

间充质干细胞来源细胞外囊泡治疗和修复急性慢性肾损伤

<https://doi.org/10.12307/2022.729>

李清茹, 张琳琪, 陈旭, 石若玉, 王希茜

投稿日期: 2021-10-14

采用日期: 2021-11-13

修回日期: 2021-12-29

在线日期: 2022-01-18

中图分类号:

R459.9; R318; R456

文章编号:

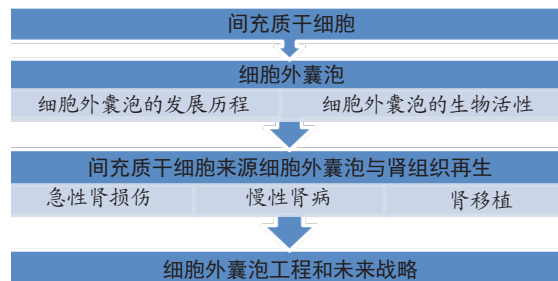
2095-4344(2022)31-05069-07

文献标识码: A

文章快速阅读:

文章特点一

△结合近年来间充质干细胞源性细胞外囊泡治疗肾损伤的相关研究, 总结认为不同组织间充质干细胞来源细胞外囊泡在改善急性肾损伤、慢性肾病、肾移植临床前模型方面有效, 针对疾病的多个方面, 刺激细胞增殖, 减少凋亡、炎症和氧化损伤, 希望为后续临床诊治提供参考依据。



文题释义:

细胞外囊泡: 是由细胞释放的各种具有膜结构的囊泡结构统称, 广泛存在于细胞培养上清以及各种体液中, 携带有细胞来源相关的多种蛋白质、脂类、DNA、mRNA、miRNA等, 参与细胞间通讯、细胞迁移、血管新生和免疫调节等过程。

肾单位: 包括肾小球、肾小管、集合管等。肾小球滤过毒素和水分, 而肾小管主要是回吸收水分以及肾小球滤过的一些物质。肾小球的滤过功能很强大, 可以将血液中的大部分毒素, 以及小分子量的物质滤出, 进入肾小管。而肾小管为了保持机体某些物质平衡, 必须将肾小球滤过的物质充分的回吸收, 才能保证机体各器官和系统在正常的生理范围之内。

摘要

背景: 在不同的肾损伤模型中, 干细胞尤其是间充质干细胞来源细胞外囊泡具有促再生潜力。

目的: 文章综述了间充质干细胞来源细胞外囊泡在急性和慢性肾损伤临床前模型中的应用进展, 及其在肾移植应用中的最新数据, 此外讨论了提高细胞外囊泡治疗效果的新工程策略。

方法: 检索中国知网、万方数据和PubMed数据库, 中文检索词包括“急性肾损伤、慢性肾病、细胞外囊泡、外泌体”, 英文检索词包括“acute renal injury, chronic kidney disease, extracellular vesicles, exosomes, regeneration”, 检索文献为研究原著和综述, 检索时限为各数据库建库至2021年的相关文献, 筛选82篇文献进行分析总结。

结果与结论: ①间充质干细胞来源细胞外囊泡在肾损伤治疗领域的研究已经广泛开展, 动物实验证实间充质干细胞来源细胞外囊泡在急性和慢性肾损伤治疗中能够发挥肾脏保护作用并延缓疾病进展, 具体机制涉及损伤细胞的重编程、细胞增殖和血管生成以及抑制细胞凋亡和炎症等, 肾移植后立即给予细胞外囊泡可改善急性期和慢性期的缺血再灌注损伤。②有关间充质干细胞来源细胞外囊泡治疗肾病的临床试验较少, 有一项临床试验观察到服用脐血间充质干细胞来源细胞外囊泡1年后, 慢性肾病患者的肾功能得到了改善。③基于以上研究可见, 间充质干细胞来源细胞外囊泡将有助于为急性和慢性肾损伤的有效治疗和修复等提供新的实验模型和依据, 为临床治疗肾脏疾病开辟一条新的方向。

关键词: 急性肾损伤; 慢性肾病; 肾移植; 间充质干细胞; 细胞外囊泡; 外泌体; 肌酐; 尿素氮; 肾脏; 再生医学

Mesenchymal stem cells-derived extracellular vesicles in the treatment and repair of acute and chronic renal injuries

Li Qingru, Zhang Linqi, Chen Xu, Shi Ruoyu, Wang Xixi

First Clinical Medical College, Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 453000, Henan Province, China

Li Qingru, Doctoral candidate, First Clinical Medical College, Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 453000, Henan Province, China

Corresponding author: Zhang Linqi, Professor, Chief physician, Doctoral supervisor, First Clinical Medical College, Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 453000, Henan Province, China

Abstract

BACKGROUND: Stem cells, especially extracellular vesicles derived from mesenchymal stem cells, have the potential to promote regeneration in different renal injury models.

OBJECTIVE: To review the application progress of extracellular vesicles derived from mesenchymal stem cells in preclinical models of acute and chronic renal injuries and the latest data in renal transplantation. In addition, new engineering strategies to improve the therapeutic effect of extracellular vesicles were discussed.

METHODS: CNKI, Wanfang, and PubMed databases were searched. The Chinese search words included “acute renal injury, chronic kidney disease, extracellular vesicles, exosomes”. English search words included “acute renal injury, chronic kidney disease, extracellular vesicles, exosomes, regeneration”. The search literature was the original research works and reviews. The retrieval time limit was from the establishment of the database to 2021, and 82 articles were selected for analysis and summary.

河南中医药大学第一临床医学院, 河南省郑州市 453000

第一作者: 李清茹, 女, 1994年生, 河南省商丘市人, 汉族, 河南中医药大学在读博士, 主要从事中医药防治肾脏病方面基础及临床研究。

通讯作者: 张琳琪, 教授, 主任医师, 博士生导师, 河南中医药大学第一附属医院肾病科, 河南省郑州市 453000

<https://orcid.org/0000-0001-5140-2083> (李清茹)

基金资助: 河南省中医药科学研究专项课题(2019ZYD05), 项目负责人: 张琳琪

引用本文: 李清茹, 张琳琪, 陈旭, 石若玉, 王希茜. 间充质干细胞来源细胞外囊泡治疗和修复急性慢性肾损伤[J]. 中国组织工程研究, 2022, 26(31):5069-5075.



RESULTS AND CONCLUSION: (1) The research on mesenchymal stem cell derived extracellular vesicles in the treatment of renal injury has been widely carried out. Animal experiments have confirmed that mesenchymal stem cell derived extracellular vesicles can play a renal protective role and delay the progress of disease in the treatment of acute and chronic renal injuries. The specific mechanism involves the reprogramming of injured cells, cell proliferation, angiogenesis and inhibition of apoptosis and inflammation. Immediate administration of extracellular vesicles after renal transplantation can improve acute and chronic ischemia-reperfusion injuries. (2) There are few clinical trials on the treatment of nephropathy with mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles. One clinical trial observed that one year after taking umbilical cord blood mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles, the renal function of patients with chronic kidney disease was improved. (3) Based on the above research, mesenchymal stem cells derived extracellular vesicles will help to provide a new experimental model and basis for the effective treatment and repair of acute and chronic renal injuries, and open up a new direction for the clinical treatment of renal diseases.

Key words: acute renal injury; chronic kidney disease; renal transplantation; mesenchymal stem cell; extracellular vesicles; exosomes; creatinine; urea nitrogen; kidney; regenerative medicine

Funding: a Special Project of Scientific Research on Chinese Medicine in Henan Province, No. 2019ZYD05 (to ZLQ)

How to cite this article: LI QR, ZHANG LQ, CHEN X, SHI RY, WANG XX. Mesenchymal stem cells-derived extracellular vesicles in the treatment and repair of acute and chronic renal injuries. *Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu*. 2022;26(31):5069-5075.

0 引言 Introduction

急性肾损伤是临床常见危重症之一，随着对急性肾损伤认识的深入以及危重症救治手段的快速发展，急性肾损伤相关的死亡风险显著下降，然而存活患者的肾脏远期预后不容乐观^[1]，长期随访研究也显示，8%–16%的急性肾损伤患者病情会进展为慢性肾功能衰竭^[2]，慢性肾脏病是急性肾损伤的一个重要危险因素，反过来，急性肾损伤患者也容易发展为慢性肾病。近年由于糖尿病和肥胖患病率的增加，使得慢性肾脏病发病率逐渐增加^[3]。目前，慢性肾脏病的治疗主要集中在减缓疾病进展方面，尽管取得了有益的效果，但不足以完全抵消疾病的进展^[4]。寻找急性肾损伤和慢性肾病的新治疗策略仍然是一个不断探索的过程。

在过去几十年中，干细胞疗法已被用于临床前开发项目和临床试验试点项目，且取得了明显效果^[5]。基于间充质干细胞的治疗方法已经证明可以改善由肾脏损伤和疾病引起的组织损伤。最初，研究人员关注间充质干细胞的分化潜能。在肾损伤动物模型中，间充质干细胞能够替代肾小管细胞，并在肾损伤后获得上皮表型。近些年来，对间充质干细胞再生效应的关注已经转移到它们分泌营养因子的能力上，间充质干细胞分泌含有多种细胞因子、趋化因子和生长因子以及含有 miRNA、mRNA 和蛋白质的细胞外囊泡，并揭示了与细胞增殖、自噬、细胞凋亡、组织纤维化和炎症相关的治疗机制^[6-9]。不同间充质干细胞来源外泌体在肾损伤中均发挥重要的修复作用，但具体机制仍在探索之中。

文章主要检索 10 年来不同间充质干细胞来源细胞外囊泡在肾损伤领域的相关文献，重点阐述了间充质干细胞来源细胞外囊泡在急性和慢性肾损伤临床前模型中的应用进展，及其在肾移植应用中的最新数据，此外讨论了提高细胞外囊泡治疗效果的新工程策略。

1 资料和方法 Data and methods

1.1 资料来源

- 1.1.1 检索人及检索时间 第一作者在 2021 年 6 月进行检索。
- 1.1.2 检索文献时限 各数据库建库至 2021 年 6 月。
- 1.1.3 检索数据库 PubMed、中国知网和万方数据库。
- 1.1.4 检索词 中文检索词包括“急性肾损伤、慢性肾病、细胞外囊泡、外泌体”，英文检索词包括“acute renal injury, chronic kidney disease, extracellular vesicles, exosomes, regeneration”。
- 1.1.5 检索文献类型 研究原著和综述。
- 1.1.6 检索策略 见图 1。
- 1.1.7 检索文献量 中文文献 18 篇，英文文献 747 篇。

1.2 纳入与排除标准

- 1.2.1 纳入标准 ①文章内容与细胞外囊泡生物学特性相关的文献；②细胞外囊泡治疗肾病相关的文献，包括急性肾损伤、慢性肾脏病和肾移植研究；③实验方法和数据可信，结果及结论

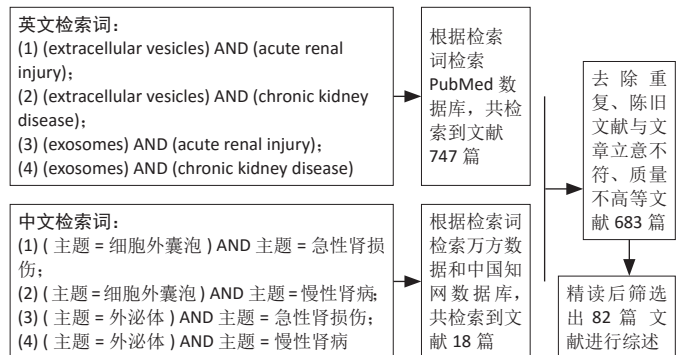


图 1 | 文献检索流程图

可靠，在同一领域选择近期发表或在权威杂志上发表的文章。

1.2.2 排除标准 重复性研究、研究内容不相符及未正式发表的文章。

1.3 数据提取 共检索到文献 765 篇，其中中文文献 18 篇，英文文献 747 篇，排除与研究目的相关性差、内容重复及不相关的文献 683 篇，精读后筛选出 82 篇文献进行综述，中文文献 3 篇，英文文献 79 篇。

2 结果 Results

2.1 细胞外囊泡起源 细胞外囊泡是原核细胞、真核细胞和植物细胞以进化保守的方式释放的膜泡，是细胞间通讯的重要媒介和潜在的治疗性生物活性因子^[10-12]，直径从 40 nm 到 2 000 nm 不等，它们能够将生物活性分子和遗传信息转移到其他靶细胞。追溯细胞外囊泡的起源，最早是在 1946 年，CHARGAFF 和 WEST^[13] 在通过高速离心从血浆中分离凝血蛋白的同时，发现了具有凝结活性的颗粒级成分的存在，从而为生物液中存在细胞外囊泡提供了重要线索。随着超速离心和电子显微镜技术的发展，1967 年，WOLF^[14] 能够可视化血液样本中的细胞外囊泡，他将其描述为血小板衍生的直径和密度不同的微粒结构，并称为“血小板粉尘”。1975 年，DE BROE 等^[15] 通过凝胶过滤、电子显微镜和酶活性测定，可以检测早期胆汁淤积患者血液中肝脏衍生的“koinzymes”，这表明循环的细胞外囊泡可能具有非血液学起源，并且它们的存在可以与疾病相关。1987 年，JOHNSTONE 等^[16] 报道细胞外囊泡是异质性的，具有源自起源细胞的各种活性。这些早期发现表明生物流体中充满了细胞外囊泡，其高度多样化，具有生物活性，得到了广大科研工作者的认可，而且近 10 年有关细胞外囊泡的研究呈迅速增长趋势。脐带间充质干细胞发展历程见图 2。现在已经确定外泌体在细胞间信息传递中扮演重要角色，外泌体可通过受体介导的交互作用直接刺激靶细胞，或通过向靶细胞转移各种生物活性分子发挥其生物学作用^[17-20]。

2.2 细胞外囊泡构成和生物活性 细胞外囊泡可以从大多数细胞和生物液中分离出来，如唾液、尿液、支气管灌洗液、羊水、

精液、母乳、血浆和血清^[21]。国际胞外囊泡协会于2012年成立，并明确了细胞外囊泡分离和表征的方法^[22-23]。基于来源和大小，细胞外囊泡可以分成小、中、大3种亚型^[24]：①外泌体直径40-200 nm，来源于胞内体溶酶体，通过与内体膜融合从多泡体衍生而来，并被释放到细胞外空间^[25]；②微泡直径200-2 000 nm，来源于细胞质膜，通过质膜向外出芽直接释放^[26]；③凋亡小体直径500-2 000 nm，来源于细胞质膜和内质网，是从凋亡细胞质膜的气泡中脱落的^[27]。见表1。

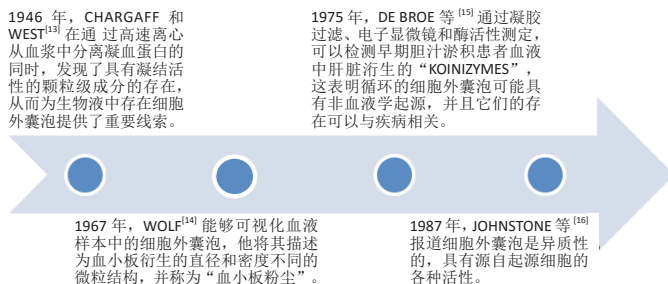


图2 | 脐带间充质干细胞发展历程

表1 | 细胞外囊泡的主要类型

囊泡	直径 (nm)	质量浓度 (g/mL)	来源	标记
外泌体	40-200	1.13-1.18	胞内体	Tetraspanins (CD63, CD9, CD81), Alix, TSG101
微泡	200-2 000	1.16-1.19	细胞质膜	CD40、整合素、选择素
凋亡小体	500-2 000	1.16-1.28	细胞质膜和 内质网	磷脂酰丝氨酸、膜联蛋白 V

细胞外囊泡表达特定细胞表面标记物，如四跨膜蛋白尤其是 CD63、CD81 和 CD9 已被用作外泌体的标志物^[28]，其中外泌体还表达 Rab, GTPase, annexin, flotillin, ESCRT, ALIX, TSG101, VPS4 和热休克蛋白 70, 90 等，微泡表达 CD40 配体和膜联蛋白 A1^[29-30]，而膜联蛋白 V 对凋亡小体具有特异性^[31]。不同类型细胞外囊泡都含有不同形式的脂质，例如甘油二酸酯、磷脂、甘油磷脂、聚甘油磷脂、高含量的胆固醇和鞘脂，这些是细胞外囊泡结构的基础，还含有各种类型的遗传物质，如非编码 RNA、mRNAs、miRNAs 和 DNAs，每种都能够在转录后水平上调靶基因的表达^[32]。与原始细胞相比，细胞外囊泡中 miRNA 的表达可能存在显著差异，说明其存在一个活跃且部分未知的区域。细胞外囊泡可将其同源的生物活性物质转移交换至受体细胞如细胞因子、生长因子、脂质、编码或非编码 RNA 等，从而在细胞的免疫调节、损伤修复、代谢以及细胞信号转导等过程中发挥重要作用。由于细胞外囊泡化学性质比较稳定，且具有选择性组装和靶向性投递的特点，以及修复受损组织的高效安全性，主要应用于组织修复、损伤修复、抗肿瘤及肿瘤疫苗等领域^[33-34]。

2.3 间充质干细胞来源细胞外囊泡与肾组织再生 大量的再生医学证据支持这样的假设，即干细胞通过旁分泌/内分泌方式发挥其治疗作用，而不是通过对损伤组织的直接再分化^[35-36]。这一假设得到了大量体内研究的有力支持，研究结果表明，干细胞的治疗效果是通过分泌生长因子、细胞因子、趋化因子和细胞外囊泡来协调的，见图3。

LIU 等^[37] 研究表明，间充质干细胞条件培养基可抑制细胞凋亡并增强肾小管细胞的增殖，从而促进肾脏修复。间充质干细胞来源细胞外囊泡已被建议作为干细胞疗法的替代品，用于受损器官的再生^[38]，从不同组织的间充质干细胞中分离出细胞外囊泡，如骨髓、脂肪组织、外周血、胎盘、脐带和脐血^[39-40]。与原始细胞相比，使用细胞外囊泡有许多优势，如更高的安全性、更

低的免疫原性和不易发生异常分化^[41-42]。此外，细胞外囊泡具有独特的靶向性和传递功能，它们可以被快速内化到靶细胞中^[43]。

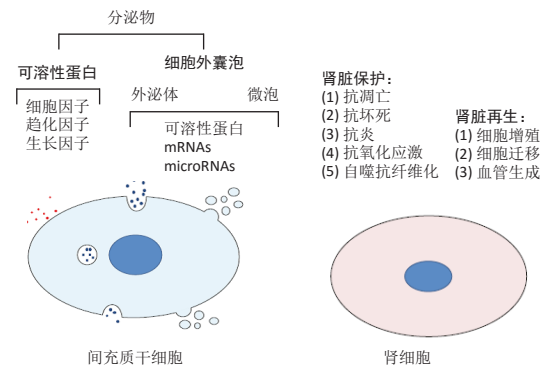


图3 | 间充质干细胞分泌物及其对肾脏疾病的治疗机制

2.3.1 间充质干细胞来源细胞外囊泡与急性肾损伤 临床前研究表明间充质干细胞来源细胞外囊泡在不同急性肾损伤模型中发挥促进组织修复并减少炎症的作用，见表2。急性肾损伤是各种原因引起的肾功能在短时间内急剧地进行性下降而出现的临床综合征，表现为血肌酐和尿素氮迅速升高，水、电解质和酸碱平衡紊乱，以及全身各系统并发症^[44]。许多研究证实了细胞外囊泡在几种急性肾损伤模型中的有益作用，并探索了相关机制。BRUNO 等^[45] 证明在甘油诱导的急性肾损伤小鼠模型中，骨髓间充质干细胞来源细胞外囊泡加速修复受损的肾小管细胞，促进肾小管细胞增殖并保护细胞免于凋亡，骨髓间充质干细胞来源细胞外囊泡可能是通过携带特定的 mRNAs，进而激活损伤后存活肾小管细胞的增殖程序，使受损细胞重新进入细胞周期。骨髓间充质干细胞来源细胞外囊泡也在顺铂和庆大霉素诱导的毒性急性肾损伤模型中进行了验证^[46-47]，其能改善肾功能，降低组织学损害，减轻肾组织纤维化。骨髓间充质干细胞来源细胞外囊泡在肾缺血再灌注损伤模型中也取得了同样的效果^[48-49]。

其他组织间充质干细胞来源细胞外囊泡的作用也在急性肾损伤模型中得到了验证，例如脐带间充质干细胞来源细胞外囊泡促进肾小管细胞去分化和增殖；脐带沃顿胶间充质干细胞来源细胞外囊泡通过线粒体保护方式刺激细胞增殖、减少炎症和细胞凋亡，3D 培养的胎盘间充质干细胞来源细胞外囊泡更有效地抑制细胞凋亡和炎症，改善肾功能^[50-54]；人尿源间充质干细胞来源细胞外囊泡通过加速肾脏恢复，刺激肾小管细胞增殖，减少炎症和损伤标记物的表达，恢复内源性 Klotho 丢失，从而保护肾功能^[55-56]；脂肪间充质干细胞来源细胞外囊泡可逆转肾功能恶化，改善肾脏处于炎症、凋亡和微循环障碍状态^[57-58]。此外，从肾间充质干细胞和人肝干细胞中获得的细胞外囊泡对急性肾损伤也具有保护作用^[59-60]。以上这些数据表明不同组织间充质干细胞来源细胞外囊泡在改善急性肾损伤临床前模型方面有效，针对疾病的多个方面，刺激细胞增殖，减少凋亡、炎症和氧化损伤。

2.3.2 间充质干细胞来源细胞外囊泡与慢性肾病 慢性肾病的发生，最常见的原因是慢性肾炎，这是一种慢性的进行性的肾脏炎症，会导致肾小球、肾小管等肾功能的损伤，进而最终进展到肾衰竭阶段。糖尿病也是引发慢性肾病的主要原因^[61]，高血糖可诱发糖尿病肾病，导致肾小球和肾小管间质纤维化、足细胞损伤/丢失和系膜细胞肥大，纤维化的进展不仅是导致糖尿病肾病肾功能异常的主要原因，也是其他类型慢性肾病肾功能异常的主要原因^[62-63]。在这种情况下，几个研究组研究慢性肾病动物模型中细胞外囊泡剂量、给药时间和给药途径以确定最佳的细胞外囊泡方案，见表3。

表 2 | 来源于不同组织间充质干细胞释放的细胞外囊泡对急性肾损伤模型的疗效

研究者	发表年份	细胞外囊泡来源	急性肾损伤模型诱导方法	实验动物	建模成功标准	结果与结论	应用意义
ZHANG 等 ^[54]	2021	胎盘间充质干细胞	肾缺血再灌注损伤	小鼠	微型动脉夹夹闭双侧肾蒂 45 min, 然后再灌注 72 h, 检测血清肌酐和尿素氮水平确认造模成功	三维培养的人胎盘间充质干细胞来源细胞外囊泡更有利于防止缺血再灌注损伤进展, 改善肾功能	这些发现表明来源于人胎盘间充质干细胞三维培养的细胞外囊泡可能是急性肾损伤一种新的治疗策略
CAO 等 ^[49]	2020	骨髓间充质干细胞	肾缺血再灌注损伤	小鼠	微型动脉夹夹闭肾蒂 50 min, 当观察到右肾颜色从紫色变为红色时, 关闭切口。从眼眶静脉丛采集血样, 检测血清肌酐和尿素氮水平确认造模成功	细胞外囊泡通过激活 Keap1-Nrf2 信号通路保护肾小管上皮细胞免受氧化损伤, 促进肾功能的恢复	为间充质干细胞来源细胞外囊泡临床用于急性肾损伤提供依据
LI 等 ^[55]	2020	尿源间充质干细胞	肾缺血再灌注损伤	大鼠	微型动脉夹夹闭左肾蒂 45 min 恢复再灌注, 通过血清肌酐和血尿素氮水平以及肾脏组织病理学确认造模成功	尿源间充质干细胞可通过外泌体 miR-146a-5p 保护缺血再灌注损伤, 保护肾功能	这些发现为使用尿源间充质干细胞或尿源间充质干细胞来源外泌体治疗急性肾损伤提供了理论基础
GRANGE 等 ^[56]	2020	尿源间充质干细胞	用体积分数 50% 的高渗甘油按 8 ml/kg 后肢肌肉注射建立急性肾损伤模型	小鼠	横纹肌溶解导致急性肾损伤, 血清肌酐和血尿素氮水平升高, 肌肉损伤, 肾间质和肾小管损伤, 肾组织铁沉积	细胞外囊泡加速肾脏恢复, 刺激肾小管细胞增殖, 减少炎症和损伤标记物的表达, 恢复内源性 Klotho 丢失	使用尿源间充质干细胞来源细胞外囊泡可作为肾再生的治疗策略
GAO 等 ^[57]	2020	脂肪间充质干细胞	盲肠结扎穿孔刺	小鼠	模拟脓毒症急性肾损伤, 通过血清肌酐和血尿素氮水平以及肾脏组织病理学确认造模成功	脂肪间充质干细胞衍生的外泌体发挥了肾脏保护作用, 其可能是通过 SIRT1 信号通路发挥作用的	这些发现为使用脂肪间充质干细胞来源外泌体治疗脓毒症急性肾损伤提供了理论基础
LEE 等 ^[58]	2020	脂肪间充质干细胞	腹腔注射顺铂 (10 mg/kg)	大鼠	通过血清肌酐和血尿素氮水平以及肾脏组织病理学确认造模成功	脂肪间充质干细胞来源外泌体对顺铂诱导的大鼠肾损伤模型具有显著治疗效果	使用正切流动过滤方法可重复大规模生产外泌体, 有望成为急性肾损伤的一种治疗措施
邹翔宇 ^[52]	2017	脐带间充质干细胞	肾缺血再灌注损伤	大鼠	脾脏切除, 一侧肾切, 一侧肾脏缺血再灌注损伤, 观察肾脏颜色变化, 确认缺血情况	细胞外囊泡通过下调缺血再灌注损伤早期肾脏中 NK 细胞的浸润以及促进受损肾脏晚期血管的再生, 发挥对缺血损伤肾脏的保护作用	为以后细胞外囊泡替代细胞进行肾损伤修复干预提供了理论依据
CHOI 等 ^[59]	2014	肾间充质干细胞	肾缺血再灌注损伤	小鼠	微型动脉夹夹闭双侧肾蒂 30 min 后, 松开钳夹, 目测确认再灌注	肾间充质干细胞衍生的细胞外囊泡可通过促血管生成信号在缺血肾脏中发挥肾保护作用	肾间充质干细胞衍生的细胞外囊泡在未可能具有治疗急性肾损伤的潜力
HERRERA SANCHEZ 等 ^[60]	2014	肝脏间充质干细胞	用体积分数 50% 的高渗甘油按 8 ml/kg 后肢肌肉注射建立急性肾损伤模型	小鼠	甘油引起肌溶解和溶血, 从而大量的肌红蛋白和血红蛋白释放出来。注射甘油后第 3 天出现肾小管损伤高峰	细胞外囊泡是人肝干细胞条件培养基的主要成分, 能够促进实验性急性肾损伤的肾再生	肝脏间充质干细胞衍生的细胞外囊泡在未来可能具有治疗急性肾损伤的潜力
徐会涛 ^[51]	2012	脐带间充质干细胞	腹腔注射顺铂 (6 mg/kg)	大鼠	通过静脉采血方式收集血清, 并获取大鼠肾脏组织, 血清肌酐和血尿素氮水平以及肾脏组织病理学确认造模成功	人脐带间充质干细胞来源的细胞外囊泡可促进大鼠急性肾损伤的修复	有助于为急性肾损伤的有效治疗和肾损伤的修复等提供新的实验模型和依据, 为临床治疗肾脏疾病开辟一条新的方向

表 3 | 来源于不同组织间充质干细胞释放的细胞外囊泡对慢性肾病模型的疗效

研究者	发表年份	细胞外囊泡来源	慢性肾病模型诱导方法	实验动物	建模成功标准	结果与结论	应用意义
CHOI 等 ^[69]	2021	肾源间充质干细胞	电凝右肾皮质和左肾切除	小鼠	在第 2 次手术后 6 周, 与正常和假手术对照组比较, 模型小鼠血清尿素和肌酐水平相应升高, 达到预期的高磷血症、高钾血症和酸中毒, 胆固醇水平显著增加。此外, 与对照组相比, 模型小鼠产生大量蛋白尿, 贫血明显, 存在严重的继发性甲状旁腺功能亢进, 呈现出与临床观察到的终末期肾病一致的特征	将促红细胞生成素 (+) 细胞外囊泡注射到患有肾性贫血的慢性肾病小鼠体内 2 周后, 观察到血红蛋白水平显著升高, 8 周时血清肌酐水平显著降低, 进而改善肾功能	促红细胞生成素 (+) 细胞外囊泡是治疗慢性肾病的一种潜在治疗策略
WANG 等 ^[66]	2020	骨髓间充质干细胞	用 4-0 号丝线结扎左侧输尿管制备单侧输尿管梗阻模型	大鼠	术后第 7, 14 天, 观察到血清尿素和肌酐水平显著升高。肾组织的组织学变化包括肾小管扩张、凋亡、坏死以及肾小管中存在蛋白样表型	大鼠骨髓间充质干细胞来源细胞外囊泡明显减轻单侧输尿管梗阻诱导的老年大鼠肾损伤	骨髓间充质干细胞来源细胞外囊泡中 miR-294/miR-133 可能对老年人的肾纤维化和相关肾功能障碍具有治疗作用
陈晶等 ^[68]	2020	脂肪间充质干细胞	采用手术的方法, 切除 SD 大鼠的左侧肾, 然后术后给予高糖高脂饮食, 加用 30 mg/kg 的链脲佐菌素制备 2 型糖尿病肾病模型	大鼠	通过检测大鼠的血糖、血脂、尿蛋白和肾功能等指标确定造模成功	脂肪间充质干细胞来源外泌体通过抑制细胞凋亡和系膜组织增生起到保护肾功能的作用	脂肪间充质干细胞来源外泌体为临床上糖尿病肾病的治疗提供新的思路和方法
KHOLIA 等 ^[67]	2018	肝脏间充质干细胞	腹腔注射 4 mg/kg 马兜铃酸, 每周 1 次, 持续 4 周	小鼠	血清尿素和肌酐水平显著升高, 近端肾小管上皮弥漫性变性、透明管型和肾小管坏死	人肝干细胞衍生的细胞外囊泡治疗在慢性肾病中发挥再生作用	这些发现可能促进在慢性肾病中人肝干细胞衍生的细胞外囊泡的新治疗策略的发展
JIANG 等 ^[64]	2016	尿源间充质干细胞	单次腹腔注射链脲佐菌素 (65 mg/kg) 诱导 1 型糖尿病	大鼠	链脲佐菌素注射 72 h 后, 连续 3 d 血糖值 ≥ 16.7 mmol/L, 符合糖尿病标准。糖尿病模型建立 12 周后, 与正常大鼠相比, 量蛋白排泄, 防止足细胞和肾小管上皮细胞凋亡, 抑制 caspase-3 过度表达, 增加肾小管内皮细胞增殖系膜扩张	静脉注射尿源间充质干细胞外泌体可能减少糖尿病大鼠的尿量和尿蛋白量, 防止足细胞和肾小管上皮细胞凋亡, 抑制 caspase-3 过度表达, 增加肾小管内皮细胞增殖	尿源间充质干细胞外泌体可能通过抑制足细胞凋亡, 促进血管再生和细胞存活, 从而预防糖尿病肾损伤
NAGAISHI 等 ^[65]	2016	骨髓间充质干细胞	单次腹腔注射链脲佐菌素 (150 mg/kg) 诱导 2 型糖尿病	小鼠	采集尾静脉血, 监测血糖值成功建立了糖尿病模型, 喂饲高脂饮食 28 周, 与对照组相比, 糖尿病模型组小鼠尿液中白蛋白和肌酐水平显著升高, 有显著肾病理改变	骨髓间充质干细胞条件培养基能改善蛋白尿症状, 促炎细胞因子表达和肾小管间质纤维化受到抑制, 抑制肾小管上皮细胞从上皮向间充质的转化, 还具有抗凋亡作用, 并保护肾小管上皮细胞的紧密连接结构	这些发现骨髓间充质干细胞条件培养基是一种很有希望的治疗方法, 通过旁分泌作用来预防糖尿病肾病

在链脲佐菌素注射液诱导的糖尿病肾病大鼠模型中,尿间充质干细胞来源细胞外囊泡通过抑制细胞凋亡有效预防慢性肾病进展,尿间充质干细胞来源细胞外囊泡携带转化生长因子 $\beta 1$ 、血管生成素和骨形态发生蛋白7发挥肾脏保护作用^[64]。骨髓间充质干细胞来源细胞外囊泡已被证明可有效逆转慢性肾病模型的肾纤维化,细胞外囊泡中包含一系列抗纤维化 miRNAs,能够下调促纤维化基因,促进肾功能恢复^[65-66]。在马兜铃酸诱导的慢性肾病模型中多次注射肝脏间充质干细胞来源细胞外囊泡也获得了类似的阳性结果^[67]。慢性肾病的其他体内模型包括外科手术切除5/6肾组织以及输尿管梗阻会导致肾小球硬化和纤维化。在慢性肾病模型中,注射脂肪间充质干细胞来源细胞外囊泡可预防肾功能衰竭,减缓肾功能恶化^[68]。在电凝右肾皮质和左肾切除建立小鼠慢性肾病和肾性贫血模型中,腹腔注射分泌促红细胞生成素的肾间充质干细胞来源细胞外囊泡可显著提高小鼠的血红蛋白水平和肾功能^[69]。间充质干细胞来源细胞外囊泡在急性和慢性肾病模型中的相关临床前数据令人鼓舞,可进行进一步临床研究。

2.3.3 间充质干细胞来源细胞外囊泡与肾移植 肾移植能显著改善终末期肾病患者的生活质量,然而,慢性移植肾肾病是导致移植肾晚期功能丧失的最主要原因,是影响移植肾长期存活的重要因素。间充质干细胞和间充质干细胞来源细胞外囊泡预处理肾脏可以减少缺血再灌注损伤和慢性移植肾肾病引起的组织损伤。有研究人员评估了在低温机械灌注期间应用间充质干细胞来源细胞外囊泡是否能保护大鼠心脏死亡后肾脏免受缺血损伤,并研究了潜在的致病机制,结果显示热缺血离体肾脏冷灌注(4 h)期间加入含间充质干细胞来源细胞外囊泡的 Belzer 溶液,通过上调参与能量代谢的酶活性保护肾脏免受缺血再灌注损伤^[70]。这种方法被越来越多地应用到移植前移植器官的冷灌注中。还有研究表明,肾移植后立即给予人脐带沃顿胶间充质干细胞来源细胞外囊泡可改善急性期和慢性期的缺血再灌注损伤^[71]。

2.4 间充质干细胞来源细胞外囊泡临床试验 将细胞外囊泡疗法转化为临床实践需要弄清几个关键问题。首先,确定细胞外囊泡分离和存储的最佳方案;其次,确定每批细胞外囊泡功效的一致性。事实上,大多数已批准的关于细胞外囊泡使用的临床试验(www.clinicaltrials.gov)侧重于诊断的目的。目前有关间充质干细胞来源细胞外囊泡治疗用途的临床试验不多,Sengupta 团队设计了骨髓间充质干细胞源性细胞外囊泡输注治疗新冠肺炎相关急性呼吸窘迫综合征的临床试验(注册号:NCT04657458, NCT04493242),这两项试验均使用了骨髓间充质干细胞分离的细胞外囊泡,纳入重度 COVID-19 以及中重度急性呼吸窘迫综合征患者,接受 14 d 骨髓间充质干细胞源性细胞外囊泡治疗,单次静脉注射 15 mL,总体而言,在经过一次治疗后,患者的临床状况和氧合情况有所改善,减轻了细胞因子风暴和重建了免疫功能,还需要未来的随机对照试验来确定其的治疗潜力。美国科罗拉多大学医院重点研究静脉输注骨髓间充质干细胞源性细胞外小泡(UNE-42)治疗高危支气管肺炎发育不良早产儿的安全性和有效性(注册号:NCT03857841)。一项伊朗批准的临床试验用含有 miR-124 的间充质干细胞源性外泌体治疗急性缺血性卒中(注册号:NCT03384433)。还有一项研究招募了 20 例慢性肾病患者,研究结果已经发表^[72],作者观察到服用脐血间充质干细胞来源细胞外囊泡(2 剂,每剂 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$)1 年后,患者的肾功能得到了改善,主要表现在肾小球滤过功能、蛋白尿和尿素氮等方面;此外,细胞外囊泡显示出抗炎活性,降低肿瘤坏死因子 α 水平并增加白细胞介素 10 水平。以上临床研究结果表明间充质干细胞来源细胞外囊泡治疗的可行性和有效性。

2.5 细胞外囊泡工程和未来战略 通过工程技术提高细胞外囊泡的疗效将成为未来研究的重点。细胞外囊泡的天然来源以及它们的球体形状和承载能力使其成为有效负载治疗分子的理想选择^[73]。负载促再生分子或特定药物的细胞外囊泡疗法目前正受到越来越多的关注^[74]。通过增加细胞外囊泡内已存在的活性分子(蛋白或 RNAs)水平来增强其治疗作用,或通过改变表面分子的组成来改变其稳定性,递送治疗性 RNAs 策略具有极好的应用潜力和广泛的适用性^[75];然而,极性 RNA 分子被细胞外核糖核酸酶快速消化,合成纳米颗粒的使用也受到了一些限制^[76]。目前,将具有治疗作用的 RNA 装载在细胞外囊泡中的方法主要有孵育、电穿孔、超声波和冷冻/解冻循环等,这些方法都不会严重损害细胞外囊泡结构和功能^[77-78]。例如 POMATTO 等^[79]通过电穿孔将外源性遗传物质小 RNAs 或 miRNAs 添加到细胞外囊泡中,确定了最佳方案是 750 V 和 10 个脉冲,这个方案 RNA 负载率最高,且不会对细胞外囊泡造成严重损害。TAO 等^[80]将 Lnc-RNA-H19 转染到纳米细胞外囊泡中能够建立一种促进糖尿病患者伤口愈合的有效药物递送系统。上述所有方法均可组合使用,以提高最终负载效率。应用 CRISPR/Cas 技术对基因组进行修饰是通过电穿孔将其插入细胞外囊泡的一种新的潜在方法^[81],单独应用 CRISPR 或 Cas 技术传递效率较低。

另外,基于对细胞外囊泡原始细胞的改造,从而使分离的细胞外囊泡已经表达所需分子。在单侧输尿管梗阻的体内模型中证明,经基因工程技术修饰的间充质干细胞过度表达 let-7i-5p,这些间充质干细胞选择性定位于受损肾脏,间充质干细胞来源外泌体能够选择性地令 let-7i-5p 转移到受损肾细胞,从而产生抗纤维化功能^[82]。

3 讨论 Discussion

3.1 既往他人该领域研究的贡献和存在的问题 细胞外囊泡作为细胞间信息传递和物质转运的载体,发挥了广泛的生物学活性功能。尽管已经发现间充质干细胞来源细胞外囊泡在肾小管上皮细胞增殖和修复中起重要的作用,但是大部分工作尚停留在科研阶段。目前已知的细胞外囊泡分离和表征方法在标准化、效应持续时间等方面还存在挑战,尚无一种策略能够提取高浓度、高纯度的外泌体,意味着在广泛采用细胞外囊泡这种疗法之前需要克服临床领域的许多重要障碍。

3.2 作者综述区别于他人他篇的特点 这篇综述主要检索 10 年来不同间充质干细胞来源细胞外囊泡在肾损伤领域的相关文献,重点阐述了间充质干细胞衍生的细胞外囊泡疗法在急性和慢性肾损伤临床前模型中的治疗作用,在基础实验研究中,细胞外囊泡调控炎症、氧化应激、细胞凋亡、纤维化和血管生成等与肾脏结构、功能保护作用有关。另外,还分析了间充质干细胞来源细胞外囊泡应用到肾移植前移植器官的冷灌注中的最新数据,发现在低温机械灌注期间应用间充质干细胞来源细胞外囊泡能保护大鼠心脏死亡后肾脏免受缺血损伤,还发现在肾移植后立即给予间充质干细胞来源细胞外囊泡可改善急性期和慢性期的缺血再灌注损伤。此外,讨论了提高细胞外囊泡治疗效果的新工程策略,通过工程技术提高细胞外囊泡的疗效将成为未来研究的重点。

3.3 综述的局限性 文章仅针对间充质干细胞来源细胞外囊泡应用于急性肾损伤和慢性肾病的效果进行讨论,未能全面深入其作用机制及涉及的信号通路,这在未来研究中将深入讨论。

3.4 综述的重要意义 使用细胞外囊泡尤其是间充质干细胞来源细胞外囊泡治疗急性肾损伤和慢性肾病的研究数量不断增加。细胞外囊泡是一种有希望的促进肾组织修复方法,其治疗效果

已在大量不同的实验模型中得到证实。基于正在进行的和未来的临床试验，间充质干细胞来源细胞外囊泡将为临床肾病修复带来新的希望。

3.5 课题专家组对未来的建议 间充质干细胞来源细胞外囊泡为肾损伤的治疗提供一种新的思路。尽管基础研究有广泛的研究和应用前景，但将其用于临床实践之前仍有大量的实验工作要做。间充质干细胞来源细胞外囊泡传递其内的 miRNAs 被认为是减轻肾损伤的重要内在机制，然而具体发挥作用的 miRNAs 仍然未知，未来可以进行基于 miRNAs 相关研究，将有助于阐明间充质干细胞来源细胞外囊泡在肾损伤中的治疗作用，以发现治疗肾损伤的潜在靶点，使其更好地应用于临床治疗。

作者贡献：文章设计和审校者为张琳琪。资料收集者为李清茹、陈旭、石若玉及王希茜。数据分析和撰写论文者为李清茹。

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。

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。

版权转让：文章出版前全体作者与编辑部签署了文章版权转让协议。

出版规范：文章撰写遵循《系统综述和荟萃分析报告规范》(PRISMA 声明)，出版前经过专业反剽窃文献检测系统进行 3 次文字和图表查重，经小同行外审专家双盲审稿，同行评议认为符合期刊发稿宗旨。

4 参考文献 References

[1] AL-JEFRI M, LEE J, JAMES M. Predicting acute kidney injury after surgery. *Annu Int Conf IEEE Eng Med Biol Soc.* 2020;2020:5606-5609.

[2] HOSTE EAJ, KELLUM JA, SELBY NM, et al. Global epidemiology and outcomes of acute kidney injury. *Nat Rev Nephrol.* 2018;14(10):607-625.

[3] SAEEDI P, PETERSOHN I, ALPEA P, et al. Global and regional diabetes prevalence estimates for 2019 and projections for 2030 and 2045: Results from the International Diabetes Federation Diabetes Atlas, 9(th) edition. *Diabetes Res Clin Pract.* 2019;157:107843.

[4] SAEEDI A, BAGHESTANI A, HASHEMI-NAZARI SS, et al. Prediction of mortality incidence in patients with chronic kidney disease based on influential prognostic factors with competing risks approach. *Galen Med J.* 2020;9:e1798.

[5] LI JS, LI B. Renal injury repair: how about the role of stem cells. *Adv Exp Med Biol.* 2019;1165:661-670.

[6] MIANEHSAZ E, MIRZAEI HR, MAHJOUBIN-TEHRAN M, et al. Mesenchymal stem cell-derived exosomes: a new therapeutic approach to osteoarthritis? *Stem Cell Res Ther.* 2019;10(1):340.

[7] MENDT M, REZVANI K, SHPALL E. Mesenchymal stem cell-derived exosomes for clinical use. *Bone Marrow Transplant.* 2019;54(Suppl 2): 789-792.

[8] XUNIAN Z, KALLURI R. Biology and therapeutic potential of mesenchymal stem cell-derived exosomes. *Cancer Sci.* 2020;111(9): 3100-3110.

[9] NIKFARJAM S, REZAEI J, ZOLBANIN NM, et al. Mesenchymal stem cell derived-exosomes: a modern approach in translational medicine. *J Transl Med.* 2020;18(1):449.

[10] ELSHARKASY OM, NORDIN JZ, HAGEY DW, et al. Extracellular vesicles as drug delivery systems: Why and how? *Adv Drug Deliv Rev.* 2020;159: 332-343.

[11] SHAH R, PATEL T, FREEDMAN JE. Circulating extracellular vesicles in human disease. *N Engl J Med.* 2018;379(10):958-966.

[12] VINAIPHAT A, SZE SK. Advances in extracellular vesicles analysis. *Adv Clin Chem.* 2020;97:73-116.

[13] CHARGAFF E, WEST R. The biological significance of the thromboplast protein of blood. *J Biol Chem.* 1946;166(1):189-197.

[14] WOLF P. The nature and significance of platelet products in human plasma. *Br J Haematol.* 1967;13(3):269-288.

[15] DE BROE ME, BORGERS M, WIEME RJ. The separation and characterization of liver plasma membrane fragments circulating in the blood of patients with cholestasis. *Clin Chim Acta.* 1975;59(3):369-372.

[16] JOHNSTONE RM, ADAM M, HAMMOND JR, et al. Vesicle formation during reticulocyte maturation. Association of plasma membrane activities with released vesicles (exosomes). *J Biol Chem.* 1987;262(19): 9412-9420.

[17] HADE MD, SUIRE CN, SUO Z. Mesenchymal stem cell-derived exosomes: applications in regenerative medicine. *Cells.* 2021;10(8):1959.

[18] LI YJ, WU JY, WANG JM, et al. Emerging strategies for labeling and tracking of extracellular vesicles. *J Control Release.* 2020;328:141-159.

[19] BIDARIMATH M, LINGEGOWDA H, MILLER JE, et al. Insights into extracellular vesicle/exosome and mirna mediated bi-directional communication during porcine pregnancy. *Front Vet Sci.* 2021;8: 654064.

[20] HEO JS, LIM JY, YOON DW, et al. Exosome and melatonin additively attenuates inflammation by Transferring miR-34a, miR-124, and miR-135b. *Biomed Res Int.* 2020;2020:1621394.

[21] KELLER S, RIDINGER J, RUPP AK, et al. Body fluid derived exosomes as a novel template for clinical diagnostics. *J Transl Med.* 2011;9:86.

[22] RUSSELL AE, SNEIDER A, WITWER KW, et al. Biological membranes in EV biogenesis, stability, uptake, and cargo transfer: an ISEV position paper arising from the ISEV membranes and EVs workshop. *J Extracell Vesicles.* 2019;8(1):1684862.

[23] SOEKMADJI C, LI B, HUANG Y, et al. The future of Extracellular Vesicles as Theranostics-an ISEV meeting report. *J Extracell Vesicles.* 2020;9(1): 1809766.

[24] RAPOSO G, STOORVOGEL W. Extracellular vesicles: exosomes, microvesicles, and friends. *J Cell Biol.* 2013;200(4):373-383.

[25] LOPEZ-VERILLI MA, COURT FA. Exosomes: mediators of communication in eukaryotes. *Biol Res.* 2013;46(1):5-11.

[26] LABERGE A, ARIF S, MOULIN VJ. Microvesicles: intercellular messengers in cutaneous wound healing. *J Cell Physiol.* 2018;233(8):5550-5563.

[27] XU X, LAI Y, HUA ZC. Apoptosis and apoptotic body: disease message and therapeutic target potentials. *Biosci Rep.* 2019;39(1):BSR20180992.

[28] SALUNKHE S, DHEERAJ, BASAK M, et al. Surface functionalization of exosomes for target-specific delivery and in vivo imaging & tracking: strategies and significance. *J Control Release.* 2020;326:599-614.

[29] HA D, YANG N, NADITHE V. Exosomes as therapeutic drug carriers and delivery vehicles across biological membranes: current perspectives and future challenges. *Acta Pharm Sin B.* 2016;6(4):287-296.

[30] RAULF N, LUCARELLI P, THAVARAJ S, et al. Annexin A1 regulates EGFR activity and alters EGFR-containing tumour-derived exosomes in head and neck cancers. *Eur J Cancer.* 2018;102:52-68.

[31] RIEGER AM, NELSON KL, KONOWALCHUK JD, et al. Modified annexin V/propidium iodide apoptosis assay for accurate assessment of cell death. *J Vis Exp.* 2011;(50):2597.

[32] DENG H, SUN C, SUN Y, et al. Lipid, Protein, and microRNA composition within mesenchymal stem cell-derived exosomes. *Cell Reprogram.* 2018;20(3):178-186.

[33] OSTI D, DEL BENE M, RAPPA G, et al. Clinical significance of extracellular vesicles in plasma from glioblastoma patients. *Clin Cancer Res.* 2019; 25(1):266-276.

[34] BHATTA B, COOKS T. Reshaping the tumor microenvironment: extracellular vesicles as messengers of cancer cells. *Carcinogenesis.* 2020;41(11):1461-1470.

[35] QIN ZH, XU JF, QU JM, et al. Intraleural delivery of MSCs attenuates acute lung injury by paracrine/endocrine mechanism. *J Cell Mol Med.* 2012;16(11):2745-2753.

[36] CAMUSSI G, DEREGIBUS MC, TETTA C. Paracrine/endocrine mechanism of stem cells on kidney repair: role of microvesicle-mediated transfer of genetic information. *Curr Opin Nephrol Hypertens.* 2010;19(1):7-12.

[37] LIU B, DING FX, LIU Y, et al. Human umbilical cord-derived mesenchymal stem cells conditioned medium attenuate interstitial fibrosis and stimulate the repair of tubular epithelial cells in an irreversible model of unilateral ureteral obstruction. *Nephrology (Carlton).* 2018;23(8):728-736.

[38] MA Y, DONG L, ZHOU D, et al. Extracellular vesicles from human umbilical cord mesenchymal stem cells improve nerve regeneration after sciatic nerve transection in rats. *J Cell Mol Med.* 2019;23(4): 2822-2835.

- [39] XU H, WANG Z, LIU L, et al. Exosomes derived from adipose tissue, bone marrow, and umbilical cord blood for cardioprotection after myocardial infarction. *J Cell Biochem*. 2020;121(3):2089-2102.
- [40] WANG ZG, HE ZY, LIANG S, et al. Comprehensive proteomic analysis of exosomes derived from human bone marrow, adipose tissue, and umbilical cord mesenchymal stem cells. *Stem Cell Res Ther*. 2020; 11(1):511.
- [41] BÖRGER V, BREMER M, FERRER-TUR R, et al. Mesenchymal stem/stromal cell-derived extracellular vesicles and their potential as novel immunomodulatory therapeutic agents. *Int J Mol Sci*. 2017;18(7):1450.
- [42] LAI RC, TAN SS, TEH BJ, et al. Proteolytic potential of the MSC exosome proteome: implications for an exosome-mediated delivery of therapeutic proteasome. *Int J Proteomics*. 2012;2012:971907.
- [43] BURGOS-RAVANAL R, CAMPOS A, DÍAZ-VESGA MC, et al. Extracellular vesicles as mediators of cancer disease and as nanosystems in theranostic applications. *Cancers (Basel)*. 2021;13(13):3324.
- [44] LEVEY AS, JAMES MT. Acute kidney injury. *Ann Intern Med*. 2017;167(9): ITC66-ITC80.
- [45] BRUNO S, GRANGE C, DEREGIBUS MC, et al. Mesenchymal stem cell-derived microvesicles protect against acute tubular injury. *J Am Soc Nephrol*. 2009;20(5):1053-1067.
- [46] REIS LA, BORGES FT, SIMÕES MJ, et al. Bone marrow-derived mesenchymal stem cells repaired but did not prevent gentamicin-induced acute kidney injury through paracrine effects in rats. *PLoS One*. 2012;7(9):e44092.
- [47] BRUNO S, GRANGE C, COLLINO F, et al. Microvesicles derived from mesenchymal stem cells enhance survival in a lethal model of acute kidney injury. *PLoS One*. 2012;7(3):e33115.
- [48] ZHU G, PEI L, LIN F, et al. Exosomes from human-bone-marrow-derived mesenchymal stem cells protect against renal ischemia/reperfusion injury via transferring miR-199a-3p. *J Cell Physiol*. 2019;234(12): 23736-23749.
- [49] CAO H, CHENG Y, GAO H, et al. In vivo tracking of mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles improving mitochondrial function in renal ischemia-reperfusion injury. *ACS Nano*. 2020;14(4):4014-4026.
- [50] ZHANG ZY, HOU YP, ZOU XY, et al. Oct-4 enhanced the therapeutic effects of mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles in acute kidney injury. *Kidney Blood Press Res*. 2020;45(1):95-108.
- [51] 徐会涛. 脐带间质干细胞来源的囊泡对顺铂诱导的急性肾损伤修复的实验研究 [D]. 镇江: 江苏大学, 2012.
- [52] 邹翔宇. 细胞外囊泡减轻大鼠缺血再灌注肾损伤的实验研究 [D]. 上海: 上海交通大学, 2017.
- [53] KILPINEN L, IMPOLA U, SANKKILA L, et al. Extracellular membrane vesicles from umbilical cord blood-derived MSC protect against ischemic acute kidney injury, a feature that is lost after inflammatory conditioning. *J Extracell Vesicles*. 2013. doi: 10.3402/jev.v2i0.21927.
- [54] ZHANG X, WANG N, HUANG Y, et al. Extracellular vesicles from three dimensional culture of human placental mesenchymal stem cells ameliorated renal ischemia/reperfusion injury. *Int J Artif Organs*. 2021. doi: 10.1177/0391398820986809.
- [55] LI X, LIAO J, SU X, et al. Human urine-derived stem cells protect against renal ischemia/reperfusion injury in a rat model via exosomal miR-146a-5p which targets IRAK1. *Theranostics*. 2020;10(21):9561-9578.
- [56] GRANGE C, PAPADIMITRIOU E, DIMUCCIO V, et al. Urinary extracellular vesicles carrying klotho improve the recovery of renal function in an acute tubular injury model. *Mol Ther*. 2020;28(2):490-502.
- [57] GAO F, ZUO B, WANG Y, et al. Protective function of exosomes from adipose tissue-derived mesenchymal stem cells in acute kidney injury through SIRT1 pathway. *Life Sci*. 2020;255:117719.
- [58] LEE JH, HA DH, GO HK, et al. Reproducible large-scale isolation of exosomes from adipose tissue-derived mesenchymal stem/stromal cells and their application in acute kidney injury. *Int J Mol Sci*. 2020; 21(13):4774.
- [59] CHOI HY, MOON SJ, RATLIFF BB, et al. Microparticles from kidney-derived mesenchymal stem cells act as carriers of proangiogenic signals and contribute to recovery from acute kidney injury. *PLoS One*. 2014;9(2):e87853.
- [60] HERRERA SANCHEZ MB, BRUNO S, GRANGE C, et al. Human liver stem cells and derived extracellular vesicles improve recovery in a murine model of acute kidney injury. *Stem Cell Res Ther*. 2014;5(6):1639.
- [61] GARLA V, KANDURI S, YANES-CARDOZO L, et al. Management of diabetes mellitus in chronic kidney disease. *Minerva Endocrinol*. 2019; 44(3):273-287.
- [62] BUYADAA O, MAGLIANO DJ, SALIM A, et al. Risk of rapid kidney function decline, all-cause mortality, and major cardiovascular events in nonalbuminuric chronic kidney disease in type 2 diabetes. *Diabetes Care*. 2020;43(1):122-129.
- [63] STEPHENS JW, BROWN KE, MIN T. Chronic kidney disease in type 2 diabetes: Implications for managing glycaemic control, cardiovascular and renal risk. *Diabetes Obes Metab*. 2020;22 Suppl 1:32-45.
- [64] JIANG ZZ, LIU YM, NIU X, et al. Exosomes secreted by human urine-derived stem cells could prevent kidney complications from type I diabetes in rats. *Stem Cell Res Ther*. 2016;7:24.
- [65] 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.
- [66] WANG Y, GUO YF, FU GP, et al. Protective effect of miRNA-containing extracellular vesicles derived from mesenchymal stromal cells of old rats on renal function in chronic kidney disease. *Stem Cell Res Ther*. 2020;11(1):274.
- [67] KHOLIA S, HERRERA SANCHEZ MB, CEDRINO M, et al. Human liver stem cell-derived extracellular vesicles prevent aristolochic acid-induced kidney fibrosis. *Front Immunol*. 2018;9:1639.
- [68] 陈晶, 刘清岩, 张海宁, 等. 脂肪干细胞来源的外泌体对 2 型糖尿病肾病大鼠的保护作用 [J]. *解剖科学进展*, 2020,26(4):369-373.
- [69] CHOI HY, KIM TY, LEE M, et al. Kidney mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles engineered to express erythropoietin improve renal anemia in mice with chronic kidney disease. *Stem Cell Rev Rep*. 2021. doi: 10.1007/s12015-021-10141-x.
- [70] GREGORINI M, CORRADETTI V, PATTONIERI EF, et al. Perfusion of isolated rat kidney with mesenchymal stromal cells/extracellular vesicles prevents ischaemic injury. *J Cell Mol Med*. 2017;21(12):3381-3393.
- [71] WU X, YAN T, WANG Z, et al. Micro-vesicles derived from human Wharton's Jelly mesenchymal stromal cells mitigate renal ischemia-reperfusion injury in rats after cardiac death renal transplantation. *J Cell Biochem*. 2018;119(2):1879-1888.
- [72] NASSAR W, EL-ANSARY M, SABRY D, et al. Umbilical cord mesenchymal stem cells derived extracellular vesicles can safely ameliorate the progression of chronic kidney diseases. *Biomater Res*. 2016;20:21.
- [73] DOOLEY K, MCCONNELL RE, XU K, et al. A versatile platform for generating engineered extracellular vesicles with defined therapeutic properties. *Mol Ther*. 2021;29(5):1729-1743.
- [74] LAMICHHANE TN, JAY SM. Production of extracellular vesicles loaded with therapeutic cargo. *Methods Mol Biol*. 2018;1831:37-47.
- [75] MELLING GE, CAROLLO E, CONLON R, et al. The challenges and possibilities of extracellular vesicles as therapeutic vehicles. *Eur J Pharm Biopharm*. 2019;144:50-56.
- [76] VAN DER MEEL R, FENS MH, VADER P, et al. Extracellular vesicles as drug delivery systems: lessons from the liposome field. *J Control Release*. 2014;195:72-85.
- [77] O'BRIEN K, BREYNE K, UGHETTO S, et al. RNA delivery by extracellular vesicles in mammalian cells and its applications. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2020;21(10):585-606.
- [78] NASIRI KENARI A, CHENG L, HILL AF. Methods for loading therapeutics into extracellular vesicles and generating extracellular vesicles mimetic-nanovesicles. *Methods*. 2020;177:103-113.
- [79] POMATTO MAC, BUSSOLATI B, D'ANTICO S, et al. Improved loading of plasma-derived extracellular vesicles to encapsulate antitumor miRNAs. *Mol Ther Methods Clin Dev*. 2019;13:133-144.
- [80] TAO SC, RUI BY, WANG QY, et al. Extracellular vesicle-mimetic nanovesicles transport LncRNA-H19 as competing endogenous RNA for the treatment of diabetic wounds. *Drug Deliv*. 2018;25(1):241-255.
- [81] LAINŠČEK D, KADUNC L, KEBER MM, et al. Delivery of an artificial transcription regulator dcas9-vpr by extracellular vesicles for therapeutic gene activation. *ACS Synth Biol*. 2018;7(12):2715-2725.
- [82] JIN J, QIAN F, ZHENG D, et al. Mesenchymal stem cells attenuate renal fibrosis via exosomes-mediated delivery of microRNA Let-7i-5p antagomir. *Int J Nanomedicine*. 2021;16:3565-3578.

(责任编辑: WJ, ZN, ZH)