



·综述·

细胞外囊泡在肾脏病治疗中的研究进展

吴伟君 封晔 刘必成 吕林莉

细胞外囊泡(extracellular vesicles, EVs)基于其生物产生方式,主要分为3类:外泌体(exosome)、微囊泡(microvesicle)和凋亡小体(apoptotic body)。EVs最初发现时被认为是不具有生物学意义的细胞碎片或垃圾袋,然而近年的研究发现,EVs在多种生理和病理过程中发挥着至关重要的作用。EVs的内容物包括蛋白、脂质、核酸以及来自于亲代细胞的膜受体。EVs被释放进入细胞外空间可以进入体液并能够到达远处的组织。一旦被邻近和/或远处细胞摄取,EVs可以转运具有功能的内容物并可能改变受体细胞的状态,继而导致机体生理和病理进程的发展。EVs这种转移内容物的特征,近年来被发现可以用于疾病多种治疗方法的新型载体;此外,EVs作为天然的纳米级膜囊泡,还可以通过修饰装配,作为基因、药物的载体,参与疾病的治疗。由于肿瘤、炎症性慢性疾病等所带来的沉重负担,且缺乏有效的治疗方法,EVs作为一种新型的治疗策略正引起学者们的关注。

本文将从EVs作为疾病治疗载体的作用机制,及其在促进组织损伤修复、调节免疫反应和作为基因、药物载体等方面,阐述EVs作为疾病治疗载体的最新进展,尤其是在肾脏疾病治疗中的研究现状,并探讨EVs作为未来疾病治疗载体的前景和挑战。

一、EVs在疾病治疗中的作用机制

1. EVs被受体细胞摄取的机制:EVs释放和摄取的数目取决于供体和受体细胞的类型、生理状态以及微环境^[1-3]。EVs与细胞膜的融合、细胞内吞是受体细胞摄取EVs的主要机制^[1, 4]。具有吞噬细胞表型的细胞(RAW 264.7、U937、J774A.1巨噬细胞)内化EVs后在吞噬体中可发现EVs存在。EVs在细胞间交换也可能依赖于其表面蛋白的作用^[5]。蛋白酶K消化EVs表面暴露的膜蛋白后减少了受体细胞对EVs摄取量的32%±8%^[6]。使用单克隆抗体阻断整合素(CD51、CD61)或tetraspanins(CD9、CD81)后也

会抑制树突状细胞内化EVs的效果(15%~20%)^[7]。而最近发表于Nature的一项研究显示肿瘤细胞外泌体(exosome)表达独特的整合素并通过整合素介导与器官特异性受体细胞的融合而形成转移前微环境,从而决定肿瘤细胞器官的转移靶向^[8]。

2. EVs的直接治疗作用:多种细胞源性的EVs由于携带了其亲代细胞的功能成分(如蛋白质、脂质、糖类以及核酸),能够作用于不同类型的细胞并调节细胞相关生物学过程,如增殖^[9]、血管生成^[10]、免疫调节^[11]等。已有研究表明,不同细胞来源的EVs对多种疾病具有直接的治疗作用,包括活化的抗原递呈细胞^[11]、自然杀伤细胞^[12]、间充质干细胞^[13]等。此外,其他细胞来源的EVs也具有直接的治疗作用,如内皮祖细胞源性EVs通过传递miRNA发挥肾脏保护作用^[14],肿瘤细胞分泌的EVs包含并可转运肿瘤抗原至抗原递呈细胞,诱导抗肿瘤效应^[15]。

3. EVs作为治疗装配载体的作用:自从发现EVs具有功能性传递生物信息的能力,其作为潜在的治疗传递载体引起了人们的关注。EVs是天然的纳米级膜囊泡,具有许多理想载体的特征:首先,由于不同类型的宿主细胞释放的EVs表现出不同的生物功能以及靶向特异性^[8, 16],EVs可以负载特异性的基因、药物作为个体化医疗的载体;其次,EVs具有良好的生物相容性以及低毒性并且EVs可以防止内容物在循环中被降解,增加循环时间以及能够穿过天然屏障^[17-18]。我们既往的研究发现,exosome及exosome内核酸具有很高的稳定性,不易受到RNA酶的降解,因此为基于exosome的基因治疗提供了稳定的载体。此外,exosome在分离提纯后,可以通过超低温长期保存维持微囊不受破坏,且可以耐受一定次数的反复冻融^[19]。基于EVs的稳定性、低毒性,EVs可能成为未来更为稳定、安全、有效的治疗载体。

研究发现,通过主动或被动的方式对天然细胞或EVs的直接修饰,可以实现药物及基因的装载,例如将药物与细胞共培育可以释放负载有药物的EVs^[20],也可以通过电穿孔的方式将目的基因负载进入EVs^[16],从而实现应用所纯化的天然EVs作为疾病治疗的新载体。

二、EVs在疾病中的治疗作用

1. EVs促进组织损伤修复:间充质干细胞在组织稳

DOI:10.3760/cma.j.issn.1001-7097.2017.05.014

基金项目:国家自然科学基金面上项目(81470922、31671194)

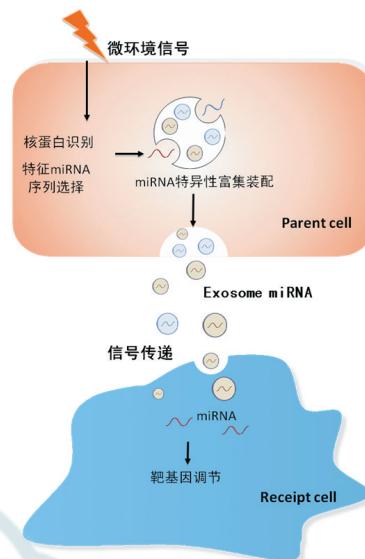
作者单位:210009南京,东南大学医学院,东南大学附属中大医院肾脏科 肾脏病研究所

通信作者:吕林莉,Email:lulinli2000@hotmail.com

态修复中发挥重要作用,近年来研究发现,间充质干细胞分泌的 exosome 是其细胞间交流、调节远隔及邻近细胞功能的重要中介。在多种疾病模型中发现,间充质干细胞源性 exosome 具有与干细胞相同的组织修复作用,因此,可能成为未来 cell-free 细胞治疗的新方向。Lai 等^[21]的研究发现,间充质干细胞源性 EVs 具有心肌旁分泌作用,能够快速活化多个心肌保护途径,在小鼠模型中可减轻心肌缺血再灌注损伤,并可减少心肌缺血再灌注损伤后心肌梗死的范围。此外,间充质干细胞源性 EVs 可以提高 ATP 水平,减少氧化应激并激活 PI3K/Akt 通路,增强心肌的生存能力并预防心肌缺血再灌注损伤后的结构重塑^[22]。

2. EVs 通过免疫调节发挥治疗作用:最近的研究表明,源自免疫细胞和非免疫细胞的 EVs 均可以参与免疫反应的调节。肿瘤源性 EVs 包含主要组织相容性复合体(MHC)分子和肿瘤特异性抗原并作为潜在的抗肿瘤疫苗获得越来越多的关注。肿瘤细胞分泌的 EVs,包含并可转运肿瘤抗原至树突状细胞^[15]。动物肿瘤模型中,树突状细胞摄取肿瘤源性 EVs 后诱导强烈的 CD8+T 细胞依赖性的抗肿瘤效应,因此,EVs 代表了一种交叉激活 T 细胞的肿瘤抗原的新型来源,可能在肿瘤免疫干预中发挥作用^[15]。目前,基于树突状细胞源性 exosome 的治疗,已经在恶性肿瘤的患者中进行了 I 期、II 期的临床试验,并已证实其安全性和可行性^[23]。此外,有研究发现,来源于器官供者外周血中的 EVs 能够通过诱导特异性调节性 T 细胞(Treg),抑制同种异基因移植心脏的免疫炎性反应,提示来自供者的 EVs 可能有益于心脏移植^[24]。

3. EVs 作为基因、药物载体在疾病治疗中的作用:最新的研究显示,EVs 包含丰富的 RNA 信息(如 mRNA、miRNA、lncRNA),其中 miRNA 在 EVs 具有极高的拷贝和特异性的富集。除了与 Ago 蛋白结合外,EVs 是 miRNA 在循环中存在的主要方式,且与其他 RNA 类型相比,具有更高的稳定性^[19,25]。多种旁分泌及微环境因素可以影响细胞 EVs 生成及特异性 miRNA 的装配^[26],并分泌到细胞外,在细胞间传递 miRNA,调节受体细胞的功能,从而影响病理生理过程,见图 1。因此,基于 EVs 的 miRNA 治疗可能成为疾病治疗的新方向。在乳腺癌小鼠模型中,静脉注射富含 miR-let7a(一种肿瘤抑制剂)的 EVs 后,可抑制乳腺癌的生长^[27]。大鼠的原发脑肿瘤模型中,将富含 miR-146b 的骨髓源性 EVs 直接注入肿瘤内后可显著抑制神经胶质瘤的生长^[28]。树突状细胞释放含有 miR-155 和 miR-146a 两种调节炎症的 miRNA 后,被受体树突状细胞摄取,介导靶基因的抑制并可以改变受体细胞对内毒素的反应^[29]。目前研究中,常使用编码目的质粒或病毒转染细胞,或者使用电穿孔的方式在细胞膜上短暂的形成



注:parent cell:供体细胞;receipt cell:受体细胞

图 1 Exosome miRNA 通过细胞间信号传递参与疾病发生发展

小孔,使得 exosome 有效装载治疗分子。不同的治疗分子需要不同的电穿孔条件,文献中 DNA 一般是在 400 V 和 125 μF 条件下而 siRNA 在 150 V 和 100 μF 条件下进行电穿孔,exosome 浓度在 0.25~1 μg/μl 之间时能够实现最高装配效率^[30-32]。

此外,EVs 还可以通过负载药物,实现疾病的高效、靶向治疗。目前发现间充质细胞源性 EVs 已经能成功负载多种具有细胞毒活性的小分子。紫杉醇(PTX)是一种广泛使用的抗有丝分裂抗癌治疗药物,其处理后的细胞可释放负载有 PTX 的 EVs,该 EVs 可抑制肿瘤细胞的增殖^[20]。Haney 等^[33]发现基于 exosome 的传递系统可以负载过氧化氢酶用于治疗帕金森病。Tian 等^[34]利用老鼠未成熟的树突状细胞产生 EVs,EVs 的膜蛋白(Lamp2b)与整合素 αV 特异性 iRGD 肽融合,并通过电穿孔法将阿霉素负载进入提纯的 EVs 中,负载了阿霉素的 EVs 可实现有效的靶向抑制肿瘤的生长。

4. EVs 在肾脏疾病治疗中作用的研究:尽管目前 EVs 在肾脏疾病发生发展过程中作用仍不十分清楚,但是已有部分研究提示 EVs 可能参与了肾脏炎症、纤维化的发生发展。我们最近的研究发现,EVs 内包含的 mRNA、miRNA 水平与肾脏的病理损伤、肾脏功能下降密切相关^[35-37]。在蛋白尿肾脏病中,小管上皮细胞 exosome 内的 CCL2 mRNA 装配显著增加,并且可能通过传递至巨噬细胞,促进小管间质炎性反应的发展^[38]。Oosthuyzen 等^[39]发现,加压素可以调节肾单位集合管细胞摄取 EVs,并转移活性 miR-503,降低集合管细胞的靶基因表达。损伤的小管上皮细胞释放 EVs 传递 miR-21、TGF-β1 mRNA 给小管

上皮细胞、成纤维细胞,促进表型转换和肾脏纤维化的发生^[40-41]。

因此,鉴于EVs在肾脏疾病发生中的作用,EVs可能成为肾脏疾病治疗的新载体。目前已有多项研究证实了间充质干细胞源性、内皮祖细胞源性EVs在肾脏缺血再灌注模型中的治疗作用。其中的机制可能与EVs通过传递生物活性分子如miRNA、VEGF mRNA等,减少肾脏中的自然杀伤细胞浸润、促进细胞增殖、血管新生相关^[42-43]。我们及其他众多研究者的研究已经证实,巨噬细胞的活化和浸润在急性肾脏炎性反应发生中发挥重要作用。因此,减少巨噬细胞的浸润和活化可能是急性肾脏损伤的治疗方向之一^[37]。有趣的是,Shen等^[44]最近的研究发现,高表达CCR2的间充质干细胞exosome可能通过降低游离CCL2的水平,抑制肾脏巨噬细胞的活化和浸润,从而减轻肾脏炎性反应和急性肾脏损伤。

此外,Wang等^[13]在小鼠单侧输尿管结扎(UUO)模型中发现,间充质干细胞通过传递miR-let7c调节转化生长因子β(TGF-β)信号途径,从而减轻肾脏纤维化。Viñas等^[45]的研究发现内皮祖细胞分泌的exosome内miRNA-486-5p的含量高于内皮祖细胞和微粒,与缺氧损害的内皮细胞共培养以及将其灌注至缺血再灌注损伤的小鼠后,可以提高miR-486-5p的含量,抑制PTEN并增强Akt的磷酸化,减轻内皮细胞和肾脏的急性损伤。此外,促红细胞生成素(EPO)与EVs培养后,富含EPO的EVs对于UUO模型的肾脏和TGF-β处理的小管细胞均有保护作用^[46]。

三、EVs作为疾病治疗新型载体的前景与挑战

虽然目前已有研究证实EVs在多种疾病的治疗作用,但在EVs产量、分离提纯等方面,仍存在一定的挑战。

传统EVs分离方法包括超速离心法与密度梯度离心法,我们及其他研究者既往的研究表明超速离心法能够得到大小均一、结构完整的exosome^[19],然而存在耗时、EVs重获的产量低^[47-48]、特异性低以及需要昂贵的设备等缺点^[49]。近年来,新的分离与提纯方法有待进一步证实其可靠性及可行性,如基于免疫亲和性的获取策略可以缩短分离时间、保护蛋白质的活性并增强提纯的效率^[50-51];多孔聚合物膜筛选法也可以相对地减少时间并提高EVs的纯度。目前,必须在体外培养大量的细胞才能获得几微克的EVs,该过程限制了EVs作为治疗载体的潜能。最新研究通过提高细胞内钙离子水平^[52]、热刺激^[53]、缺氧^[54]、改变微环境的pH^[1]可以显著增加EVs的产量。

因此,EVs具有促进组织损伤修复、调节免疫反应及作为基因、药物载体的功能,在多种疾病治疗中具有良好的应用前景,通过对EVs生物学功能的进一步研究及相

关纯化技术的提高,可能为成为未来慢性肾脏病治疗的新型载体奠定基础。

参 考 文 献

- [1] Parolini I, Federici C, Raggi C, et al. Microenvironmental pH is a key factor for exosome traffic in tumor cells[J]. *J Biol Chem*, 2009, 284(49): 34211-34222. DOI: 10.1074/jbc.M109.041152.
- [2] Mittelbrunn M, Gutiérrez-Vázquez C, Villarroya-Beltri C, et al. Unidirectional transfer of microRNA-loaded exosomes from T cells to antigen-presenting cells[J]. *Nat Commun*, 2011, 2: 282. DOI: 10.1038/ncomms1285.
- [3] EL Andaloussi S, Mäger I, Breakefield XO, et al. Extracellular vesicles: biology and emerging therapeutic opportunities[J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2013, 12(5): 347-357. DOI: 10.1038/nrd3978.
- [4] Svensson KJ, Christianson HC, Wittrup A, et al. Exosome uptake depends on ERK1/2 - heat shock protein 27 signaling and lipid Raft-mediated endocytosis negatively regulated by caveolin-1[J]. *J Biol Chem*, 2013, 288(24): 17713-17724. DOI: 10.1074/jbc.M112.445403.
- [5] Zaborowski MP, Balaj L, Breakefield XO, et al. Extracellular Vesicles: Composition, Biological Relevance, and Methods of Study[J]. *Bioscience*, 2015, 65(8): 783-797. DOI: 10.1093/biosci/biv084.
- [6] Escrevente C, Keller S, Altevogt P, et al. Interaction and uptake of exosomes by ovarian cancer cells[J]. *BMC Cancer*, 2011, 11: 108. DOI: 10.1186/1471-2407-11-108.
- [7] Morelli AE, Larregina AT, Shufesky WJ, et al. Endocytosis, intracellular sorting, and processing of exosomes by dendritic cells[J]. *Blood*, 2004, 104(10): 3257-3266. DOI: 10.1182/blood-2004-03-0824.
- [8] Hoshino A, Costa-Silva B, Shen TL, et al. Tumour exosome integrins determine organotropic metastasis[J]. *Nature*, 2015, 527(7578): 329-335. DOI: 10.1038/nature15756.
- [9] Zhan C, Ma CB, Yuan HM, et al. Macrophage-derived microvesicles promote proliferation and migration of Schwann cell on peripheral nerve repair[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2015, 468(1-2): 343-348. DOI: 10.1016/j.bbrc.2015.10.097.
- [10] Merino-González C, Zuñiga FA, Escudero C, et al. Mesenchymal Stem Cell-Derived Extracellular Vesicles Promote Angiogenesis: Potencial Clinical Application[J]. *Front Physiol*, 2016, 7: 24. DOI: 10.3389/fphys.2016.00024.
- [11] Théry C, Ostrowski M, Segura E. Membrane vesicles as conveyors of immune responses[J]. *Nat Rev Immunol*, 2009, 9(8): 581-593. DOI: 10.1038/nri2567.
- [12] Lugini L, Cecchetti S, Huber V, et al. Immune surveillance

- properties of human NK cell - derived exosomes[J]. *J Immunol*, 2012, 189(6): 2833-2842. DOI: 10.4049/jimmunol.1101988.
- [13] Wang B, Yao K, Huuskes BM, et al. Mesenchymal Stem Cells Deliver Exogenous MicroRNA - let7c via Exosomes to Attenuate Renal Fibrosis[J]. *Mol Ther*, 2016, 24(7): 1290 - 1301. DOI: 10.1038/mt.2016.90.
- [14] Cantaluppi V, Gatti S, Medica D, et al. Microvesicles derived from endothelial progenitor cells protect the kidney from ischemia - reperfusion injury by microRNA - dependent reprogramming of resident renal cells[J]. *Kidney Int*, 2012, 82 (4): 412-427. DOI: 10.1038/ki.2012.105.
- [15] Wolfers J, Lozier A, Raposo G, et al. Tumor-derived exosomes are a source of shared tumor rejection antigens for CTL cross-priming[J]. *Nat Med*, 2001, 7(3): 297-303. DOI: 10.1038/85438.
- [16] Alvarez-Erviti L, Seow Y, Yin H, et al. Delivery of siRNA to the mouse brain by systemic injection of targeted exosomes[J]. *Nat Biotechnol*, 2011, 29(4): 341-345. DOI: 10.1038/nbt.1807.
- [17] Tsui NB, Ng EK, Lo YM. Stability of endogenous and added RNA in blood specimens, serum, and plasma[J]. *Clin Chem*, 2002, 48(10): 1647-1653.
- [18] Zhuang X, Xiang X, Grizzle W, et al. Treatment of brain inflammatory diseases by delivering exosome encapsulated anti-inflammatory drugs from the nasal region to the brain[J]. *Mol Ther*, 2011, 19(10): 1769-1779. DOI: 10.1038/mt.2011.164.
- [19] Lv LL, Cao Y, Liu D, et al. Isolation and quantification of microRNAs from urinary exosomes/microvesicles for biomarker discovery[J]. *Int J Biol Sci*, 2013, 9(10): 1021 - 1031. DOI: 10.7150/ijbs.6100.
- [20] Pascucci L, Coccè V, Bonomi A, et al. Paclitaxel is incorporated by mesenchymal stromal cells and released in exosomes that inhibit in vitro tumor growth: a new approach for drug delivery[J]. *J Control Release*, 2014, 192: 262-270. DOI: 10.1016/j.jconrel.2014.07.042.
- [21] 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. DOI: 10.1016/j.scr.2009.12.003.
- [22] Arslan F, Lai RC, Smeets MB, et al. Mesenchymal stem cell-derived exosomes increase ATP levels, decrease oxidative stress and activate PI3K/Akt pathway to enhance myocardial viability and prevent adverse remodeling after myocardial ischemia/reperfusion injury[J]. *Stem Cell Res*, 2013, 10(3): 301 - 312. DOI: 10.1016/j.scr.2013.01.002.
- [23] Pitt JM, André F, Amigorena S, et al. Dendritic cell - derived exosomes for cancer therapy[J]. *J Clin Invest*, 2016, 126(4): 1224-1232. DOI: 10.1172/JCI81137.
- [24] Song J, Huang J, Chen X, et al. Donor-derived exosomes induce specific regulatory T cells to suppress immune inflammation in the allograft heart[J]. *Sci Rep*, 2016, 7: 20077. DOI: 10.1038/srep20077.
- [25] Diehl P, Fricke A, Sander L, et al. Microparticles: major transport vehicles for distinct microRNAs in circulation[J]. *Cardiovasc Res*, 2012, 93(4): 633 - 644. DOI: 10.1093/cvr/cvs007.
- [26] Iraci N, Leonardi T, Gessler F, et al. Focus on Extracellular Vesicles: Physiological Role and Signalling Properties of Extracellular Membrane Vesicles[J]. *Int J Mol Sci*, 2016, 17(2): 171. DOI: 10.3390/ijms17020171.
- [27] Ohno SI, Takanashi M, Sudo K, et al. Systemically Injected Exosomes Targeted to EGFR Deliver Antitumor MicroRNA to Breast Cancer Cells[J]. *Mol Ther*, 2013, 21(1): 185 - 191. DOI: 10.1038/mt.2012.180.
- [28] Katakowski M, Buller B, Zheng X, et al. Exosomes from marrow stromal cells expressing miR - 146b inhibit glioma growth[J]. *Cancer Lett*, 2013, 335(1): 201 - 204. DOI: 10.1016/j.canlet.2013.02.019.
- [29] Alexander M, Hu R, Runtsch MC, et al. Exosome - delivered microRNAs modulate the inflammatory response to endotoxin[J]. *Nat Commun*, 2015, 6: 7321. DOI: 10.1038/ncomms8321.
- [30] Wahlgren J, De L Karlson T, Brisslert M, et al. Plasma exosomes can deliver exogenous short interfering RNA to monocytes and lymphocytes[J]. *Nucleic Acids Res*, 2012, 40 (17): e130. DOI: 10.1093/nar/gks463.
- [31] Wahlgren J, Statello L, Skogberg G, et al. Delivery of Small Interfering RNAs to Cells via Exosomes[J]. *Methods Mol Biol*, 2016, 1364: 105-125. DOI: 10.1007/978-1-4939-3112-5_10.
- [32] Lamichhane TN, Raiker RS, Jay SM. Exogenous DNA Loading into Extracellular Vesicles via Electroporation is Size - Dependent and Enables Limited Gene Delivery[J]. *Mol Pharm*, 2015, 12(10): 3650 - 3657. DOI: 10.1021/acs.molpharmaceut.5b00364.
- [33] Haney MJ, Klyachko NL, Zhao Y, et al. Exosomes as drug delivery vehicles for Parkinson's disease therapy[J]. *J Control Release*, 2015, 207: 18-30. DOI: 10.1016/j.jconrel.2015.03.033.
- [34] Tian Y, Li S, Song J, et al. A doxorubicin delivery platform using engineered natural membrane vesicle exosomes for targeted tumor therapy[J]. *Biomaterials*, 2014, 35(7): 2383 - 2390. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2013.11.083.
- [35] Lv LL, Cao YH, Ni HF, et al. MicroRNA - 29c in urinary exosome/microvesicle as a biomarker of renal fibrosis[J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2013, 305(8): F1220 - F1227. DOI: 10.1152/ajprenal.00148.2013.
- [36] Lv LL, Tang PM, Li CJ, et al. The pattern recognition receptor, Mincle, is essential for maintaining the M1 macrophage phenotype in acute renal inflammation[J]. *Kidney Int*, 2017, 91 (3): 587-602. DOI: 10.1016/j.kint.2016.10.020.
- [37] Lv LL, Cao YH, Pan MM, et al. CD2AP mRNA in urinary

- exosome as biomarker of kidney disease[J]. *Clin Chim Acta*, 2014, 428: 26-31. DOI: 10.1016/j.cca.2013.10.003.
- [38] Lv LL, Feng Y, Wu WJ et al. Delivery of exosomal CCL2 mRNA from tubular epithelial cells to macrophages promotes interstitial inflammation in proteinuria nephropathy[C]. ISEV Meeting abstract, 2017.
- [39] Oosthuyzen W, Scullion KM, Ivy JR, et al. Vasopressin Regulates Extracellular Vesicle Uptake by Kidney Collecting Duct Cells[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2016, 27(11): 3345 - 3355. DOI: 10.1681/ASN.2015050568.
- [40] Zhou Y, Xiong M, Fang L, et al. miR - 21 - containing microvesicles from injured tubular epithelial cells promote tubular phenotype transition by targeting PTEN protein[J]. *Am J Pathol*, 2013, 183(4): 1183 - 1196. DOI: 10.1016/j.ajpath.2013.06.032.
- [41] Borges FT, Melo SA, Özdemir BC, et al. TGF - β1 - containing exosomes from injured epithelial cells activate fibroblasts to initiate tissue regenerative responses and fibrosis[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2013, 24(3): 385-392. DOI: 10.1681/ASN.2012101031. 2013, 24(3): 385-392. DOI: 10.1681/ASN.2012101031.
- [42] Zou X, Gu D, Xing X, et al. Human mesenchymal stromal cell-derived extracellular vesicles alleviate renal ischemic reperfusion injury and enhance angiogenesis in rats[J]. *Am J Transl Res*, 2016, 8(10): 4289-4299.
- [43] Zou X, Gu D, Zhang G, et al. NK Cell Regulatory Property is Involved in the Protective Role of MSC - Derived Extracellular Vesicles in Renal Ischemic Reperfusion Injury[J]. *Hum Gene Ther*, 2016, 27(11): 926-935. DOI: 10.1089/hum.2016.057.
- [44] Shen B, Liu J, Zhang F, et al. CCR2 Positive Exosome Released by Mesenchymal Stem Cells Suppresses Macrophage Functions and Alleviates Ischemia/Reperfusion - Induced Renal Injury[J]. *Stem Cells Int*, 2016, 2016: 1240301. DOI: 10.1155/2016/1240301.
- [45] Viñas JL, Burger D, Zimpelmann J, et al. Transfer of microRNA - 486 - 5p from human endothelial colony forming cell - derived exosomes reduces ischemic kidney injury[J]. *Kidney Int*, 2016, 90(6): 1238-1250. DOI: 10.1016/j.kint.2016.07.015.
- [46] Wang Y, Lu X, He J, et al. Influence of erythropoietin on microvesicles derived from mesenchymal stem cells protecting renal function of chronic kidney disease[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2015, 6: 100. DOI: 10.1186/s13287-015-0095-0.
- [47] Lamparski HG, Metha-Damani A, Yao JY, et al. Production and characterization of clinical grade exosomes derived from dendritic cells[J]. *J Immunol Methods*, 2002, 270(2): 211-226.
- [48] Bobrie A, Colombo M, Krumeich S, et al. Diverse subpopulations of vesicles secreted by different intracellular mechanisms are present in exosome preparations obtained by differential ultracentrifugation[J]. *J Extracell Vesicles*, 2012. DOI: 10.3402/jev.v1i0.18397.
- [49] Alvarez ML, Khosroheidari M, Kanchi RR, et al. Comparison of protein, microRNA, and mRNA yields using different methods of urinary exosome isolation for the discovery of kidney disease biomarkers[J]. *Kidney Int*, 2012, 82(9): 1024 - 1032. DOI: 10.1038/ki.2012.256.
- [50] Wubbolds R, Leckie RS, Veenhuizen PT, et al. Proteomic and biochemical analyses of human B cell - derived exosomes. Potential implications for their function and multivesicular body formation[J]. *J Biol Chem*, 2003, 278(13): 10963 - 10972. DOI: 10.1074/jbc.M207550200.
- [51] Clayton A, Court J, Navabi H, et al. Analysis of antigen presenting cell derived exosomes, based on immuno - magnetic isolation and flow cytometry[J]. *J Immunol Methods*, 2001, 247(1-2): 163-174.
- [52] Savina A, Furlán M, Vidal M, et al. Exosome release is regulated by a calcium-dependent mechanism in K562 cells[J]. *J Biol Chem*, 2003, 278(22): 20083 - 20090. DOI: 10.1074/jbc.M301642200.
- [53] Hedlund M, Nagaeva O, Kargl D, et al. Thermal- and oxidative stress causes enhanced release of NKG2D ligand - bearing immunosuppressive exosomes in leukemia/lymphoma T and B cells[J]. *PLoS One*, 2011, 6(2): e16899. DOI: 10.1371/journal.pone.0016899.
- [54] King HW, Michael MZ, Gleadle JM. Hypoxic enhancement of exosome release by breast cancer cells[J]. *BMC Cancer*, 2012, 12: 421. DOI: 10.1186/1471-2407-12-421.

(收稿日期:2017-01-03)

(本文编辑:杨克魁)