *Front Med*, 2019, **13**(2): 138-151
- [9] Lopatina T, Kalinina N, Karagyaur M, et al. Correction: adipose-derived stem cells stimulate regeneration of peripheral nerves; BDNF Secreted by These Cells Promotes Nerve Healing and Axon Growth De Novo [J]. *PLoS One*, 2019, **14**(7): e0219946
- [10] Lee Y, El Andaloussi S, Wood MJ. Exosomes and microvesicles: extracellular vesicles for genetic information transfer and gene therapy[J]. *Hum Mol Genet*, 2012, **21**(R1): R125-R134
- [11] Wang YC, Ma HD, Yin XY, et al. Forkhead box o1 regulates macrophage polarization following staphylococcus aureus infection: experimental murine data and review of the literature[J]. *Clin Rev Allergy Immunol*, 2016, **51**(3): 353-369
- [12] Feng Y, Xu Q, Yang Y, et al. The therapeutic effects of bone marrow-derived mesenchymal stromal cells in the acute lung injury induced by sulfur mustard[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2019, **10**(1): 90
- [13] Giri J, Das R, Nylén E, et al. CCL2 and CXCL12 derived from

- mesenchymal stromal cells cooperatively polarize IL-10 + tissue macrophages to mitigate gut injury[J]. *Cell Rep*, 2020, **30**(6): 1923-1934. e4
- [14] Jo H, Eom YW, Kim HS, *et al.* Regulatory dendritic cells induced by mesenchymal stem cells ameliorate dextran sodium sulfate-induced chronic colitis in mice[J]. *Gut Liver*, 2018, **12**(6): 664-673
- [15] Goodwin M, Sueblinvong V, Eisenhauer P, *et al.* Bone marrow-derived mesenchymal stromal cells inhibit Th2-mediated allergic airways inflammation in mice[J]. *Stem Cells*, 2011, **29**(7): 1137-1148
- [16] Chen X, Cai C, Xu D, *et al.* Human mesenchymal stem cell-treated regulatory CD23<sup>+</sup>CD43<sup>+</sup> B cells alleviate intestinal inflammation[J]. *Theranostics*, 2019, **9**(16): 4633-4647
- [17] Mekhloufi A, Kosta A, Stabile H, *et al.* Bone marrow stromal cell-derived IL-8 upregulates PVR expression on multiple myeloma cells via NF- $\kappa$ B transcription factor[J]. *Cancers (Basel)*, 2020, **12**(2): 440
- [18] Lotfy A, Elgamal A, Burdzinska A, *et al.* Stem cell therapies for autoimmune hepatitis [J]. *Stem Cell Res Ther*, 2021, **12**(1): 386
- [19] Chen Y, Chen S, Liu LY, *et al.* Mesenchymal stem cells ameliorate experimental autoimmune hepatitis by activation of the programmed death 1 pathway[J]. *Immunol Lett*, 2014, **162**(2 Pt B): 222-228
- [20] Yuan X, Qin X, Wang D, *et al.* Mesenchymal stem cell therapy induces FLT3L and CD1c<sup>+</sup> dendritic cells in systemic lupus erythematosus patients[J]. *Nat Commun*, 2019, **10**(1): 2498
- [21] Dong X, Kong F, Liu C, *et al.* Pulp stem cells with hepatocyte growth factor overexpression exhibit dual effects in rheumatoid arthritis[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2020, **11**(1): 229
- [22] Jia Y, Cao N, Zhai J, *et al.* HGF mediates clinical-grade human umbilical cord-derived mesenchymal stem cells improved functional recovery in a senescence-accelerated mouse model of Alzheimer's disease[J]. *Adv Sci (Weinh)*, 2020, **7**(17): 1903809
- [23] Tseng N, Lambie SC, Huynh CQ, *et al.* Mitochondrial transfer from mesenchymal stem cells improves neuronal metabolism after oxidant injury in vitro: the role of Miro1[J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2021, **41**(4): 761-770
- [24] Liao LL, Looi QH, Chia WC, *et al.* Treatment of spinal cord injury with mesenchymal stem cells [J]. *Cell Biosci*, 2020, **10**: 112
- [25] Moisan A, Favre I, Rome C, *et al.* Intravenous injection of clinical grade human MSCs after experimental stroke: functional benefit and microvascular effect [J]. *Cell Transplant*, 2016, **25**(12): 2157-2171
- [26] Kanelidis AJ, Premer C, Lopez J, *et al.* Route of delivery modulates the efficacy of mesenchymal stem cell therapy for myocardial infarction: a meta-analysis of preclinical studies and clinical trials [J]. *Circ Res*, 2017, **120**(7): 1139-1150
- [27] Karantalis V, DiFede DL, Gerstenblith G, *et al.* Autologous mesenchymal stem cells produce concordant improvements in regional function, tissue perfusion, and fibrotic burden when administered to patients undergoing coronary artery bypass grafting: the prospective randomized study of mesenchymal stem cell therapy in patients undergoing cardiac surgery (PROMETHEUS) trial [J]. *Circ Res*, 2014, **114**(8): 1302-1310
- [28] Müller P, Lemcke H, David R. Stem cell therapy in heart diseases-cell types, mechanisms and improvement strategies[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2018, **48**(6): 2607-2655
- [29] Shi L, Wang L, Xu R, *et al.* Mesenchymal stem cell therapy for severe CoVID-19 [J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2021, **6**(1): 339
- [30] Leng Z, Zhu R, Hou W, *et al.* Transplantation of ACE2- mesenchymal stem cells improves the outcome of patients with CoVID-19 pneumonia[J]. *Aging Dis*, 2020, **11**(2): 216-228
- [31] Tang L, Jiang Y, Zhu M, *et al.* Clinical study using mesenchymal stem cells for the treatment of patients with severe CoVID-19 [J]. *Front Med*, 2020, **14**(5): 664-673
- [32] Meng F, Xu R, Wang S, *et al.* Human umbilical cord-derived mesenchymal stem cell therapy in patients with CoVID-19: a phase 1 clinical trial[J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2020, **5**(1): 172
- [33] Shi L, Huang H, Lu X, *et al.* Effect of human umbilical cord-derived mesenchymal stem cells on lung damage in severe CoVID-19 patients: a randomized, double-blind, placebo-controlled phase 2 trial [J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2021, **6**(1): 58
- [34] Lanzoni G, Linetsky E, Correa D, *et al.* Umbilical cord mesenchymal stem cells for CoVID-19 acute respiratory distress syndrome: a double-blind, phase 1/2a, randomized controlled trial [J]. *Stem Cells Transl Med*, 2021, **10**(5): 660-673
- [35] Chen Z, Kuang Q, Lao XJ, *et al.* Differentiation of UC-MSCs into hepatocyte-like cells in partially hepatectomized model rats [J]. *Exp Ther Med*, 2016, **12**(3): 1775-1779
- [36] Chen B, Wang YH, Qian JQ, *et al.* Human mesenchymal stem cells for hepatitis B virus-related acute-on-chronic liver failure: a systematic review with meta-analysis [J]. *Eur J Gastroenterol Hepatol*, 2018, **30**(10): 1224-1229
- [37] Zhang Z, Fu J, Xu X, *et al.* Safety and immunological responses to human mesenchymal stem cell therapy in difficult-to-treat HIV-1-infected patients[J]. *AIDS*, 2013, **27**(8): 1283-1293
- [38] Un Choi Y, Yoon Y, Jung PY, *et al.* TRAIL-overexpressing adipose tissue-derived mesenchymal stem cells efficiently inhibit tumor growth in an H460 xenograft model[J]. *Cancer Genomics Proteomics*, 2021, **18**(4): 569-578
- [39] Yin Y, Li Y, Wang S, *et al.* MSCs-engineered biomimetic PMAA nanomedicines for multiple bioimaging-guided and photothermal-enhanced radiotherapy of NSCLC[J]. *J Nanobiotechnology*, 2021, **19**(1): 80
- [40] Fakiruddin KS, Lim MN, Nordin N, *et al.* Chemo-sensitization of CD133+ cancer stem cell enhances the effect of mesenchymal stem cell expressing trail in non-small cell lung cancer cell lines [J]. *Biology (Basel)*, 2021, **10**(11): 1103
- [41] Morales-Molina Á, Gambera S, Cejalvo T, *et al.* Antitumor virotherapy using syngeneic or allogeneic mesenchymal stem cell carriers induce systemic immune response and intratumoral leukocyte infiltration in mice[J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2018, **67**(10): 1589-1602
- [42] Rincón E, Cejalvo T, Kanojia D, *et al.* Mesenchymal stem cell carriers enhance antitumor efficacy of oncolytic adenoviruses in an immunocompetent mouse model[J]. *Oncotarget*, 2017, **8**(28): 45415-45431
- [43] Eleuteri S, Fierabracci A. Insights into the secretome of mesenchymal stem cells and its potential applications [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, **20**(18): 4597
- [44] Gugliandolo A, Mazzon E. Dental mesenchymal stem cell secretome: an intriguing approach for neuroprotection and neuroregeneration[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, **23**(1): 456
- [45] Cheng L, Hill AF. Therapeutically harnessing extracellular vesicles[J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2022, **21**(5): 379-399
- [46] Sohrabi B, Dayeri B, Zahedi E, *et al.* Mesenchymal stem cell (MSC)-derived exosomes as novel vehicles for delivery of miRNAs in cancer therapy[J]. *Cancer Gene Ther*, 2022, **29**(8-9): 1105-1116
- [47] Qin Y, Wang L, Gao Z, *et al.* Bone marrow stromal/stem cell-derived extracellular vesicles regulate osteoblast activity and differentiation in vitro and promote bone regeneration in vivo [J]. *Sci Rep*, 2016, **6**: 21961
- [48] Shen M, Chen T. Mesenchymal stem cell-derived exosomes and their potential agents in hematological diseases [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2021, **2021**: 4539453
- [49] Batsali AK, Georgopoulou A, Mavroudi I, *et al.* The role of bone marrow mesenchymal stem cell derived extracellular vesicles (MSC-EVs) in normal and abnormal hematopoiesis and their therapeutic potential[J]. *J Clin Med*, 2020, **9**(3): 856
- [50] Harrell CR, Fellabaum C, Jovicic N, *et al.* Molecular mechanisms responsible for therapeutic potential of mesenchymal stem

- cell-derived secretome[J]. *Cells*, 2019, **8**(5): 467
- [51] Harrell CR, Jovicic N, Djonov V, *et al.* Mesenchymal stem cell-derived exosomes and other extracellular vesicles as new remedies in the therapy of inflammatory diseases [J]. *Cells*, 2019, **8**(12): 1605
- [52] Qin H, Zhao A. Mesenchymal stem cell therapy for acute respiratory distress syndrome; from basic to clinics[J]. *Protein Cell*, 2020, **11**(10): 707-722
- [53] Shen Z, Kuang S, Zhang Y, *et al.* Chitosan hydrogel incorporated with dental pulp stem cell-derived exosomes alleviates periodontitis in mice via a macrophage-dependent mechanism [J]. *Bioact Mater*, 2020, **5**(4): 1113-1126
- [54] Liu L, Guo S, Shi W, *et al.* Bone marrow mesenchymal stem cell-derived small extracellular vesicles promote periodontal regeneration[J]. *Tissue Eng Part A*, 2021, **27**(13-14): 962-976
- [55] Wang J, Huang R, Xu Q, *et al.* Mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles alleviate acute lung injury via transfer of miR-27a-3p[J]. *Crit Care Med*, 2020, **48**(7): e599-e610
- [56] Park J, Kim S, Lim H, *et al.* Therapeutic effects of human mesenchymal stem cell microvesicles in an ex vivo perfused human lung injured with severe *E. coli* pneumonia[J]. *Thorax*, 2019, **74**(1): 43-50
- [57] Wang T, Jian Z, Baskys A, *et al.* MSC-derived exosomes protect against oxidative stress-induced skin injury via adaptive regulation of the NRF2 defense system [J]. *Biomaterials*, 2020, **257**: 120264
- [58] Yan Y, Jiang W, Tan Y, *et al.* hucMSC exosome-derived GPX1 is required for the recovery of hepatic oxidant injury[J]. *Mol Ther*, 2017, **25**(2): 465-479
- [59] Xia C, Zeng Z, Fang B, *et al.* Mesenchymal stem cell-derived exosomes ameliorate intervertebral disc degeneration via anti-oxidant and anti-inflammatory effects[J]. *Free Radic Biol Med*, 2019, **143**: 1-15
- [60] Lai RC, Arslan F, Lee MM, *et al.* Exosome secreted by MSC reduces myocardial ischemia/reperfusion injury [J]. *Stem Cell Res*, 2010, **4**(3): 214-222
- [61] Feng Y, Huang W, Wani M, *et al.* Ischemic preconditioning potentiates the protective effect of stem cells through secretion of exosomes by targeting Mecp2 via miR-22[J]. *PLoS One*, 2014, **9**(2): e88685
- [62] Doepfner TR, Herz J, Görgens A, *et al.* Extracellular vesicles improve post-stroke neuroregeneration and prevent postischemic immunosuppression[J]. *Stem Cells Transl Med*, 2015, **4**(10): 1131-1143
- [63] Xin H, Li Y, Cui Y, *et al.* Systemic administration of exosomes released from mesenchymal stromal cells promote functional recovery and neurovascular plasticity after stroke in rats [J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2013, **33**(11): 1711-1715
- [64] 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
- [65] Lou G, Chen Z, Zheng M, *et al.* Mesenchymal stem cell-derived exosomes as a new therapeutic strategy for liver diseases[J]. *Exp Mol Med*, 2017, **49**(6): e346
- [66] Lee JK, Park SR, Jung BK, *et al.* Exosomes derived from mesenchymal stem cells suppress angiogenesis by down-regulating VEGF expression in breast cancer cells[J]. *PLoS One*, 2013, **8**(12): e84256
- [67] Rao D, Huang D, Sang C, *et al.* Advances in mesenchymal stem cell-derived exosomes as drug delivery vehicles[J]. *Front Bioeng Biotechnol*, 2022, **9**: 797359
- [68] Zhang F, Guo J, Zhang Z, *et al.* Mesenchymal stem cell-derived exosome: A tumor regulator and carrier for targeted tumor therapy [J]. *Cancer Lett*, 2022, **526**: 29-40
- [69] Kalimuthu S, Gangadaran P, Rajendran RL, *et al.* A new approach for loading anticancer drugs into mesenchymal stem cell-derived exosome mimetics for cancer therapy[J]. *Front Pharmacol*, 2018, **9**: 1116
- [70] Pastorakova A, Jakubecova J, Altanerova U, *et al.* Suicide gene therapy mediated with exosomes produced by mesenchymal stem/stromal cells stably transduced with HSV thymidine kinase [J]. *Cancers (Basel)*, 2020, **12**(5): 1096
- [71] Li H, Yang C, Shi Y, *et al.* Exosomes derived from siRNA against GRP78 modified bone-marrow-derived mesenchymal stem cells suppress Sorafenib resistance in hepatocellular carcinoma [J]. *J Nanobiotechnology*, 2018, **16**(1): 103
- [72] Zhou W, Zhou Y, Chen X, *et al.* Pancreatic cancer-targeting exosomes for enhancing immunotherapy and reprogramming tumor microenvironment[J]. *Biomaterials*, 2021, **268**: 120546
- [73] O'Brien KP, Khan S, Gilligan KE, *et al.* Employing mesenchymal stem cells to support tumor-targeted delivery of extracellular vesicle (EV)-encapsulated microRNA-379 [J]. *Oncogene*, 2018, **37**(16): 2137-2149
- [74] Tao SC, Yuan T, Zhang YL, *et al.* Exosomes derived from miR-140-5p-overexpressing human synovial mesenchymal stem cells enhance cartilage tissue regeneration and prevent osteoarthritis of the knee in a rat model [J]. *Theranostics*, 2017, **7**(1): 180-195
- [75] Liu Y, Lin L, Zou R, *et al.* MSC-derived exosomes promote proliferation and inhibit apoptosis of chondrocytes via lncRNA-KLF3-AS1/miR-206/GIT1 axis in osteoarthritis[J]. *Cell Cycle*, 2018, **17**(21-22): 2411-2422
- [76] Sun J, Shen H, Shao L, *et al.* HIF-1 $\alpha$  overexpression in mesenchymal stem cell-derived exosomes mediates cardioprotection in myocardial infarction by enhanced angiogenesis [J]. *Stem Cell Res Ther*, 2020, **11**(1): 373



## 作者简介

**王华** 军事医学研究院副研究员, 研究生导师。中国医药生物技术协会科研实验室建设与管理分会、再生医学分会及生物制药技术分会常务委员。主要从事干细胞及基因治疗的基础与应用基础研究。围绕干细胞及基因治疗, 先后承担国家、军队重点科研课题等 13 项。曾获中华人民共和国教育部科技进步二等奖、甘肃省科技进步一等奖、中华医学科技奖二等奖各 1 项。以第一或通讯作者在 *Nano Today*, *J Nanobiotechnology*, *Mol Ther-Oncolytics* 和 *Stem Cell Rev Rep* 等杂志发表 SCI 论文 34 篇, 参编专著 4 部, 获国家发明专利 9 项。