

biota and interactions with intestinal bacteria[J]. Curr Top Microbiol Immunol, 2019,422:265 – 301.

[29] Peleg AY, Hogan DA, Mylonakis E. Medically important bacterial-fungal interactions[J]. Nat Rev Microbiol, 2010,8(5):340 – 349.

[30] Cabral DJ, Penumatchu S, Norris C, et al. Microbial competition between Escherichia coli and Candida albicans reveals a soluble fungicidal factor[J]. Microb Cell, 2018,5(5):249 – 255.

[31] Chen C, Pande K, French SD, et al. An iron homeostasis regulatory circuit with reciprocal roles in Candida albicans commensalism and pathogenesis[J]. Cell Host Microbe, 2011,10(2):118 – 135.

[32] Marshall JC. The gut as a potential trigger of exercise-induced inflammatory responses[J]. Can J Physiol Pharmacol, 1998,76(5):479 – 484.

[33] Albillos A, de Gottardi A, Rescigno M. The gut-liver axis in liver disease: pathophysiological basis for therapy[J]. J Hepatol, 2020,72(3):558 – 577.

[34] You N, Xu J, Wang L, et al. Fecal fungi dysbiosis in nonalcoholic fatty liver disease[J]. Obesity(Silver Spring), 2021,29(2):350 – 358.

[35] Yang AM, Inamine T, Hochrath K, et al. Intestinal fungi contribute to development of alcoholic liver disease[J]. J Clin Invest, 2017,127(7):2829 – 2841.

[36] Casadevall A. Immunity to invasive fungal diseases[J]. Annu Rev Immunol, 2022,40:121 – 141.

[37] Zeng S, Schnabl B. Roles for the mycobiome in liver disease[J]. Liver Int, 2022,42(4):729 – 741.

[38] Scheffold A, Bacher P, LeibundGut-Landmann S. T cell immunity to commensal fungi[J]. Curr Opin Microbiol, 2020,58:116 – 123.

[39] Hammerich L, Heymann F, Tacke F. Role of IL-17 and Th17 cells

in liver diseases[J]. Clin Dev Immunol, 2011,2011:345803.

[40] Fernández J, Piano S, Bartoletti M, et al. Management of bacterial and fungal infections in cirrhosis: the MDRO challenge[J]. J Hepatol, 2021,75(Suppl 1):S101 – S117.

[41] Yang AM, Inamine T, Hochrath K, et al. Intestinal fungi contribute to development of alcoholic liver disease[J]. J Clin Invest, 2017,127(7):2829 – 2841.

[42] Everard A, Matamoros S, Geurts L, et al. Saccharomyces boulardii administration changes gut microbiota and reduces hepatic steatosis, low-grade inflammation, and fat mass in obese and type 2 diabetic db/db mice[J]. mBio, 2014,5(3):e01011 – e010114.

[43] Zhu L, Baker SS, Gill C, et al. Characterization of gut microbiomes in nonalcoholic steatohepatitis(NASH) patients: a connection between endogenous alcohol and NASH[J]. Hepatology, 2013,57(2):601 – 609.

[44] Li M, Zhu L, Xie A, et al. Oral administration of Saccharomyces boulardii ameliorates carbon tetrachloride-induced liver fibrosis in rats via reducing intestinal permeability and modulating gut microbial composition[J]. Inflammation, 2015,38(1):170 – 179.

[45] Muramatsu D, Okabe M, Takaoka A, et al. Aureobasidium pullulans produced β -glucan is effective to enhance Kurosengoku soybean extract induced thrombospondin-1 expression[J]. Sci Rep, 2017,7(1):2831.

[收稿日期 2022-02-24][本文编辑 韦颖]

本文引用格式
谢娇娇,王莉,何燕芳,等.代谢相关脂肪性肝病的发病机制及其与肠道真菌群关系的研究进展[J].中国临床新医学,2022,15(8):765 – 769.

新进展综述

间充质干细胞外泌体作用及机制的研究进展

余静(综述), 许力(审校)

基金项目:安徽省高校自然科学研究重点项目(编号:KJ2019A1105)

作者单位:232001 淮南,安徽理工大学医学院(余静);230041 合肥,安徽省第二人民医院血液科(许力)
作者简介:余静,在读硕士研究生,研究方向:血液学检验。E-mail:563552549@qq.com
通信作者:许力,医学博士,主任医师,硕士研究生导师,研究方向:造血干细胞移植。E-mail:xuli943119@163.com

【摘要】 间充质干细胞(MSCs)具有多向分化和旁分泌生物活性因子的功能,从而在免疫调节、抗炎、血管生成和抗凋亡等方面发挥作用,广泛应用于临床的细胞治疗中。MSCs 来源的外泌体既可携带 MSCs 的遗传信息,又比 MSCs 更易于储存和维持 MSCs 的功能,有利于多种组织损伤后的修复与再生。该文就 MSCs 及其外泌体生物学特性及功能、MSCs 外泌体在不同疾病中的作用及机制作一综述。

【关键词】 间充质干细胞; 外泌体; 机制

【中图分类号】 R 329.2 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1674 – 3806(2022)08 – 0769 – 04
doi:10.3969/j.issn.1674 – 3806.2022.08.22

Research progress on the roles of the exosomes of mesenchymal stem cells and their mechanisms YU Jing, XU*Li. School of Medicine, Anhui University of Science and Technology, Huainan 232001, China*

[Abstract] Mesenchymal stem cells(MSCs) have the function of multi-directional differentiation and paracrine bioactive factors. Therefore, they play important roles in immune regulation, anti-inflammation, angiogenesis and anti-apoptosis, and have been widely used in clinical cell therapy. MSCs-derived exosomes can not only carry the genetic information of MSCs, but also store and maintain the function of MSCs more easily than MSCs, which is beneficial to the repair and regeneration of various tissues after injury. In this paper, the biological characteristics and function of MSCs and their exosomes, and the roles of the exosomes of MSCs in different diseases and their mechanisms are reviewed.

[Key words] Mesenchymal stem cells(MSCs); Exosome; Mechanism

间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)作为一种多能干细胞,具有多向分化为多种组织细胞的潜能,从而在组织修复、提高造血干细胞植入能力、免疫调节等方面发挥作用^[1-3]。Keshtkar 等^[4]研究表明 MSCs 主要是通过产生细胞外囊泡(extracellular vesicles, EVs)或旁分泌生物活性因子发挥治疗作用,而不是依赖其多向分化的能力。外泌体是 EVs 的一种,既有母细胞的特异性表面标记,又可携带母细胞的遗传信息,在细胞间进行信息的传递和交流,从而发挥相应的生物学效应。MSCs 外泌体是 MSCs 分泌到细胞外的一种纳米级膜性囊泡,含有大量的生物信息传播介质,并且可以选择性地将含有的蛋白质、RNA 等递送至受体细胞,调节细胞间的信号转导^[5]。因此,本文就 MSCs 及其外泌体生物学特性及功能、MSCs 外泌体在不同疾病中的作用机制进行综述,讨论 MSCs 外泌体作为一种替代细胞治疗的应用前景。

1 MSCs 生物学特性及功能

随着细胞治疗的发展, MSCs 的再生潜能被应用于各种疾病治疗中。目前 MSCs 的具体作用机制仍未完全清楚,但主要从以下几个方面发挥作用:(1)旁分泌作用:通过分泌多种生长因子和细胞因子,抑制细胞凋亡,促进细胞增殖和损伤细胞的再生。(2)免疫调节作用:通过与免疫细胞相互作用,抑制机体过度免疫反应,诱导免疫耐受,并可通过促进调节性 T 细胞的产生和扩增,抑制自身反应性效应 T 细胞的应答。(3)黏附和迁移作用:在组织损伤或炎症反应的信号刺激下, MSCs 可迁移和归巢至受损组织部位,发挥相应的组织修复能力^[6]。目前, MSCs 已经应用于血液系统疾病、结缔组织病、心血管系统疾病和脑血管系统疾病的治疗,另外 MSCs 在治疗神经损伤、心肌梗死损伤等也有一定的作用,取得了较好的治疗效果^[7]。尽管如此, MSCs 疗法仍然有一定的局限性。MSCs 供体异质性、体外扩增和长期保存等问题限制了 MSCs 疗法的临床应用。在标准化的 MSCs 分离、培养、扩增和治疗程序之前,需要精确评估 MSCs 细胞群体中

干细胞所占的比例^[8]。MSCs 增殖能力有限,会发生衰老导致干性丢失,并释放组织因子影响非衰老细胞的活性。而且随着干细胞研究的深入,发现 MSCs 进入体内之后,免疫抑制与免疫调节的不可控性、潜在的致癌性、非治疗目的分化以及异常堆积等,都极大地限制其在临床的应用及影响患者的预后。因此,寻找一种既能够替代 MSCs,又具有上述 MSCs 活性的物质尤其重要。

2 MSCs 外泌体生物学特性及功能

EVs 是各种细胞分泌至胞外的膜结合小泡,根据大小和形态的不同, EVs 分为外泌体(直径 40 ~ 100 nm)、细胞微泡(直径 100 ~ 1 000 nm)和凋亡小体(直径 100 ~ 5 000 nm)。外泌体可以运输和传递信号,调节各种生物学过程,是细胞间信息交流的重要媒介^[8]。随着机体生理状态或病理生理的改变,外泌体的分泌及外泌体包裹的内容物也随着其组织起源和外在环境改变而变化^[9]。因此,不同组织来源的外泌体所含遗传物质也不同,执行的功能也不同。外泌体可以作为抗原提成囊泡,在诱导免疫耐受、促血管生成、T 淋巴细胞失活、抑制免疫反应中起重要作用,并通过调节肿瘤细胞的黏附趋化作用促进肿瘤细胞的侵袭、转移和进展^[10-12]。同样,外泌体在维持体内稳态、参与凝血过程、对刺激信号(如感染、损伤和疾病等)作出适应性反应、启动自我保护机制和促进组织修复等方面具有重要作用。MSCs 外泌体采集过程相对简单,操作性和可控性强,可在低温中长期保存,且生物活性维持更久,在所有可以产生外泌体的细胞中, MSCs 来源的最多^[13]。MSCs 来源的外泌体与其他细胞来源的外泌体在生物学特征和培养储存上没有明显差异,除了表达膜标记分子 CD9 和 CD81,还表达黏附分子,如 CD29、CD44 和 CD73 等。MSCs 来源的外泌体大小为 30 ~ 120 nm,能通过血脑屏障,免疫原性低,半衰期长,能进行长时间、远距离的运输。外泌体含有大量的生物信息传播介质,如 miRNA 的遗传信息及其他一些具有生物活性的物质,并且可以选

择性地将含有的蛋白质、RNA 等递送至受体细胞,调节细胞间的信号转导^[14]。

3 MSCs 外泌体在不同疾病中的作用及机制

MSCs 外泌体目前主要应用在骨组织及皮肤组织损伤修复、心肌损伤及抗移植抗宿主病 (graft-versus-host disease, GVHD) 等方面,其主要作用机制是通过与靶细胞膜融合,将其内容物释放入靶细胞内或与靶细胞表面受体相互作用,激活靶细胞内信号通路,通过影响靶细胞的生物学功能发挥作用。

3.1 MSCs 外泌体在关节软骨损伤修复中的作用及机制 骨关节炎病理过程复杂,以关节软骨损伤和退化为特征,是致残的重要原因,骨关节炎患者关节软骨修复再生能力较差, MSCs 外泌体可通过促进软骨细胞增殖、分化和迁移,进而促进关节软骨的修复。其机制主要是 MSCs 外泌体增强 II 型胶原和硫酸糖胺聚糖等细胞外基质的合成,增加软骨细胞中成软骨基因 II 型胶原 $\alpha 1$ (Col2a1) 和蛋白聚糖表达,降低了软骨细胞肥大标志物基质金属蛋白酶 13 和转录因子 Runx2 的表达,减弱了促炎因子 IL-1 α 诱导的软骨细胞增殖抑制和凋亡,进而促进关节软骨恢复^[15]。Liu 等^[16]发现 MSCs 外泌体可通过靶向调控改善软骨细胞损伤。Zhang 等^[17]发现 MSCs 外泌体通过激活腺苷介导的 AKT 和 ERK 信号通路,增加软骨细胞增殖浸润并迁移至缺损部位进而促进软骨修复,还可通过激活 SMAD 信号通路促进软骨细胞基质合成,并可增加 M2 型巨噬细胞的浸润伴随着滑膜促炎性细胞因子 IL-1 α 和 TNF- α 的减少可重建软骨细胞免疫表型,促进软骨的修复。Wu 等^[18]发现,骨关节脂肪 MSCs 来源的外泌体通过调节 miR-100-5p 抑制 mTOR 自噬信号途径,增强关节软骨细胞基质合成,抑制细胞凋亡,保护关节软骨免受炎症损伤,维持关节软骨稳态,并认为这可能是临床改善骨关节炎严重程度的一种新策略。

3.2 MSCs 外泌体在皮肤损伤修复中的作用及机制 皮肤组织的再生需要皮肤细胞、细胞外基质、血管和神经等的协调作用, MSCs 外泌体通过参与皮肤再生的过程,而在皮肤损伤后的再生中发挥着重要作用。He 等^[19]发现 MSCs 外泌体通过转移 miR-223 靶向伤口部位巨噬细胞 pknox1 基因,诱导巨噬细胞向 M2 表型极化,使特异性因子 RELM- α 和精氨酸酶 1 的表达增加,炎症介质 IL-10 表达水平升高, TNF- α 表达水平降低,加速皮肤创面愈合。Li 等^[20]发现 MSCs 外泌体通过将长链非编码 RNA (long non-coding RNA, lncRNA) H19 转移至成纤维细胞,通过 microRNA-152-3p 上调

癌基因 PTEN 表达,促进成纤维细胞增殖和迁移,抑制细胞凋亡和炎症反应,加速糖尿病足皮肤溃疡的愈合。Fang 等^[21]发现脐带来源的 MSCs 外泌体通过 microRNAs (miR-21, miR-23a, miR-125b, and miR-145) 抑制 TGF $\alpha 2$ /SMAD2 通路抑制 α 平滑肌肌动蛋白和胶原的沉积,减轻成纤维细胞分化聚集引起的过度瘢痕,在皮肤创面愈合中发挥重要作用。

3.3 MSCs 外泌体在心肌损伤修复中的作用及机制 心肌细胞对缺氧刺激敏感,会发生代谢变化。细菌脂多糖可使心肌细胞低密度脂蛋白受体-1 (LOX-1) 上调,还可诱导心肌细胞 Caspase-3 水平明显升高、凋亡增加。Kore 等^[22]发现 MSCs 外泌体通过抑制 LOX-1 表达,进而抑制心肌细胞凋亡和自噬反应,促进心肌细胞存活,保护应激状态下的心肌细胞。Luther 等^[23]对 MSCs 外泌体进行 miRNA 测序发现,在几种保护心脏的 miRNA 中, miR-21a-5p 含量最丰富。MSCs 外泌体通过增加受体心肌细胞中 miR-21a-5p 的水平,从而下调促凋亡基因 PDCD4、PTEN、Peli1 和 FasL 在心肌中的表达,也可能有助于血管生成、心肌细胞增殖,从而起到心脏保护作用。Zhao 等^[24]发现心肌缺血再灌注损伤后,心肌内注射的 MSCs 外泌体通过 miR-182 靶向调节下游 Toll 样受体 4 (Toll-like receptor 4, TLR4), 促进 M1 型巨噬细胞向 M2 型巨噬细胞极化,减少心肌梗死面积,减轻心脏炎症程度,保护心脏。

3.4 MSCs 外泌体在血液疾病中的作用及机制 大多数异基因造血干细胞移植后的患者术后会产生严重的并发症,比如感染、肝静脉闭塞病和 GVHD 等,而糖皮质激素难治性 GVHD 是影响移植患者预后的主要因素^[25]。Kordelas 等^[26]发现 MSCs 外泌体治疗减少患者外周血单个核细胞和 NK 细胞的促炎性细胞因子 IL-1 α 、TNF- α 和 IFN- α 的分泌,减轻腹泻和口腔黏膜皮肤剥脱等临床症状,为 GVHD 治疗提供一种全新的无细胞化治疗方案。Xu 等^[27]发现 MSCs 外泌体通过将 PMSA3 和 PSMA3-AS1 信号传递至骨髓瘤细胞中而增加蛋白酶抑制剂硼替佐米的耐药性,干扰 PSMA3-AS1 基因的表达,将为阻止多发性骨髓瘤的进展提供依据。Liu 等^[28]发现人脐带 MSCs 外泌体使伊马替尼诱导的 K562 细胞 Bax 表达升高和 Bcl-2 表达降低,进一步激活 Caspase-9 和 Caspase-3,促进白血病细胞凋亡, Caspase 抑制剂 Z-VAD-FMK 可以逆转此作用,结果表明 MSCs 外泌体增强了 K562 细胞对伊马替尼的敏感性。因此, MSCs 外泌体治疗可能是一种有希望提高慢性粒细胞白血病疗效的方法。

4 结语

MSCs 外泌体在促进关节软骨、皮肤组织损伤修复、抗肿瘤和减少心肌损伤等方面具有重要作用,其机制主要是通过水平转移蛋白、mRNA 和 miRNA 等遗传物质至靶细胞中来发挥作用,但具体作用机制较复杂,仍需要进一步研究。如何通过靶向修饰 MSCs 外泌体,提高治疗的精准性和有效性仍有待探讨。随着未来研究的不断发展, MSCs 外泌体应用前景广阔,其疗法将得到进一步推广。

参考文献

- [1] 黄思城. 骨髓间充质干细胞治疗股骨头坏死的研究进展[J]. 中国临床新医学, 2017, 10(11): 1110 - 1113.
- [2] Yao P, Zhou L, Zhu L, et al. Mesenchymal stem cells: a potential therapeutic strategy for neurodegenerative diseases[J]. Eur Neurol, 2020, 83(3): 235 - 241.
- [3] Wang J, Chen Z, Sun M, et al. Characterization and therapeutic applications of mesenchymal stem cells for regenerative medicine[J]. Tissue Cell, 2020, 64: 101330.
- [4] Keshtkar S, Azarpira N, Ghahremani MH. Mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles: novel frontiers in regenerative medicine[J]. Stem Cell Res Ther, 2018, 9(1): 63.
- [5] Mendt M, Rezvani K, Shpall E. Mesenchymal stem cell-derived exosomes for clinical use[J]. Bone Marrow Transplant, 2019, 54(Suppl 2): 789 - 792.
- [6] Fu X, Liu G, Halim A, et al. Mesenchymal stem cell migration and tissue repair[J]. Cells, 2019, 8(8): 784.
- [7] Yin JQ, Zhu J, Ankrum JA. Manufacturing of primed mesenchymal stromal cells for therapy[J]. Nat Biomed Eng, 2019, 3(2): 90 - 104.
- [8] Richter M, Vader P, Fuhrmann G. Approaches to surface engineering of extracellular vesicles[J]. Adv Drug Deliv Rev, 2021, 173: 416 - 426.
- [9] Squillaro T, Peluso G, Galderisi U. Clinical trials with mesenchymal stem cells: an update[J]. Cell Transplant, 2016, 25(5): 829 - 848.
- [10] Anel A, Gallego-Lleyda A, de Miguel D, et al. Role of exosomes in the regulation of T-cell mediated immune responses and in autoimmune disease[J]. Cells, 2019, 8(2): 154.
- [11] Whiteside TL. Tumor-derived exosomes and their role in cancer progression[J]. Adv Clin Chem, 2016, 74: 103 - 141.
- [12] 钟宇萧, 葛艳蓉. 鼻咽癌微环境中外泌体作用机制的研究进展[J]. 中国临床新医学, 2021, 14(10): 1049 - 1053.
- [13] Zhao T, Sun F, Liu J, et al. Emerging role of mesenchymal stem cell-derived exosomes in regenerative medicine[J]. Curr Stem Cell Res Ther, 2019, 14(6): 482 - 494.
- [14] Phinney DG, Pittenger MF. Concise review: MSC-derived exosomes for cell-free therapy[J]. Stem Cells, 2017, 35(4): 851 - 858.
- [15] Zhang S, Chu WC, Lai RC, et al. Exosomes derived from human embryonic mesenchymal stem cells promote osteochondral regeneration[J]. Osteoarthritis Cartilage, 2016, 24(12): 2135 - 2140.
- [16] 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.
- [17] Zhang S, Chuah SJ, Lai RC, et al. MSC exosomes mediate cartilage repair by enhancing proliferation, attenuating apoptosis and modulating immune reactivity[J]. Biomaterials, 2018, 156: 16 - 27.
- [18] Wu J, Kuang L, Chen C, et al. miR-100-5p-abundant exosomes derived from infrapatellar fat pad MSCs protect articular cartilage and ameliorate gait abnormalities via inhibition of mTOR in osteoarthritis[J]. Biomaterials, 2019, 206: 87 - 100.
- [19] He X, Dong Z, Cao Y, et al. MSC-derived exosome promotes M2 polarization and enhances cutaneous wound healing[J]. Stem Cells Int, 2019, 2019: 7132708.
- [20] Li B, Luan S, Chen J, et al. The MSC-derived exosomal lncRNA H19 promotes wound healing in diabetic foot ulcers by upregulating PTEN via microRNA-152-3p[J]. Mol Ther Nucleic Acids, 2020, 19: 814 - 826.
- [21] Fang S, Xu C, Zhang Y, et al. Umbilical cord-derived mesenchymal stem cell-derived exosomal micromas suppress myofibroblast differentiation by inhibiting the transforming growth factor- β /SMAD2 pathway during wound healing[J]. Stem Cells Transl Med, 2016, 5(10): 1425 - 1439.
- [22] Kore RA, Henson JC, Hamzah RN, et al. Molecular events in MSC exosome mediated cytoprotection in cardiomyocytes[J]. Sci Rep, 2019, 9(1): 19276.
- [23] Luther KM, Haar L, McGuinness M, et al. Exosomal miR-21a-5p mediates cardioprotection by mesenchymal stem cells[J]. J Mol Cell Cardiol, 2018, 119: 125 - 137.
- [24] Zhao J, Li X, Hu J, et al. Mesenchymal stromal cell-derived exosomes attenuate myocardial ischaemia-reperfusion injury through miR-182-regulated macrophage polarization[J]. Cardiovasc Res, 2019, 115(7): 1205 - 1216.
- [25] Kumar S, Mohammadpour H, Cao X. Targeting cytokines in GVHD therapy[J]. J Immunol Res Ther, 2017, 2(1): 90 - 99.
- [26] Kordelas L, Rebmann V, Ludwig AK, et al. MSC-derived exosomes: a novel tool to treat therapy-refractory graft-versus-host disease[J]. Leukemia, 2014, 28(4): 970 - 973.
- [27] Xu H, Han H, Song S, et al. Exosome-transmitted PSMA3 and PSMA3-AS1 promote proteasome inhibitor resistance in multiple myeloma[J]. Clin Cancer Res, 2019, 25(6): 1923 - 1935.
- [28] Liu Y, Song B, Wei Y, et al. Exosomes from mesenchymal stromal cells enhance imatinib-induced apoptosis in human leukemia cells via activation of caspase signaling pathway[J]. Cytotherapy, 2018, 20(2): 181 - 188.

[收稿日期 2022-02-07][本文编辑 韦颖]

本文引用格式

余静, 许力. 间充质干细胞外泌体作用及机制的研究进展[J]. 中国临床新医学, 2022, 15(8): 769 - 772.