

间充质干细胞源性外泌体在组织纤维化修复中的作用

https://doi.org/10.12307/2022.409

唐建宏¹, 张霓霓², 黄桂林², 郎家婵², 崔田宁², 骆勤亮²

投稿日期: 2020-12-30

采用日期: 2021-02-10

修回日期: 2021-07-17

在线日期: 2021-08-04

中图分类号:

R459.9; R318.5; R782.7

文章编号:

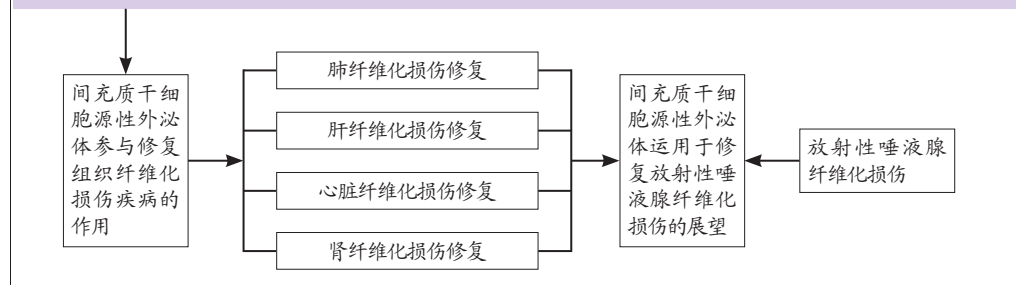
2095-4344(2022)25-04022-06

文献标识码: A

文章快速阅读:

文章特点—

- (1) 外泌体由脂质、蛋白质、核酸构成;
- (2) 具有细胞通讯、抗炎、抗纤维化等作用;
- (3) 外泌体提取方法尚不成熟, 各有优劣势。



文题释义:

外泌体: 是一类直径为30-100 nm的细胞外囊泡, 主要由脂质、蛋白质、核酸等构成, 可由间充质干细胞等多种细胞分泌, 也广泛存在于体液中, 具有细胞间通讯、抗细胞凋亡、抗纤维化等作用, 在心脏、肾脏等器官纤维化的发生过程及调节机制中起重要作用。

组织纤维化: 是指各种原因(包括感染、自身免疫反应、毒素、辐射和创伤)造成组织损伤后实质细胞发生坏死减少、纤维结缔组织增多的病理过程。

摘要

背景: 间充质干细胞替代疗法一直被认为是治疗纤维化疾病的有效方法之一, 但安全性受到质疑, 而外泌体是间充质干细胞的旁分泌产物, 与间充质干细胞的疗效相似, 且作为一种无细胞治疗方法, 目前已成为研究者们关注的重点。

目的: 将间充质干细胞源性外泌体在肺、肝、心脏、肾纤维化修复中的作用进行总结, 对外泌体用于修复放射性唾液腺纤维化进行展望。

方法: 在PubMed数据库中以“exosomes, mesenchymal stem cells, tissue fibrosis, radiation salivary glands, repair”为关键词进行相关文献检索, 在CNKI数据库中以“外泌体, 间充质干细胞, 组织纤维化, 放射性唾液腺, 修复”为关键词进行检索, 通过快速浏览文章题目及摘要进行筛选, 排除与主题关系不密切的文章, 最终筛选出46篇文献进行精读并撰写。

结果与结论: 外泌体主要由脂质、蛋白质、核酸等构成, 具有细胞通讯、抗细胞凋亡、抗炎、抗纤维化等作用, 其提取方法多样, 各具优劣势。间充质干细胞源性外泌体在修复肺、肝、心脏、肾纤维化损伤疾病中起到重要作用, 但运用于修复放射性唾液腺损伤引起的组织纤维化研究较少, 值得深入研究和探索。

关键词: 干细胞; 间充质干细胞; 外泌体; 纤维化; 唾液腺; 放射; 修复; 综述

Role of mesenchymal stem cell-derived exosomes in tissue fibrosis repair

Tang Jianhong¹, Zhang Nini², Huang Guilin², Lang Jiachan², Cui Tianning², Luo Qinliang²

¹Zunyi Medical University, Zunyi 563000, Guizhou Province, China; ²Department of Oral and Maxillofacial Surgery, Affiliated Stomatological Hospital of Zunyi Medical University, Zunyi 563000, Guizhou Province, China

Tang Jianhong, Master candidate, Zunyi Medical University, Zunyi 563000, Guizhou Province, China

Corresponding author: Zhang Nini, Master, Associate professor, Department of Oral and Maxillofacial Surgery, Affiliated Stomatological Hospital of Zunyi Medical University, Zunyi 563000, Guizhou Province, China

Abstract

BACKGROUND: Mesenchymal stem cell replacement therapy has always been regarded as one of effective methods for the treatment of fibrotic diseases. Its safety has been questioned. Exosomes are the paracrine products of mesenchymal stem cells with similar curative effects. This kind of cell-free therapy has now become the focus of researchers.

¹遵义医科大学, 贵州省遵义市 563000; ²遵义医科大学附属医院口腔医院口腔颌面外科, 贵州省遵义市 563000

第一作者: 唐建宏, 女, 1995年生, 贵州省遵义市人, 汉族, 遵义医科大学在读硕士, 主要从事放射性涎腺损伤修复及口腔颌面外科疾病的诊治。

通讯作者: 张霓霓, 硕士, 副教授, 遵义医科大学附属医院口腔医院口腔颌面外科, 贵州省遵义市 563000

https://orcid.org/0000-0002-2424-4136 (唐建宏)

基金资助: 国家自然科学基金(81860198), 项目负责人: 张霓霓; 国家自然科学基金(81960204), 项目负责人: 黄桂林; 贵州省卫生健康委科学技术基金项目(gzwmkj2020-1-165), 项目参与人: 黄桂林、张霓霓、唐建宏

引用本文: 唐建宏, 张霓霓, 黄桂林, 郎家婵, 崔田宁, 骆勤亮. 间充质干细胞源性外泌体在组织纤维化修复中的作用 [J]. 中国组织工程研究, 2022, 26(25):4022-4027.



OBJECTIVE: To summarize the role of mesenchymal stem cell-derived exosomes in the repair of lung, liver, heart and kidney fibrosis, and to look into the application of exosomes in the repair of radioactive salivary gland fibrosis.

METHODS: PubMed database and CNKI database were retrieved with “exosomes, mesenchymal stem cells, tissue fibrosis, radiation salivary glands, repair” as keywords. Articles were filtered by a quick look at the article title and abstract. The articles that were not closely related to the topic were excluded. This paper finally selected 46 articles in intensive reading and writing.

RESULTS AND CONCLUSION: Exosomes are mainly composed of lipids, proteins, nucleic acids, which have the functions of cell communication, anti-apoptosis, anti-inflammatory, and anti-fibrosis. The extraction methods are diverse and each has its advantages and disadvantages. Mesenchymal stem cell-derived exosomes play an important role in repairing fibrosis damage of the lung, liver, heart, and kidney. However, there are few studies on repairing tissue fibrosis caused by radioactive salivary gland damage, and it is worthy of in-depth study and exploration.

Key words: stem cells; mesenchymal stem cells; exosomes; fibrosis; salivary glands; radiation; repair; review

Funding: National Natural Science Foundation of China, No. 81860198 (to ZNN); National Natural Science Foundation of China, No. 81960204 (to HGL); Science and Technology Foundation of Guizhou Provincial Health Commission, No. gzwjkj2020-1-165 (to HGL, ZNN, TJH)

How to cite this article: TANG JH, ZHANG NN, HUANG GL, LANG JC, CUI TN, LUO QL. Role of mesenchymal stem cell-derived exosomes in tissue fibrosis repair. *Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu*. 2022;26(25):4022-4027.

0 引言 Introduction

各种刺激(例如机械损伤、持续感染、长期暴露于毒素或辐射、遗传病或自身免疫反应等)造成组织(器官)损伤所引起的愈合反应叫做组织纤维化,表现为过多的细胞外基质积聚,组织(器官)正常结构被破坏,引起功能障碍,包括肺脏纤维化、肝脏纤维化、心肌纤维化和肾纤维化等。目前,组织纤维化的机制尚不清楚,但活化的成纤维细胞被认为是组织纤维化的关键效应细胞^[1]。间充质干细胞移植一直以来被认为是治疗纤维化疾病的有效方法之一,由于其具有多向分化和自我复制潜力,其安全性受到质疑。相比之下,利用间充质干细胞源性外泌体治疗纤维化疾病,避免引入异体细胞,具有与间充质干细胞相似的治疗效果,可视为间充质干细胞移植治疗的替代品,并在体内外实验中已证明了干细胞来源外泌体在组织损伤修复与组织再生方面起关键作用^[2-3]。与间充质干细胞比较,间充质干细胞来源外泌体具有更加广阔的应用前景。首先,外泌体是双层脂质膜,对其装载的酶、细胞因子、基因等物质具有保护作用。外泌体表面具有各种亲和蛋白能与其他细胞黏附从而在细胞间有效转运这些信息物质。第二,由于外泌体体积小,它们能通过血液自由穿行并进入其他细胞内。相反,间充质干细胞却只有小部分能到达靶点,这其中又只有少数细胞能与组织融合并在短时间内发挥作用。第三,外泌体不表达 MHC I 或 II 抗原,而间充质干细胞却能被诱导高表达 MHC II 而发生炎症反应。第四,外泌体能装载化疗药物、各种特殊蛋白、代谢物或 RNA(miRNA 和 siRNAs)^[4]。研究显示,外泌体可通过激活转化生长因子信号通路、Wnt 信号通路来调节上皮间质转化,减轻组织纤维化^[5]。文章简要综述了间充质干细胞源性外泌体修复组织纤维化损伤疾病(肺纤维化、肝纤维化、心脏纤维化、肾纤维化)的研究进展,为进一步研究放射性唾液腺纤维化提供思路和展望。

1 资料和方法 Data and methods

1.1 资料来源 在 PubMed、CNKI 数据库中进行文献检索,检索时间范围为 2010-2021 年。以“exosomes, mesenchymal stem cells, tissue fibrosis, radiation salivary glands, repair”为英文检索词,“外泌体,间充质干细胞,组织纤维化,放射性唾液腺,修复”为中文检索词进行检索。

1.2 纳入和排除标准

1.2.1 纳入标准 与间充质干细胞源性外泌体、组织纤维化(肺、肝、心脏、肾纤维化)、放射性唾液腺纤维化相关的文献。

1.2.2 排除标准 ①与该研究不符的文献;② Meta 分析类文献;③重复性研究文献。

1.3 质量评估及数据的提取 通过快速浏览文献题目和摘要进行初步筛选,排除与纳入标准不符合的文献。精读全文,进一步判断与纳入标准一致的文献,最后选取 46 篇文献进行综述。资料检索流程见图 1。

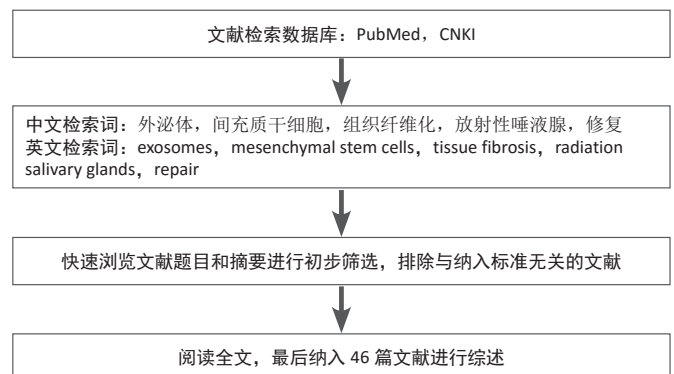


图 1 | 资料检索流程图

2 结果 Results

2.1 外泌体的定义及作用 根据细胞外囊泡的生物发生过程和生物物理性质(包括大小和表面蛋白标记物)而有所不同,包括微囊泡和外泌体。细胞外囊泡的概念最早出现于 1983 年,研究者们观察到网织红细胞中的多囊内小体将小泡释放到细胞外环境中,这些小泡随后被命名为外泌体。外泌体是通过内吞作用形成,即细胞外的成分与细胞膜上的蛋白分子一起通过内吞或者细胞膜内陷的方式,形成内吞小体或者早期核内体,当早期核内体趋于成熟并形成晚期核内体之后,发生在晚期核内体上的膜内陷导致了腔内小囊泡的出现,腔内小囊泡发芽进入细胞质内腔,这些多囊泡小体不与溶酶体融合,而是直接与质膜融合,并将外泌体释放到细胞外间隙。外泌体直径为 30-100 nm^[6],主要由三部分组成:①脂质构成外泌体的膜,起到稳定外泌体结构的作用;②蛋白质可以用来鉴定外泌体,被认为是外泌体的生物

标志物^[7]；③核酸包括 miRNA、microRNA 等，当核酸物质与受体细胞结合后，可以参与受体细胞基因蛋白的编码，从而改变基因表达，发挥其特定的作用^[8]。外泌体可以从间充质干细胞、内皮细胞、肿瘤细胞、心肌细胞等细胞中释放出来，此外，外泌体也广泛存在于体液中。

外泌体作为细胞或器官之间相互沟通的载体，以维持细胞/组织的动态平衡，并对病理性反应做出应激。间充质干细胞源性外泌体具有免疫调节特性、减少细胞凋亡和淋巴细胞浸润、抑制自身反应性淋巴细胞增殖以及促进抗炎细胞因子表达的能力，因此在抗炎、抗纤维化、免疫调节及血管再生方面发挥着重要作用^[9]。近年来，越来越多的实验显示间充质干细胞源性外泌体具有保护细胞免受破坏、抗细胞凋亡和抗组织纤维化用^[10]。

2.2 外泌体提取、鉴定 随着外泌体在再生医学领域的兴起，大量、迅速提取高纯度、高质量的外泌体一直受到研究者们关注。目前，提取外泌体的方法多种多样，各有优劣势，见表 1。

表 1 | 外泌体提取方法的优缺点

方法	优点	缺点
超速离心法	操作简单、产量高、不易被污染	含凋亡小体杂质、纯度不高
密度梯度离心法	纯度很高	产量较低、步骤相对繁琐
免疫磁珠法	特异性高	产量不高
超滤法	操作简单、省时	提取效率低
试剂盒法	操作简单、产量高、效率高	价格较昂贵、纯度不佳

超速离心法是目前外泌体提取的金标准，其产量高、操作简单、不易被污染，但提取到的外泌体常含有凋亡小体等杂质，纯度不高；密度梯度离心法是将干细胞上清液富集于不同密度梯度的蔗糖溶液中，然后通过超速离心力的作用提取外泌体，具有纯度高、产量低、步骤繁琐等特点^[11]；免疫磁珠法是将外泌体囊泡与包被抗标志物抗体的磁珠结合，磁珠将外泌体吸附并分离出来^[12]，此法提取的外泌体特异性高，但对产品要求严格、产量低等；超滤法是用超滤膜离心分离提取外泌体，具有操作简单、省时的特点；试剂盒法操作简单、效率高，深受人们喜欢，但价格较昂贵。如 ExoQuick，是一种快速而简单的试剂盒，但它是一种相对粗糙的分离方法，导致许多可溶性蛋白质受到污染。

外泌体主要根据大小、形态以及表面标记蛋白等进行鉴定，采用的检测方法主要有电子显微镜、流式细胞术、纳米粒子示踪分析、蛋白质印迹法和酶联免疫吸附实验等，其中电子显微镜可直观地观察外泌体的体积大小、表面结构及内部结构；另外，外泌体携带的蛋白质可用流式细胞术、蛋白质印迹法以及酶联免疫吸附实验等方法进行检测。

2.3 组织纤维化 在组织修复或反应过程中，纤维结缔组织的增生和实质细胞的减少称为组织纤维化^[13]。组织纤维化可以是生理性的，可以是反应性的，也可以是病理性的，可以发生在人体的所有器官或组织中。正常的组织纤维化具有自我限制性，以保持身体功能和结构的完整性^[14]。然而，在病理情况下，正常的组织修复反应逃离了体内平衡调节机制，演变成一个不受

控制的纤维化过程，其特征是进行性和病理性聚集大量的纤维组织，进而导致瘢痕形成和组织增厚，破坏正常的器官结构，最终导致器官衰竭。尽管纤维性疾病的发病机制和临床表现存在显著的异质性，但大量研究发现，活化的肌成纤维细胞是最终导致正常组织被无功能纤维组织取代的共同细胞因子。在细胞水平上，人们普遍认为肌成纤维细胞是组织纤维变性过程中最主要的细胞。肌成纤维细胞表达 α -平滑肌肌动蛋白，且纤维胶原（I 型、III 型、V 型和 VI 型）和其他细胞外基质显著增加，同时抑制细胞外基质降解。然而，值得强调的是，不同类型细胞的转分化不是肌成纤维细胞的主要来源，但转分化细胞表型的改变可能导致包括转化生长因子 β 在内的促纤维化因子的产生和分泌，在纤维化过程中发挥重要作用。外泌体介导的细胞间信号传导参与了成纤维细胞的活化。转化生长因子 β 是最有效的促纤维化细胞因子，它直接诱导成纤维细胞分化为肌成纤维细胞；在一些实验模型中，已经证明抑制转化生长因子 β 信号通路可以改善纤维化。另外 miRNA 参与了纤维化疾病中转化生长因子 β 信号通路的调节。总之，外泌体可以调节纤维化效应细胞的活化、纤维化信号分子的表达以及相应信号通路的活化，从而参与纤维化的发展^[15]。

2.4 外泌体在各纤维化疾病中研究进展

- 肺纤维化
- 心脏纤维化
- 肝纤维化
- 肾脏纤维化

2.4.1 肺纤维化 特发性肺纤维化是一种慢性进行性疾病，其特征是呼吸功能不可避免地下降。特发性肺纤维化的病因尚未明确，危险因素包括病毒感染和吸烟等。特发性肺纤维化的特点是肺泡上皮细胞损伤、上皮/内皮-间充质转化、单核/巨噬细胞浸润、肌成纤维细胞活化和细胞外基质沉积。复发性肺泡上皮损伤引起巨噬细胞募集，触发促炎症和促纤维化信号，从而导致肺纤维化^[16]。目前，患者可服用抗纤维化新型药物（尼达尼布和吡非尼酮）减轻肺活量的下降，但不能控制肺纤维化的进程，也不能逆转肺纤维化^[17]，无法从根本上恢复肺原有的功能。研究发现，月经血干细胞来源外泌体将 miRNA let-7 转运至肺泡上皮细胞，下调活性氧水平和 LOX1 表达，减少线粒体 DNA 损伤及炎性小体 NLRP3 活化，从而减轻肺纤维化^[18]。CHOI 等^[19]利用间充质干细胞及间充质干细胞源性外泌体治疗小鼠肺纤维化，通过相关实验检测可观察到小鼠肺部胶原纤维沉积降低并且肺部炎症反应减少，这些效果归功于间充质干细胞释放外泌体对其微环境产生的影响。WILLIS 等^[20]研究表明，间充质干细胞源性外泌体可改善肺组织形态以及肺血管重塑，减轻肺纤维化。FUJITA 等^[13]实验发现，对于博莱霉素诱导的肺纤维化小鼠，在第 14 天给予人骨髓间充质干细胞来源细胞外囊泡，显著下调了 α -平滑肌肌动蛋白的表达，这些囊泡通过改变肌成纤维细胞表型对肺纤维化有治疗作用。SHENTU 等^[21]研究报道，胸腺细胞表面糖蛋白 1 在间充质干细胞衍生的细胞外囊泡中起关键作用，它们通过整合素 $\beta 1$ 、 $\beta 3$ 或 $\beta 5$ 与成纤维细胞相互作用，降

低转化生长因子 $\beta 1$ 诱导的肺成纤维细胞中 α -平滑肌肌动蛋白、纤维粘连蛋白和 III 型胶原蛋白的表达, 抑制肺成纤维细胞向肌成纤维细胞分化, 从而减轻了肺纤维化。总之, 肺纤维化是以细胞外基质过度沉积、肺实质和上皮屏障破坏、成纤维细胞和肌成纤维细胞增生为特征的进行性肺部疾病, 目前临床上没有特效治疗方法, 相关的实验证明了间充质干细胞源性外泌体通过转化生长因子 $\beta 1$ 信号通路抑制成纤维细胞和肌成纤维细胞的活性, 进而减轻细胞外基质沉积和炎症反应, 促进血管再生, 从而减轻肺部纤维化。

2.4.2 肝纤维化 纤维化归因于过多的细胞外基质积聚, 这损害了肝脏的正常形态和功能。细胞外基质沉积过多是由于成纤维细胞的持续活化所致, 它会增殖并产生不同的基质成分 (I 型和 III 型胶原、纤连蛋白、层粘连蛋白和蛋白聚糖)。肝星状细胞是肝纤维化发展的关键因素, 在生理条件下肝星状细胞是非增殖细胞, 不同类型损伤可能会诱导肝星状细胞活化并产生细胞外基质成分和促炎性细胞因子。Li 等^[22] 研究发现, 人脐带间充质干细胞源性外泌体移植后减轻了四氯化碳诱导的肝脏炎症和胶原沉积, 还能明显恢复血清天冬氨酸氨基转移酶活性, 降低 I 型和 III 型胶原、转化生长因子 $\beta 1$ 和磷酸化 Smad2 的表达, 减轻上皮-间充质转化, 这些结果提示人脐带间充质干细胞源性外泌体可能通过抑制上皮间充质转化和保护肝细胞而减轻四氯化碳诱导的肝纤维化。有研究将绒毛膜间充质干细胞源性外泌体注射到四氯化碳诱导的肝纤维化大鼠体内, 发现绒毛膜间充质干细胞源性外泌体所携带的 microRNA-125b 通过抑制 Hedgehog (Hh) 信号通路缓解肝脏纤维化并促进肝脏再生^[23], 说明 Hedgehog 信号通路在肝纤维化发展过程中发挥着重要作用。另外研究发现人脐带间充质干细胞源性外泌体可通过抑制上皮间充质转化和抗氧化作用, 改善四氯化碳诱导的肝纤维化^[24]。含有 miR-181-5p 的外泌体可以通过抑制 STAT3/Bcl-2/Beclin 1 途径来增加自噬并减轻肝纤维化^[10]。总而言之, 肝纤维化是由各种原因引起肝脏组织中细胞外基质过度沉积引起的纤维化, 而活化肝星状细胞起着关键性的作用。正常情况下, 处于静息状态的肝星状细胞受多种损伤及炎症因子的刺激而被活化, 通过激活一系列信号通路, 最终获得促纤维化表型向损伤部位迁移, 分泌过量的细胞外基质导致肝纤维化。尽管有越来越多的研究深入探讨肝纤维化发展的分子机制, 但仍缺乏抗肝纤维化药物。抗纤维化疗法集中于不同的作用机制: 肝细胞保护、抑制肝星状细胞活化、减少纤维化分子沉积以及炎症调节。在肝纤维化的背景下, 间充质干细胞源性外泌体已被证明通过调节不同的分子通路 (如转化生长因子 β 和 Wnt 信号通路), 改善肝脏炎症和胶原沉积, 减轻肝纤维化。

2.4.3 心脏纤维化 心脏纤维化是指心肌组织中胶原纤维过度堆积, 各型胶原比例失调以及排列紊乱引起的纤维化。心肌成纤维细胞可直接通过增殖、分化和分泌细胞外基质有效刺激心肌重塑, 然而心肌成纤维细胞长期被激活可导致心肌纤维化的发生^[25], 因此, 心肌成纤维细胞过度增殖是心肌纤维化的重要因素^[26]。ZHAO 等^[27] 研究结果显示, 人脐带间充质干细胞源性外泌体通过

调节 Bcl-2 家族成员的表达, 具有减少心肌细胞凋亡、增强心肌收缩功能和减轻心肌纤维化的作用。用 Dil 标记的外泌体被心脏干细胞内化, 它们刺激心脏干细胞的增殖、迁移和血管形成。在大鼠心肌梗死模型中, 间充质干细胞外泌体预处理的心脏干细胞存活率显著提高, 毛细血管密度增加, 心脏纤维化减少, 并恢复了长期的心功能。MicroRNA 图谱分析表明, 经间充质干细胞外泌体处理后, 心脏干细胞中的一组 microRNA 发生了明显变化。此外, miRNA 可能调节心脏干细胞的增殖和分化^[28]。对骨髓间充质干细胞源性外泌体中 miRNA 高通量基因表达分析发现, 骨髓间充质干细胞源性外泌体中含量较高的前 3 种 miRNA 为 miR-1246、miR-23a-3p 和 miR-451a, 而且这些外泌体能明显抑制心肌纤维化胶原的生成^[29]。SHAO 等^[30] 利用骨髓间充质干细胞源性外泌体治疗心肌梗死大鼠, 发现大鼠心肌的炎症反应与纤维化均得到改善, 心功能得到增强。最近有研究表明, 间充质干细胞源性外泌体可通过抑制成纤维细胞的增殖, 刺激梗死区血管新生进而抑制心肌纤维化^[31]。人脐带间充质干细胞源性外泌体通过激活 TGF- $\beta 1$ /Smad2/3 信号通路, 阻断上皮-间质转化, 减少心肌纤维化^[32]。炎症反应和心肌细胞死亡通常是刺激成纤维细胞分泌过量细胞外基质蛋白的促纤维化信号级联反应的最初因素。许多不同的生长因子 (肿瘤坏死因子 α 、转化生长因子 β)、细胞因子 (白细胞介素 1、白细胞介素 10、白细胞介素 11) 和肾素血管紧张素系统是心肌纤维化发生和发展的关键调节因子, 调节包括心肌细胞和成纤维细胞在内的各种细胞的功能。研究表明, 间充质干细胞源性外泌体主要通过抑制成纤维细胞的活性, 减少细胞外基质过度沉积和心肌炎症反应, 最终改善心脏纤维化, 恢复心功能。

2.4.4 肾脏纤维化 肾脏在机械损伤、持续感染、长期暴露于毒素或辐射、自身免疫反应的刺激下, 肾实质内细胞外基质蛋白降解和合成异常, 引起细胞外基质大量聚集, 最终导致肾间质纤维化^[33-34]。在临床上仍然没有特效的治疗方法可以治疗纤维化疾病^[35]。在小鼠单侧输尿管梗阻动物实验中发现骨髓间充质干细胞源性外泌体高表达 miR-let7c, 低表达 IV 型胶原、基质金属蛋白酶 9 和转化生长因子 $\beta 1$, 肾脏损伤明显降低, 具有抗纤维化作用^[36]。另外表达 miR-29 的外泌体肌肉注射能够有效缓肾纤维化, 减少肾脏组织中转化生长因子 β 、 α -平滑肌肌动蛋白和胶原的表达^[37]。人脂肪干细胞来源外泌体通过激活 Sox9 减轻缺血再灌注损伤向肾间质纤维化的转变^[38]。EBRAHIM 等^[39] 发现骨髓间充质干细胞释放的外泌体能够通过 mTOR 信号通路降低纤维化标志物的表达, 从而减轻肾纤维化, 改善肾功能并促进肾脏的组织学修复。NAGAI-SHI 等^[40] 研究发现骨髓间充质干细胞来源外泌体能够发挥抑制糖尿病肾病模型小鼠肾小管上皮细胞凋亡、抗纤维化的作用。胡玉燕等^[41] 研究表明人脐带间充质干细胞源性外泌体能够抑制肾间质中转化生长因子 $\beta 1$ 等促纤维化因子的表达, 并且能够逆转大鼠肾小管上皮细胞上皮间质转化, 从而起到保护肾脏作用, 延缓了大鼠肾间质纤维化的进展。综上所述, 目前实验研究发现间充质干细胞源性外泌体可通过抑制转化生长因子 β 的表达以及高表达外泌体传递的 miRNA 或者其他分泌因子, 使得细胞外基质沉积减少, 具有抗炎、抗纤维化作用。

2.5 放射性唾液腺纤维化 唾液腺又称涎腺,产生唾液并维持口腔内环境稳定^[42]。涎腺由三大细胞组成:腺泡细胞、肌上皮细胞和导管细胞,腺泡细胞主要功能是分泌唾液,导管细胞主要功能是控制唾液的分泌。头颈部恶性肿瘤患者在接受放射治疗时不仅杀死癌细胞,同时也会对周围正常组织(比如腺涎)造成损伤,导致细胞空泡性变、血管密度降低以及组织纤维化等,最终导致涎腺功能不可逆性损伤。最近有研究报道,60%-90%的头颈部肿瘤患者放疗后并发涎腺放射性损伤,引起口干症,出现咀嚼、吞咽困难等不良症状^[43]。正常唾液腺组织中细胞外基质蛋白表达很少,放射性损伤唾液腺组织中细胞外基质蛋白表达明显增多,表达的量与辐射剂量相关,而且细胞外基质蛋白是放射性唾液腺损伤间质纤维化的分子标志物,表明唾液腺在放射后发生了纤维化性变。对于放射性唾液腺损伤引起的不良症状,目前临床上没有特效药物,主要使用促涎剂(毛果云香碱)、补充人工合成唾液来增加唾液量,但效果不佳并伴随着不良反应,无法恢复涎腺功能。最初,人们普遍认为间充质干细胞具有多向分化潜能,植入腺体后可以分化为涎腺上皮细胞(腺泡细胞)进而修复涎腺分泌障碍。然而,间充质干细胞在体内长期存活并分化为腺泡细胞的证据并不确切。据报道,间充质干细胞移植后1周,只有<1%的细胞能存活下来^[44]。代敏等^[45]研究表明在体积分数为3%低氧条件下能提高人羊膜间充质干细胞的增殖活性及抗凋亡作用,同时分泌了更多的血管相关生成因子。王英鑫^[46]将低氧预处理人羊膜间充质干细胞移植入放射损伤腺涎小鼠模型,结果发现腺涎腺泡细胞数目增多,间质纤维化明显改善。总之,目前大部分实验是用间充质干细胞移植修复放射性唾液腺损伤,虽然有一定的效果,但效果不确定,并且其安全性受到质疑,并不能在临床中运用。目前需要研究一种更好的治疗方法用于修复放射性唾液腺纤维化损伤。

3 讨论与展望 Discussion and prospects

外泌体是细胞经过“内吞-融合-外排”等一系列调控过程形成的膜性脂质小囊泡,作为细胞间的通讯递质,参与了组织纤维化的病理生理过程。从再生医学角度来看,间充质干细胞源性外泌体在各种疾病模型中取得了良好的治疗效果,外泌体可以有效运输具有治疗效果的物质,从而刺激细胞增殖分化,调节免疫反应,减轻炎症反应,促进血管生成和提高组织修复的潜力^[32]。外泌体在各细胞间充当通讯作用的方式主要有3种:第一种是直接识别靶细胞表面的信号分子并与受体结合,向细胞传递信息;第二种是外泌体与靶细胞质膜融合后,释放所携带的内容物,实现信息传递;第三种是通过释放胞内的信号分子作用于靶细胞表面受体,完成信息转运。利用外泌体进行无细胞再生医学临床应用比干细胞植入治疗具有如下优点:①避免了植入细胞的免疫原性、成瘤、栓塞和感染传播等问题;②可以在安全性、剂量和效能等方面做到精确化;③可以长期保存;④避免了收集细胞对患者的侵入性操作;⑤大规模实验室生产;⑥及时供应,显著缩短治疗时间;⑦可以根据需要“生产”改造的细胞分泌物,满足个性化治疗需要。目前,大多数研究利

用间充质干细胞源性外泌体治疗纤维化疾病(包括肝脏纤维化、肾脏纤维化、心脏纤维化、肺纤维化)有一定的应用前景,主要通过激活一系列信号通路,减少细胞外基质聚集,产生抗炎和抗纤维化作用。放疗最常见的晚期并发症是组织纤维化,尤其是头颈部恶性肿瘤患者接受放疗后组织发生纤维化尤为突出。以往移植间充质干细胞修复放射性唾液腺损伤的研究较多,具有一定的作用,但效果不佳,并且移植后间充质干细胞存活率低,无法修复涎腺功能。随着间充质干细胞源性外泌体在再生医学的运用,有研究发现放射性涎腺损伤分泌功能的修复是通过间充质干细胞的旁分泌作用来实现的。目前用间充质干细胞源性外泌体治疗放射性唾液腺损伤的研究甚少,基于间充质干细胞源性外泌体在其他纤维化疾病研究领域的运用前景,希望间充质干细胞源性外泌体在修复放射性唾液腺纤维化损伤研究领域取得突破性进展并且能在临床上运用。目前也存在一些挑战:①关于外泌体的大量、快速提取以及纯化仍没有确切方法;②间充质干细胞源性外泌体治疗纤维化疾病仅限于实验研究,仍没有临床研究报道;③间充质干细胞源性外泌体发挥抗纤维化的机制尚不完全清楚,仍需进一步探索。

致谢:衷心感谢导师张霓霓副教授和黄桂林教授对文章修改提出的宝贵意见及悉心指导,感谢全体作者对资料收集的无私帮助。

作者贡献:文章由张霓霓副教授构思设计,张霓霓副教授和黄桂林教授负责写作校对,唐建宏参与文献收集,分析总结,文章全体作者负责项目指导,全体作者都阅读并同意最终版本。

经费支持:该文章接受了“国家自然科学基金项目(81860198, 81960204)”及“贵州省卫生健康委科学技术基金项目(gzwmkj2020-1-165)”的资助。所有作者声明,经费支持没有影响文章观点和对研究数据客观结果的统计分析及其报道。

利益冲突:文章的全部作者声明,在课题研究和文章撰写过程中不存在利益冲突。

写作指南:该研究遵守《系统综述和荟萃分析报告规范》(PRISMA指南)。

文章查重:文章出版前已经过专业反剽窃文献检测系统进行3次查重。

文章外审:文章经小同行外审专家双盲外审,同行评议认为文章符合期刊发稿宗旨。

文章版权:文章出版前杂志已与全体作者授权人签署了版权相关协议。

开放获取声明:这是一篇开放获取文章,根据《知识共享许可协议》《署名-非商业性使用-相同方式共享4.0》条款,在合理引用的情况下,允许他人以非商业性目的基于原文内容编辑、调整和扩展,同时允许任何用户阅读、下载、拷贝、传递、打印、检索、超级链接该文献,并为之建立索引,用作软件的输入数据或其它任何合法用途。

4 参考文献 References

- [1] FRANGOIANIS NG. Fibroblast-Extracellular Matrix Interactions in Tissue Fibrosis. *Curr Pathobiol Rep*. 2016;4(1):11-18.
- [2] 李超然,黄桂林,王帅. 间充质干细胞来源外泌体促进损伤组织修复与再生的应用与进展 [J]. *中国组织工程研究*, 2018,22(1):133-139.
- [3] BERARDIS S, LOMBARD C, EVRAERTS J, et al. Gene expression profiling and secretome analysis differentiate adult-derived human liver stem/progenitor cells and human hepatic stellate cells. *PLoS One*. 2014;9(1): e86137.
- [4] XU S, LIU C, JI HL. Concise Review: Therapeutic Potential of the Mesenchymal Stem Cell Derived Secretome and Extracellular Vesicles for Radiation-Induced Lung Injury: Progress and Hypotheses. *Stem Cells Transl Med*. 2019;8(4):344-354.

- [5] YAO Y, CHEN R, WANG G, et al. Exosomes derived from mesenchymal stem cells reverse EMT via TGF- β 1/Smad pathway and promote repair of damaged endometrium. *Stem Cell Res Ther.* 2019;10(1):225.
- [6] 张登沈, 刘达兴, 梁贵友. 外泌体源性微 RNA 在心血管疾病发生机制中的研究进展 [J]. *中华医学杂志*, 2018,98(46):3802-3804.
- [7] HURWITZ SN, CONLON MM, RIDER MA, et al. Nanoparticle analysis sheds budding insights into genetic drivers of extracellular vesicle biogenesis. *J Extracell Vesicles.* 2016;5:31295.
- [8] 刘亭亭, 贾冬萍, 王秀梅. 外泌体源性 miRNAs 作为诊断标志物在肿瘤中的研究进展 [J]. *国际遗传学杂志*, 2019,41(2):143-148.
- [9] HOSSEINI SHAMILI F, ALIBOLANDI M, RAFATPANAH H, et al. Immunomodulatory properties of MSC-derived exosomes armed with high affinity aptamer toward myelin as a platform for reducing multiple sclerosis clinical score. *J Control Release.* 2019;299:149-164.
- [10] QU Y, ZHANG Q, CAI X, et al. Exosomes derived from miR-181-5p-modified adipose-derived mesenchymal stem cells prevent liver fibrosis via autophagy activation. *J Cell Mol Med.* 2017;21(10):2491-2502.
- [11] XU R, GREENING DW, ZHU HJ, et al. Extracellular vesicle isolation and characterization: toward clinical application. *J Clin Invest.* 2016;126(4):1152-1162.
- [12] TIAN YF, NING CF, HE F, et al. Highly sensitive detection of exosomes by SERS using gold nanostar@Raman reporter@nanoshell structures modified with a bivalent cholesterol-labeled DNA anchor. *Analyst.* 2018;143(20):4915-4922.
- [13] FUJITA Y, KADOTA T, ARAYA J, et al. Clinical Application of Mesenchymal Stem Cell-Derived Extracellular Vesicle-Based Therapeutics for Inflammatory Lung Diseases. *J Clin Med.* 2018;7(10):355.
- [14] ROCKEY DC, BELL PD, HILL JA. Fibrosis--A Common Pathway to Organ Injury and Failure. *N Engl J Med.* 2015;373(1):96.
- [15] QIN XJ, ZHANG JX, WANG RL. Exosomes as mediators and biomarkers in fibrosis. *Biomark Med.* 2020;14(8):697-712.
- [16] MEYER KC. Pulmonary fibrosis, part I: epidemiology, pathogenesis, and diagnosis. *Expert Rev Respir Med.* 2017;11(5):343-359.
- [17] MIKOLASCH TA, GARTHWAITE HS, PORTER JC. Update in diagnosis and management of interstitial lung disease. *Clin Med (Lond).* 2016; 16(Suppl 6):s71-s78.
- [18] 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. *Oxid Med Cell Longev.* 2019;2019:4506303.
- [19] 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. *Mol Cells.* 2014;37(2):133-139.
- [20] WILLIS GR, FERNANDEZ-GONZALEZ A, ANASTAS J, et al. Mesenchymal Stromal Cell Exosomes Ameliorate Experimental Bronchopulmonary Dysplasia and Restore Lung Function through Macrophage Immunomodulation. *Am J Respir Crit Care Med.* 2018;197(1):104-116.
- [21] SHENTU TP, HUANG TS, CERNELC-KOHAN M, et al. Thy-1 dependent uptake of mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles blocks myofibroblastic differentiation. *Sci Rep.* 2017;7(1):18052.
- [22] LI T, YAN Y, WANG B, et al. Exosomes derived from human umbilical cord mesenchymal stem cells alleviate liver fibrosis. *Stem Cells Dev.* 2013;22(6):845-854.
- [23] HYUN J, WANG S, KIM J, et al. MicroRNA125b-mediated Hedgehog signaling influences liver regeneration by chorionic plate-derived mesenchymal stem cells. *Sci Rep.* 2015;5:14135.
- [24] JIANG W, TAN Y, CAI M, et al. Human Umbilical Cord MSC-Derived Exosomes Suppress the Development of CCl₄-Induced Liver Injury through Antioxidant Effect. *Stem Cells Int.* 2018;2018:6079642.
- [25] ZHANG W, CHEN XF, HUANG YJ, et al. 2,3,4',5-Tetrahydroxystilbene-2-O-beta-D-glucoside inhibits angiotensin II-induced cardiac fibroblast proliferation via suppression of the reactive oxygen species-extracellular signal-regulated kinase 1/2 pathway. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 2012;39(5):429-437.
- [26] 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. *PLoS One.* 2014;9(2):e88685.
- [27] ZHAO Y, SUN X, CAO W, et al. Exosomes Derived from Human Umbilical Cord Mesenchymal Stem Cells Relieve Acute Myocardial Ischemic Injury. *Stem Cells Int.* 2015;2015:761643.
- [28] ZHANG Z, YANG J, YAN W, et al. Pretreatment of Cardiac Stem Cells With Exosomes Derived From Mesenchymal Stem Cells Enhances Myocardial Repair. *J Am Heart Assoc.* 2016;5(1):e002856.
- [29] FERGUSON SW, WANG J, LEE CJ, et al. The microRNA regulatory landscape of MSC-derived exosomes: a systems view. *Sci Rep.* 2018; 8(1):1419.
- [30] SHAO L, ZHANG Y, LAN B, et al. MiRNA-Sequence Indicates That Mesenchymal Stem Cells and Exosomes Have Similar Mechanism to Enhance Cardiac Repair. *Biomed Res Int.* 2017;2017:4150705.
- [31] KARANTALIS V, HARE JM. Use of mesenchymal stem cells for therapy of cardiac disease. *Circ Res.* 2015;116(8):1413-1430.
- [32] MEENA AS, SHUKLA PK, SHETH P, et al. EGF receptor plays a role in the mechanism of glutamine-mediated prevention of alcohol-induced gut barrier dysfunction and liver injury. *J Nutr Biochem.* 2019;64:128-143.
- [33] 杨晓颖, 朱强强, 黄业伟. 肾脏纤维化的发病机制及治疗策略研究进展 [J]. *健康之友*, 2019,30(11):161.
- [34] 姚小兵. 肾纤维化的发病机制及治疗研究进展 [J]. *国际泌尿系统杂志*, 2019,39(2):371-374.
- [35] LIU F, ZHUANG S. New Therapies for the Treatment of Renal Fibrosis. *Adv Exp Med Biol.* 2019;1165:625-659.
- [36] WANG B, YAO K, HUUSKES BM, et al. Mesenchymal Stem Cells Deliver Exogenous MicroRNA-let7c via Exosomes to Attenuate Renal Fibrosis. *Mol Ther.* 2016;24(7):1290-1301.
- [37] WANG H, WANG B, ZHANG A, et al. Exosome-Mediated miR-29 Transfer Reduces Muscle Atrophy and Kidney Fibrosis in Mice. *Mol Ther.* 2019; 27(3):571-583.
- [38] ZHU F, CHONG LEE SHIN OLS, Pei G, et al. Adipose-derived mesenchymal stem cells employed exosomes to attenuate AKI-CKD transition through tubular epithelial cell dependent Sox9 activation. *Oncotarget.* 2017;8(41):70707-70726.
- [39] EBRAHIM N, AHMED IA, HUSSINI NI, et al. Mesenchymal Stem Cell-Derived Exosomes Ameliorated Diabetic Nephropathy by Autophagy Induction through the mTOR Signaling Pathway. *Cells.* 2018;7(12):226.
- [40] NAGAISHI K, MIZUE Y, CHIKENJI T, et al. Mesenchymal stem cell therapy ameliorates diabetic nephropathy via the paracrine effect of renal trophic factors including exosomes. *Sci Rep.* 2016;6:34842.
- [41] 胡玉燕, 尹磊, 张晨笑, 等. 脐带间充质干细胞外泌体对大鼠肾间质纤维化的抑制作用 [J]. *江苏大学学报 (医学版)*, 2020,30(4):282-286.
- [42] 张林, 王帅, 张霓霓, 等. 脱细胞基质制备方法及其在涎腺组织工程中的应用 [J]. *中国组织工程研究*, 2020,24(10):1597-1603.
- [43] VAN LUIJK P, PRINGLE S, DEASY JO, et al. Sparing the region of the salivary gland containing stem cells preserves saliva production after radiotherapy for head and neck cancer. *Sci Transl Med.* 2015;7(305): 305ra147.
- [44] EGGENHOFER E, BENSELER V, KROEMER A, et al. Mesenchymal stem cells are short-lived and do not migrate beyond the lungs after intravenous infusion. *Front Immunol.* 2012;3:297.
- [45] 代敏, 王帅, 张霓霓, 等. 低氧预处理人羊膜间充质干细胞的生物学特征 [J]. *中国组织工程研究*, 2021,25(19):3004-3008.
- [46] 王英鑫. 低氧预处理人羊膜间充质干细胞修复放射性涎腺损伤功能的研究 [D]. 遵义: 遵义医学院, 2018.