

· 前沿与进展 ·

工程化外泌体在药物递送研究中的进展

崔璟^{1,2}, 张燕¹, 张宁坤¹, 陈宇^{1,2*}

(1. 解放军总医院第六医学中心心内科, 北京 1000891; 2. 安徽医科大学第五临床医学院 海军临床学院, 安徽 合肥 2030032)

[摘要] 外泌体是由多种细胞分泌的囊泡样结构, 粒径范围约为 40~160 nm。工程化外泌体是目前药物递送研究中的热点, 其工程化手段包括改变装载模式以改变外泌体的内含分子、靶向功能, 以及利用外泌体的优势与组织工程学材料相结合等。综述构建工程化外泌体的方式、外泌体结合组织工程学材料的应用以及外泌体体内分布的影响因素, 以阐明当前工程化外泌体在药物递送方面的研究进展, 为后续的外泌体临床应用提供一定的参考。

[关键词] 靶向给药; 药物载体; 外泌体; 工程化修饰; 组织工程

[中图分类号] R943

[文献标志码] A

[文章编号] 1001-5094 (2024) 08-0633-08

DOI: 10.20053/j.issn1001-5094.2024.08.008

Research Progress of Engineered Exosomes in Drug Delivery

CUI Jing^{1,2}, ZHANG Yan¹, ZHANG Ningkun¹, CHEN Yu^{1,2}

(1. Department of Cardiology, The Sixth Medical Center of Chinese People's Liberation Army General Hospital, Beijing 100048, China; 2. Navy Clinical College, The Fifth School of Clinical Medicine, Anhui Medical University, Hefei 230032, China)

[Abstract] Exosomes are vesicular structures secreted by a variety of cells, with a size of approximately 40–160 nm. The engineering of exosomes is currently a hot topic in drug delivery research. Engineering methods include changing the loading mode to alter the contents and targeting functionality of exosomes, and combining the advantages of exosomes with tissue engineering materials. This article reviews the methods of constructing engineered exosomes, the application of exosomes combined with tissue engineering materials, and the influencing factors of exosomes' distribution *in vivo* to elucidate the current research progress of engineered exosomes in drug delivery, aiming to provide some reference for the subsequent clinical application of exosomes.

[Key words] targeted drug delivery; drug carrier; exosome; engineering modification; tissue engineering

外泌体是由细胞的多泡体与质膜融合后释放到细胞外基质的微小囊泡结构, 其粒径范围约为 40~160 nm^[1]。外泌体内含有多膜蛋白、细胞溶质、核蛋白、细胞外基质蛋白、代谢物和核酸^[2]等生物组分, 这些组分可以反映其来源细胞及组织的不同成分与状态。外泌体不仅可以作为疾病诊断的标记物^[3], 也能作为递送载体, 将内部含有的生物组分传递到受体细胞中。由于外泌体表面同样是脂质双分子层结构, 因此其作为药物的递送载体时, 能够更加容易地将药物递送到细胞内部, 发挥治疗作用^[4]。

外泌体作为细胞间的信号传递及通讯的载体, 其释放和摄取的不同机制与途径决定了信号传递及通讯模式的多样性^[5]。总的来说, 不同类型的外泌体含有多种能够充当其他细胞配体的蛋白质, 这些受体-配体相互作用可用于靶向外泌体递送^[6]; 外泌体通过装载不同蛋白、核酸和脂质发挥不同的治疗效果。作为理想递送载体的外泌体应当不仅能够靶向不同的组织和器官, 还能够特异性增强或减弱所靶向的组织或器官的功能。但事实上, 当前通过细胞培养方式产生的外泌体仍存在产量较低、功能复杂及靶向不可控等缺点^[7]。为规避这些缺点, 研究人员通过多种工程化手段建立了各类工程化外泌体, 以提高外泌体的载药能力。本文综述了构建工程化外泌体的方式、外泌体结合组织工程学材料的应用以及外泌体体内分布的影响因素的相关研究, 以阐明当前工程化外泌体在药物递送方面的研究进展。

接受日期: 2023-07-06

项目资助: 北京市自然科学基金 (No. 722183), 国家重点研发计划项目 (No. 2022YFA1104300)

*** 通信作者:** 陈宇, 博士, 主任医师;

研究方向: 再生医学;

E-mail: yuchenmd@126.com

1 工程化外泌体的构建方式

原生外泌体是指直接从细胞或体液的上清中分离出来的外泌体, 其功能大多取决于其亲代细胞的类型, 不同来源的外泌体能够实现不同的功能。来源于循环中的血浆外泌体能够促进损伤心肌的功能恢复^[8], 星形胶质细胞产生的外泌体能够延缓神经元的退行性变^[9]。然而, 单个外泌体其所包含的特定内容物仍然十分有限, 如外泌体中 RNA 分子约为 1×10^{-6} 至 0.1 个拷贝, 蛋白质分子约为数十至数百拷贝^[10-11]。由于治疗剂量无法控制, 原生外

泌体在载药方面作用往往十分受限, 而工程化外泌体能够特异性增加其内容物表达^[12]或减少相关治疗药物的剂量^[13], 以提高药物的作用效率, 因此工程化外泌体相比于原生外泌体更有优势。利用工程化手段, 不仅可以调控外泌体中蛋白、脂质和核酸的含量, 而且还能利用外泌体本身的特性, 例如透过生物屏障能力^[14]、低免疫原性^[15]以及抗吞噬作用^[16], 实现对外源药物的工程化导入。目前外源性药物导入的方式主要分为预装载和后装载方式(见表 1)。

表 1 工程化外泌体构建方式

Figure 1 Engineering strategies for exosome construction

| 构建方式 | 装载种类 | 特点 | 优势 | 劣势 |
|-------|---------|---------------------------------|--------------------|--------------|
| 预装载方式 | 转染法 | 多肽、蛋白或核酸 通过质粒转染策略, 使细胞表达特定蛋白 | 转染种类多, 操作相对简单 | 存在遗传风险 |
| | 膜融合法 | 膜蛋白类 通过特定膜蛋白结合 | 不影响外泌体理化 and 生物学性质 | 构建种类受膜蛋白种类限制 |
| | 细胞电穿孔法 | 小分子物质 通过电场导入 | 无需特殊化学试剂, 相对安全 | 递送受分子大小限制 |
| | 微环境调控法 | 细胞本身物质 通过改变细胞环境诱导 | 操作简单 | 难以精细调控 |
| 后装载方式 | 外泌体电穿孔法 | 小分子物质 通过电场导入 | 无需特殊化学试剂, 相对安全 | 大分子物质递送受限 |
| | 共孵育法 | 药物、小分子物质 与外泌体共同培养即可 | 方法简单, 保留完整的外泌体结构 | 效率较低 |
| | 超声装载法 | 药物、小分子物质 利用超声波剪切力 | 负载率高 | 膜结构易受损 |
| | 挤压法 | 药物 过滤器反复挤压 | 产量高 | 外泌体纯度不高 |

1.1 预装载方式

预装载方式是指采用基因工程或分子生物学技术将需要运载的药物导入亲代细胞, 使其产生含有功能分子的工程化外泌体。这些工程化外泌体具有递送特定功能分子的能力。目前, 预装载方式主要包括转染法、膜融合法、细胞电穿孔法和微环境调控法。

1.1.1 转染法 转染法利用质粒转染策略, 使得亲代细胞能够表达特定的多肽、蛋白或核酸, 并在外泌体生成的过程中分泌经过改造的外泌体。通过这种方法, 研究人员能够实现对目标分子的精确控制, 为生物医学研究提供有力的工具。Su 等^[17]制备了过表达 *CAMP* 基因的 U937 细胞, 使之高表达 LL-37 肽, 从而使工程化外泌体表现出多种生物学功能。这类工程化外泌体不仅可以单独发挥作用, 还可以与其他生物材料结合作为药物载体。除了肽类之外, Huang 等^[18]将核酸 miR-31-5p 转染进入 293T 细胞, 所获得的工程化外泌体具有促进血管生成及胶原纤维沉积, 促使上皮再形成的功能。转染

法虽比较常见, 但有研究表明, 此类方式存在一定的遗传风险, 会导致部分转染的质粒通过外泌体传递到受体细胞中^[19]。因此, 虽然转染法对于转染的分子限制较少, 但对后续的纯化及遗传风险控制要求较高, 如何规避经转染法产生的外泌体的生物安全风险是后续研究中需要进一步考虑的问题。

1.1.2 膜融合法 膜融合法是一种有效的技术手段, 通过将转染分子与细胞膜表面结合, 以增强外泌体装载特定分子的能力。这一方法利用细胞膜与目标分子之间的相互作用, 实现了高效的分子传递和外泌体修饰。Lin 等^[20]将膜结合蛋白 Lamp2b 蛋白与肽 HSTP1 结合在细胞表面, 产生的外泌体用于肝纤维化的靶向治疗, 对 HSTP1 的修饰进一步提高了外泌体的递送效率, 并增强了外泌体促进肝星状细胞恢复静止表型的能力。在癌症治疗中, 膜融合法也获得了一定的发展。Ma 等^[21]将血小板外泌体和光热敏感脂质体通过膜融合, 不仅保留了血小板外泌体的生物学功能, 而且增强了其载药能力, 实现级联靶向抗癌作用。膜融合法对外泌体的理化性质和

生物学特性影响最小,且不会影响外泌体的大小,不会干扰受体细胞识别外泌体。然而,由于膜表面蛋白的识别限制,其只能识别短序列基因序列,这使得膜融合法的使用受到了一定的限制。

1.1.3 细胞电穿孔法 细胞电穿孔法利用细胞膜的脂质双分子层在强电场中能够形成亲水通道,而在电场恢复时细胞膜能够恢复原有稳定结构的特性,将培养基中的小分子物质导入膜内部,从而实现将外源性分子导入亲代细胞中的功能,通常用于递送 siRNA 或 miRNA 等相对分子质量较小的核酸^[22]。例如, Wang 等^[23] 通过将 let-7 miRNA 导入 MDA-MB-231 细胞,使其靶向荷瘤小鼠的肿瘤组织,并抑制肿瘤生长。而对于相对分子质量较大的核酸,如质粒 DNA,由于其难以通过细胞膜的孔洞,导入细胞的效率并不高,为此, Yang 等^[24] 开发了一种纳米生物芯片,其能在电场作用下,将质粒 DNA 导入亲代细胞中,通过亲代细胞转录 mRNA,从而获得含有 mRNA 的工程化外泌体,递送效率提升了约 1 000 倍,改善了以往工程化外泌体难以加载相对分子质量较大的核酸的不足。

1.1.4 微环境调控法 微环境指的是细胞所处的周围环境,以及各种能够影响细胞状态的物质。通过人工改变细胞微环境,也同样能够影响细胞内的分子含量。李毅等^[25] 在研究骨重塑相关外泌体 miRNA 的含量变化时,发现不同浓度的地塞米松能够影响外泌体多种 miRNA 的含量,从而影响后续的功能。Liu 等^[26] 的研究表明,不同含氧量条件不仅影响了间充质干细胞的旁分泌效应,且在缺氧条件下缺氧诱导因子 1 (hypoxia inducible factor-1, HIF-1) 被激活,从而介导了外泌体中 miR-126 的表达。微环境调控法操作较为简单,但难以把握细胞在微环境中的状态,对于培养条件要求严格的细胞,甚至会导致细胞死亡,因此当前使用此方法的研究较少。

1.2 后装载方式

后装载方式指在亲代细胞分离外泌体后,通过膜透化或加载策略进行的方式。分离的外泌体可以装载包括相对分子质量较小的药物、蛋白质甚至纳米材料在内的治疗性分子,与基于亲代细胞的工程方法相比,技术上更直接。采用的技术包括外泌体

电穿孔法、共孵育法、超声装载法、挤压法等。

1.2.1 外泌体电穿孔法 外泌体电穿孔法原理与细胞电穿孔法类似,但不需要对细胞进行预装载,而是将外泌体与药物分子混合孵育,使部分药物直接装载入外泌体,在外源电场的作用下,也能够提高药物进入外泌体的效率。例如, Zhu 等^[27] 将阿霉素通过电穿孔的方式装载进入晶状体上皮细胞外泌体,增强了外泌体的抗增殖能力和靶向能力,进而改善后囊膜浑浊。

1.2.2 共孵育法 外泌体可以通过共孵育法进行装载,该法需将外泌体与药物或其他分子在同一培养条件下共同孵育。共孵育法不仅操作简单,而且具有保持工程化外泌体结构完整性的优势。Brossa 等^[28] 分别通过共孵育法和电穿孔法利用肝脏细胞外泌体装载 miRNA-145,结果发现电穿孔法会导致部分 miRNA 的缺失,而共孵育法能够保持外泌体膜的完整性。此外,共孵育法对细胞渗透性强的物质装载效果较好。Wang 等^[29] 利用共孵育法将靶向 HIF-1 α 通路的 VH298 分子装载在外泌体内,提升了这一细胞渗透性较强而水溶性较差的物质的负载效率,促进了皮肤创面处的血管再生。然而,早期研究曾发现,将姜黄素与牛奶外泌体共培养,姜黄素的导入效率只有 18%~24%^[30],因此,如何提高共孵育法的装载效率仍然是一个亟待解决的问题。此外,共孵育法的装载效果容易受到细胞种类的影响。Kanchanapally 等^[31] 的研究结果显示,将不同类型的肿瘤细胞与阿霉素进行共培养后,由于各细胞摄取能力的差异,所分泌的外泌体的药物活性存在差异,这与细胞释放外泌体的效率相关。不同细胞对同一类药物的不同摄取率表明,细胞特异性在一定程度上影响了外泌体的摄取能力。

1.2.3 超声装载法 超声装载法是利用超声波的机械剪切力破坏外泌体膜的完整性,使药物进入外泌体中的方法。Li 等^[32] 对胰腺癌细胞分泌的外泌体与吉西他滨的混合物使用超声装载和共孵育 2 种不同的方法加载药物,并比较了外泌体的最大药物负载量,同时测量了 2 种方法获得的工程化外泌体的粒径分布。结果显示,2 种方法获得的工程化外泌体粒径相似,但经超声处理的外泌体的药物装载率达

(11.68 ± 3.68)%, 明显高于吉西他滨-外泌体的共孵育法 [(2.79 ± 0.72)%]。不过, 超声装载法会导致膜结构受损, 在运输保存过程中可能导致药物渗漏, 这也是这一方法的局限性。

1.2.4 挤压法 挤压法是将外泌体与药物混合物通过不同尺寸的聚碳酸酯膜过滤器之间反复挤压, 从而使外泌体膜结构改变, 从而促进药物与外泌体相结合的方法。该法能够大量获得具有外泌体特性的类囊泡结构。Guo 等^[33]通过磁性挤压装载阿霉素等化学药物实现抗癌药物递送, 并且验证了这一方案在不同肿瘤细胞中实现的可能性。Zhang 等^[34]研究发现, 挤压获得的类囊泡结构的蛋白组分与外泌体有 80% 的一致性, 其所含有的特异性蛋白大多位于细胞线粒体和内质网中, 这可能是由于其并非是细胞直接分泌而来, 其成分可能相较普通外泌体更为复杂, 需要进一步研究探索。

2 外泌体结合组织工程学材料的应用

组织工程学是一门研究修复、替代或建立组织的学科, 其主要目的是通过使用人工材料、细胞、基因以及生物活性分子等组织工程学材料来修复或代替人体组织。研究表明, 将药物装载在外泌体中可以增强药物与靶细胞的结合性、降低毒性以及改善给药稳定性^[35], 而利用外泌体的优势与组织工程学材料相结合, 有助于提升药物的给药效率。目前主要通过将外泌体与水凝胶、生物支架及纳米材料结合的方式来增强工程化外泌体的作用效果。

2.1 外泌体结合水凝胶

水凝胶是一种以网状交联结构为骨架的水溶性凝胶, 大多用于软骨修复, 局部注射后可承载不同的生长因子和干细胞以促进修复和重建^[36]。但水凝胶在不规则软骨的表面黏附力较弱, 导致其修复能力不够, 在局部软骨重建方面存在一定的不足。Lin 等^[37]利用水凝胶包裹外泌体, 通过关节注射的方式, 证明能够延长外泌体在关节组织中的作用时间。Han 等^[38]将间充质干细胞外泌体和水凝胶制成混合微针阵列贴片, 在脊髓术后利用贴片原位释放外泌体, 不仅提高了单次给药效率, 还避免了局部重复注射外泌体导致的组织继发性损伤。随着不同材质

水凝胶的研究发展, 工程化外泌体在这一方向的发展也逐渐成为热点, 既往研究中的外泌体与新型水凝胶结合有望能够在应用场景和应用途径方面获得更好的效果。

2.2 外泌体结合生物支架

生物支架是用于实现支撑及控制组织成型的重要工程学技术, 利用生物支架作为外泌体原位释放的载体, 能够延长外泌体的局部作用时间, 减少给药次数, 甚至可以在手术中同步给药, 增加了外泌体使用场景。Liu 等^[39]将外泌体冻干固定包埋在生物活性分层玻璃支架中, 增强了骨细胞的成骨能力并诱导骨再生。Hu 等^[40]制作了涂层含有外泌体的洗脱支架, 其有效加速了血管再内皮化并减少了支架内再狭窄的发生。外泌体生物支架是将工程化外泌体与传统的手术支架结合的新型手段, 其发展具有较成熟的技术支持, 作为外科手术的后续治疗手段具有较好的应用前景。

2.3 外泌体结合纳米材料

纳米材料由于其易于制造、易于分离纯化、产量较高等优势而被寄予厚望, 但其高毒性和靶向功能不足导致其应用受限, 而外泌体具有良好的生物相容性和良好的靶向性, 将两者相结合也是一种新的工程化技术。Qi 等^[41]提供了外源性靶向的新思路, 他们开发出具有高效组织相容性及肿瘤靶向性的外泌体的超顺磁性纳米粒子簇, 用磁性纳米颗粒修饰血液来源的外泌体的转铁蛋白受体, 然后使用外部磁体将外泌体引导至小鼠肿瘤, 使之成为癌症治疗的靶向药物递送载体。外泌体与纳米材料的结合能够充分发挥纳米材料多样性的优势, 减少材料本身的毒性。随着新的纳米材料的开发, 相信这种结合将具有更加广阔的应用前景。

3 外泌体体内分布的影响因素

除了改变外泌体负载内容物及结合组织工程学材料的方法, 外泌体的体内分布也影响着工程化外泌体的递送效率。影响外泌体体内分布的主要因素为给药途径和靶向作用。

3.1 给药方式

目前主要给药方式为静脉注射、口服给药、局

部注射、腹膜内注射和吸入给药。静脉注射是最主要的给药途径, 占给药方式的 78%, 这种方式给药的外泌体主要分布在肝脏, 在脾脏、肺和胃肠道也能被部分检测到^[42]。口服给药后, 外泌体能够递送到肝、肺、肾、胰腺、脾脏、卵巢、结肠和脑等主要器官。局部注射的外泌体相较传统静脉注射方式滞留时间更长, 表现出更好的治疗效果^[43]。同样, 对于腹部脏器, 腹膜内注射往往能够获得较好的效果。Nojehdehi 等^[44]通过腹膜注射间充质干细胞来源的外泌体, 增加调节性 T 细胞群及其产物, 而不改变淋巴细胞的增殖指数, 减轻了链脲佐菌素诱导的自身免疫性 1 型糖尿病的临床症状。吸入给药更多用于呼吸系统和神经系统疾病的给药, 在特发性肺纤维化的治疗研究中^[45], 吸入给药方式表现出较好的治疗潜力。通过吸入给药, 载药外泌体更容易穿透血脑屏障, 从而实现脑部给药的作用^[46]。

3.2 靶向作用

外泌体的同种组织来源的亲代细胞被认为很大程度上决定了外泌体在体内的摄取^[47], 使得研究往往聚焦于制备同种组织来源的外泌体以进行工程化改造, 然而实际情况未必如此。Garofalo 等^[48]通过研究不同来源的肿瘤组织工程化外泌体对肿瘤组织的靶向作用, 证实肿瘤组织来源的工程化外泌体的靶向性与肿瘤类型和外泌体的物种来源无关, 具有对肿瘤组织的普遍靶向性。值得注意的是, Lourenco 等^[49]发现间充质干细胞来源的外泌体同样具有肿瘤组织的靶向性, 其靶向特性在一定程度上由肿瘤细胞分泌的迁移抑制因子 (migration inhibitory factor, MIF) 决定。外泌体对不同细胞类型的特异性靶向导致其在细胞间通讯中的作用变得复杂。目前已知的是受体细胞在外泌体靶向功能中显得更加重要, 但尚不清楚受体细胞吸收外泌体的不同模式是否会导致外泌体功能的特异性改变。

4 结语与展望

外泌体的脂质双分子层结构使其具有较好的稳定性, 保证其包装物质在体内不易分解, 而其本身的低免疫原性, 又能够避免淋巴细胞内吞外源物质后所介导的细胞毒性反应。相较于细胞治疗产品,

外泌体易于保存, 在 -80°C 的条件下可以保存半年, 目前还开发出可以在常温下保存的外泌体干粉制剂, 极大地拓宽了其使用场景, 具有较好的应用前景。本文综述了工程化外泌体的多种构建方式, 比较了不同场景下外泌体工程化策略的优劣, 介绍了不同药物及靶器官条件下如何改善工程化外泌体的药物递送效果及临床应用场景。然而目前大多数工程化方式仍停留在实验室方案的阶段, 工业化级别的工程化方式仍受到载药率及生产率限制, 新的工程化载药方式仍值得进一步探索。

此外, 工程化方法虽能够极大提高外泌体的产量, 提升其在体内的靶向分布功能, 增强其治疗能力, 但由于工程化的手段不同, 外泌体的不同提取方式可能会带来潜在的囊泡受损和产品受污染的风险, 使得不同批次的工程化外泌体仍存在一定的异质性, 限制了其大规模使用。外泌体在大规模生产前需经过《药品生产质量管理规范》(GMP) 认证, 因此如何确保可重复性、稳定性和纯度成为当前外泌体临床转化的核心问题。为了提升外泌体研究的规范化, 国际细胞外囊泡学会 (The International Society for Extracellular Vesicles, ISEV) 于 2018 年提出了外泌体研究指南——Minimal Information for Studies of Extracellular Vesicles 2018 (MISEV 2018), 进一步规范了外泌体的提取、鉴定及相关研究的步骤。但在大规模量产的实现过程中, 由于上下游供应链尚缺少统一规范的质量标准, 当前外泌体的生产仍存在一定的阻碍, 这也是生物制剂整体存在的困境。

尽管存在诸多困难, 但仍有许多制药企业在探索工程化外泌体的临床应用, 包括 Codiak BioSciences, Exopharm, Carmine Therapeutics, Mantra Bio 等在内的多家生物科技公司已经开始研究工程化外泌体的临床应用, Codiak BioSciences 的 2 个工程化外泌体治疗候选药物 (ExoIL-12TM 和 ExoSTINGTM) 均处于 I 期临床试验阶段。ClinicalTrials 上也已有部分产品的临床注册信息, 包括空军军医大学构建的表达高密度脂蛋白受体基因的间充质干细胞工程化外泌体 (适应证: 家族性高胆固醇血症, 临床试验编号: NCT05043181);

法国 Gustave Roussy 团队制备的载有肿瘤抗原的树突状细胞衍生外泌体(适应证: 肺癌, 临床试验编号: NCT01159288)。目前, 工程化外泌体的临床研究大多处于 I 期临床试验阶段, 离实际应用还有一定的距离。

总而言之, 外泌体作为一种高效安全的药物载体, 具有更高的稳定性、更低的免疫原性、更好的保存条件、更广泛的应用场景, 有显著的研究前景和应用潜力。为了提高载药效率和生产效率, 未来尚需探索并开发新的工程化载药方式。

[参考文献]

- [1] Antimisiaris S, Mourtas S, Marazioti A. Exosomes and exosome-inspired vesicles for targeted drug delivery[J/OL]. *Pharmaceutics*, 2018, 10(4): 218[2023-07-06]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6321407/>. DOI: 10.3390/pharmaceutics10040218.
- [2] Pathan M, Fonseka P, Chitti S V, et al. Vesiclepedia 2019: a compendium of RNA, proteins, lipids and metabolites in extracellular vesicles[J]. *Nucleic Acids Res*, 2019, 47(D1): D516–D519.
- [3] Salehi M, Sharifi M. Exosomal miRNAs as novel cancer biomarkers: challenges and opportunities[J]. *J Cell Physiol*, 2018, 233(9): 6370–6380.
- [4] Ferguson S W, Nguyen J. Exosomes as therapeutics: the implications of molecular composition and exosomal heterogeneity[J/OL]. *J Controlled Release*, 2016, 228: 179–190[2023-07-06]. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2016.02.037>.
- [5] McKelvey K J, Powell K L, Ashton A W, et al. Exosomes: mechanisms of uptake[J/OL]. *J Circ Biomark*, 2015, 4: 7[2023-07-06]. <https://doi.org/10.5772/61186>.
- [6] Viñas J L, Spence M, Gutsol A, et al. Receptor-ligand interaction mediates targeting of endothelial colony forming cell-derived exosomes to the kidney after ischemic injury[J/OL]. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 16320[2023-07-06]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30397255/>. DOI: 10.1038/s41598-018-34557-7.
- [7] Nakase I, Noguchi K, Fujii I, et al. Vectorization of biomacromolecules into cells using extracellular vesicles with enhanced internalization induced by macropinocytosis[J/OL]. *Sci Rep*, 2016, 6(1): 34937[2023-07-06]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27748399/>. DOI: 10.1038/srep34937.
- [8] Danielson K M, Shah R, Yeri A, et al. Plasma circulating extracellular RNAs in left ventricular remodeling post-myocardial infarction[J/OL]. *EBioMedicine*, 2018, 32: 172–181[2023-07-06]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29779700/>. DOI: 10.1016/j.ebiom.2018.05.013.
- [9] Varcianna A, Myszczyńska M A, Castelli L M, et al. Micro-RNAs secreted through astrocyte-derived extracellular vesicles cause neuronal network degeneration in C9orf72 ALS[J/OL]. *EBioMedicine*, 2019, 40: 626–635[2023-07-06]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30711519/>. DOI: 10.1016/j.ebiom.2018.11.067.
- [10] Kidder G W, Montgomery C W. Oxygenation of frog gastric mucosa *in vitro*[J]. *Am J Physiol*, 1975, 229(6): 1510–1513.
- [11] Tian Y, Ma L, Gong M F, et al. Protein profiling and sizing of extracellular vesicles from colorectal cancer patients via flow cytometry[J]. *ACS Nano*, 2018, 12(1): 671–680.
- [12] Segel M, Lash B, Song J, et al. Mammalian retrovirus-like protein PEG10 packages its own mRNA and can be pseudotyped for mRNA delivery[J]. *Science*, 2021, 373(6557): 882–889.
- [13] Reshke R, Taylor J A, Savard A, et al. Reduction of the therapeutic dose of silencing RNA by packaging it in extracellular vesicles via a pre-microRNA backbone[J]. *Nat Biomed Eng*, 2020, 4(1): 52–68.
- [14] 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.
- [15] Kordelas L, Rebmann V, Ludwig A K, et al. MSC-derived exosomes: a novel tool to treat therapy-refractory graft-versus-host disease[J]. *Leukemia*, 2014, 28(4): 970–973.
- [16] Kamerkar S, LeBleu V S, Sugimoto H, et al. Exosomes facilitate therapeutic targeting of oncogenic KRAS in pancreatic cancer[J]. *Nature*, 2017, 546(7659): 498–503.
- [17] Su Y, Sharma N S, John J V, et al. Engineered exosomes containing Cathelicidin/LL-37 exhibit multiple biological functions[J/OL]. *Adv Health Mater*, 2022, 11(20): 2200849[2023-07-06]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35930707/>. DOI: 10.1002/adhm.202200849.
- [18] Huang J, Yu M, Yin W, et al. Development of a novel RNAi therapy: engineered miR-31 exosomes promoted the healing of diabetic wounds[J]. *Bioact Mater*, 2021, 6(9): 2841–2853.
- [19] Li F Y, Wu J, Li D Y, et al. Engineering stem cells to produce

- exosomes with enhanced bone regeneration effects: an alternative strategy for gene therapy[J/OL]. *J Nanobiotechnology*, 2022, 20(1): 135[2023-07-06]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35292020/>. DOI: 10.1186/s12951-022-01347-3.
- [20] Lin Y, Yan M C, Bai Z T, *et al.* Huc-MSC-derived exosomes modified with the targeting peptide of aHSCs for liver fibrosis therapy[J/OL]. *J Nanobiotechnology*, 2022, 20(1): 432[2023-07-06]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36183106/>. DOI: 10.1186/s12951-022-01636-x.
- [21] Ma Y, Zhang Y, Han R, *et al.* A cascade synergetic strategy induced by photothermal effect based on platelet exosome nanoparticles for tumor therapy[J/OL]. *Biomaterials*, 2022, 282: 121384[2023-07-06]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35078004/>. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2022.121384.
- [22] Faruqu F N, Xu L, Al-Jamal K T. Preparation of exosomes for siRNA delivery to cancer cells[J/OL]. *J Vis Exp*, 2018(142): 58814. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30582600/>. DOI: 10.3791/58814.
- [23] Wang Y, Chen X, Tian B, *et al.* Nucleolin-targeted extracellular vesicles as a versatile platform for biologics delivery to breast cancer[J]. *Theranostics*, 2017, 7(5): 1360–1372.
- [24] Yang Z, Shi J, Xie J, *et al.* Large-scale generation of functional mRNA-encapsulating exosomes via cellular nanoporation[J]. *Nat Biomed Eng*, 2020, 4(1): 69–83.
- [25] 李毅, 尹鹏滨, 邓元, 等. 糖皮质激素环境下骨重塑相关细胞外泌体 miRNA 变化 [J]. *解放军医学院学报*, 2018, 39(4): 344–348.
- [26] Liu W, Li L W, Rong Y L, *et al.* Hypoxic mesenchymal stem cell-derived exosomes promote bone fracture healing by the transfer of miR-126[J/OL]. *Acta Biomater*, 2020, 103: 196–212[2023-07-06]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31857259/>. DOI: 10.1016/j.actbio.2019.12.020.
- [27] Zhu S Q, Huang H Y, Liu D, *et al.* Augmented cellular uptake and homologous targeting of exosome-based drug loaded IOL for posterior capsular opacification prevention and biosafety improvement[J/OL]. *Bioact Mater*, 2022, 15: 469–481[2023-07-06]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35386342/>. DOI: 10.1016/j.bioactmat.2022.02.019.
- [28] Brossa A, Tapparo M, Fonsato V, *et al.* Coincubation as miR-loading strategy to improve the anti-tumor effect of stem cell-derived EVs[J/OL]. *Pharmaceutics*, 2021, 13(1): 76[2023-07-06]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33429869/>. DOI: 10.3390/pharmaceutics13010076.
- [29] Wang Y, Cao Z, Wei Q, *et al.* VH298-loaded extracellular vesicles released from gelatin methacryloyl hydrogel facilitate diabetic wound healing by HIF-1 α -mediated enhancement of angiogenesis[J/OL]. *Acta Biomater*, 2022, 147: 342–355[2023-07-06]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35580827/>. DOI: 10.1016/j.actbio.2022.05.018.
- [30] Aqil F, Munagala R, Jeyabalan J, *et al.* Exosomes for the enhanced tissue bioavailability and efficacy of curcumin[J]. *AAPS J*, 2017, 19(6): 1691–1702.
- [31] Kanchanapally R, Deshmukh S K, Chavva S R, *et al.* Drug-loaded exosomal preparations from different cell types exhibit distinctive loading capability, yield, and antitumor efficacies: a comparative analysis[J/OL]. *Int J Nanomedicine*, 2019, 14: 531–541[2023-07-06]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30666112/>. DOI: 10.2147/IJN.S191313.
- [32] Li Y, Wu J, Wang J, *et al.* Gemcitabine loaded autologous exosomes for effective and safe chemotherapy of pancreatic cancer[J/OL]. *Acta Biomaterialia*, 2020, 101: 519–530[2023-07-06]. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2019.10.022>.
- [33] Guo P, Busatto S, Huang J, *et al.* A facile magnetic extrusion method for preparing endosome-derived vesicles for cancer drug delivery[J/OL]. *Adv Funct Mater*, 2021, 31(44): 2008326[2023-07-06]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34924915/>. DOI: 10.1002/adfm.202008326.
- [34] Zhang Z, Mi T, Jin L, *et al.* Comprehensive proteomic analysis of exosome mimetic vesicles and exosomes derived from human umbilical cord mesenchymal stem cells[J/OL]. *Stem Cell Res Therapy*, 2022, 13(1): 312[2023-07-06]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35841000/>. DOI: 10.1186/s13287-022-03008-6.
- [35] Lotfy A, Aboquelia L N M, Wang H. Mesenchymal stromal/stem cell (MSC)-derived exosomes in clinical trials[J/OL]. *Stem Cell Res Ther*, 2023, 14(1): 66[2023-07-06]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37024925/>. DOI: 10.1186/s13287-023-03287-7.
- [36] Caldwell A S, Aguado B A, Anseth K S. Designing microgels for cell culture and controlled assembly of tissue microenvironments[J/OL]. *Adv Funct Mater*, 2020, 30(37): 1907670[2023-07-06]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33841061/>. DOI: 10.1002/adfm.201907670.
- [37] Lin Z, Xiong Y, Meng W L, *et al.* Exosomal PD-L1 induces osteogenic differentiation and promotes fracture healing by acting as an immunosuppressant[J/OL]. *Bioact Mater*, 2022, 13: 300–

- 311[2023-07-06]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35224310/>. DOI: 10.1016/j.bioactmat.2021.10.042.
- [38] Han M, Yang H R, Lu X D, *et al.* Three-dimensional-cultured MSC-derived exosome-hydrogel hybrid microneedle array patch for spinal cord repair[J]. *Nano Letters*, 2022, 22(15): 6391–6401.
- [39] Liu A Q, Lin D, Zhao H J, *et al.* Optimized BMSC-derived osteoinductive exosomes immobilized in hierarchical scaffold via lyophilization for bone repair through Bmpr2/Acvr2b competitive receptor-activated Smad pathway[J/OL]. *Biomaterials*, 2021, 272: 120718[2023-07-06]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33838528/>. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2021.120718.
- [40] Hu S Q, Li Z H, Shen D L, *et al.* Exosome-eluting stents for vascular healing after ischaemic injury[J]. *Nat Biomed Eng*, 2021, 5(10): 1174–1188.
- [41] Qi H, Liu C, Long L, *et al.* Blood exosomes endowed with magnetic and targeting properties for cancer therapy[J]. *ACS Nano*, 2016, 10(3): 3323–3333.
- [42] Yi Y W, Lee J H, Kim S Y, *et al.* Advances in analysis of biodistribution of exosomes by molecular imaging[J/OL]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(2): 665[2023-07-06]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31963931/>. DOI: 10.3390/ijms21020665.
- [43] Smyth T, Kullberg M, Malik N, *et al.* Biodistribution and delivery efficiency of unmodified tumor-derived exosomes[J/OL]. *J Controlled Release*, 2015, 199: 145–155[2023-07-06]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25523519/>. DOI: 10.1016/j.jconrel.2014.12.013.
- [44] Nojehdehi S, Soudi S, Hesampour A, *et al.* Immunomodulatory effects of mesenchymal stem cell-derived exosomes on experimental type-1 autoimmune diabetes[J]. *J Cell Biochem*, 2018, 119(11): 9433–9443.
- [45] Dinh P U C, Paudel D, Brochu H, *et al.* Inhalation of lung spheroid cell secretome and exosomes promotes lung repair in pulmonary fibrosis[J/OL]. *Nat Commun*, 2020, 11(1) [2023-07-06]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32111836/>. DOI: 10.1038/s41467-020-14344-7.
- [46] Wang K, Kumar U S, Sadeghipour N, *et al.* A microfluidics-based scalable approach to generate extracellular vesicles with enhanced therapeutic microRNA loading for intranasal delivery to mouse glioblastomas[J]. *ACS Nano*, 2021, 15(11): 18327–18346.
- [47] 顾亚, 李毅, 陈铭, 等. 不同细胞来源外泌体在骨质疏松小鼠体内的骨靶向性比较[J]. *解放军医学院学报*, 2021, 42(3): 310–314.
- [48] Garofalo M, Villa A, Crescenti D, *et al.* Heterologous and cross-species tropism of cancer-derived extracellular vesicles[J]. *Theranostics*, 2019, 9(19): 5681–5693.
- [49] Lourenco S, Teixeira V H, Kalber T, *et al.* Macrophage migration inhibitory factor–CXCR4 is the dominant chemotactic axis in human mesenchymal stem cell recruitment to tumors[J]. *J Immunol*, 2015, 194(7): 3463–3474.



【专家介绍】陈宇：中国人民解放军总医院心血管病医学部冠心病科主任、主任医师。军队优秀专业技术人才一类岗位津贴专家，全国心血管疾病介入诊疗技术培训基地导师、中华医学会组织修复与再生分会心脏再生学组委员。主持国家重点研发计划子课题1项，完成国家及北京市自然科学基金各1项，国家863子课题2项，在 *Cell Transplant*, *BMC Med*, *J Telemed Telecare*, *Diabetol Metab Syndr* 等杂志累计发表10余篇SCI文章。作为第一完成人开展的“心脏再生医学技术研发与军事领域应用研究”，获得2018年军队科技进步一等奖。