

综述

间充质干细胞来源的外泌体在泌尿系损伤修复中的研究进展

敖平^{1,2} 束玲³ 卓栋¹ 许洁² 周益多² 卫中庆^{2*}(¹皖南医学院第一附属医院泌尿外科, 芜湖 241001; ²南京医科大学第二附属医院泌尿外科, 南京 210011;³皖南医学院第一附属医院手术室, 芜湖 241001)

摘要 干细胞和再生医学技术是一种治疗泌尿系损伤的新手段, 间充质干细胞来源的外泌体(mesenchymal stem cell-derived exosomes, MSC-Exos)是其中的研究热点之一。与干细胞相比, 作为其旁分泌产物的外泌体具有免疫原性更低、移植感染及致癌风险更低、生物学特性更稳定等优点。不同组织来源的MSC-Exos对泌尿系损伤均有一定的修复能力。该文对近年来MSC-Exos在泌尿系损伤修复中的应用研究作出综述, 为今后进一步探讨MSC-Exos修复泌尿系损伤的作用机制及其相关研究提供参考和依据。

关键词 间充质干细胞; 外泌体; 组织工程; 泌尿系损伤; 修复

Research Progress of Mesenchymal Stem Cell-Derived Exosomes in Repair of Urinary System Injury

AO Ping^{1,2}, SHU Ling³, ZHUO Dong¹, XU Jie², ZHOU Yiduo², WEI Zhongqin^{2*}(¹Department of Urology, The First Affiliated Hospital of Wannan Medical College, Wuhu 241001, China;²Department of Urology, The Second Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 210011, China;³Department of Operating Room, The First Affiliated Hospital of Wannan Medical College, Wuhu 241001, China)

Abstract MSC-Exos (mesenchymal stem cell-derived exosomes), as a new method for the treatment of urinary system injury, has become one of the research focuses in stem cell and regenerative medicine technology. Exosomes have the advantages of lower immunogenicity, lower risk of infection and tumorigenesis in cell transplantation, and more stable biological characteristics as paracrine products compared with stem cells. MSC-Exos from different tissue sources show a certain repair capacity in urinary system injury. This paper reviewed the literatures about the application of MSC-Exos on urinary system injury in recent years to provide a further basis for the mechanism and related research.

Keywords mesenchymal stem cells; exosomes; tissue engineering; urinary system injury; repair

泌尿系各种急、慢性损伤导致的组织器官结构缺损和功能缺失是泌尿外科临床医生面临的棘手问

题, 其中涉及到的先天性畸形、外伤、肿瘤、炎症等病因往往难以得到满意的治疗效果。干细胞和再

收稿日期: 2019-03-12

接受日期: 2019-05-31

国家自然科学基金(批准号: 81873627)资助的课题

*通讯作者。Tel: 18951727373, E-mail: weizql@163.com

Received: March 12, 2019

Accepted: May 31, 2019

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.81873627)

*Corresponding author. Tel: +86-18951727373, E-mail: weizql@163.com

网络出版时间: 2020-01-06 17:08:40

URL: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20200106.1708.020.html>

生医学技术为泌尿系损伤修复带来了新的曙光。间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)是来源于中胚层的一类多能干细胞, 主要存在于骨髓、脂肪、脐带、胎盘、肌肉、滑膜、骨骼等多种结缔组织和器官间质中, 外周血、羊水及尿液中也已发现并可制备MSCs。MSCs因具有增殖能力强、多向分化潜能、免疫调节等特性而被广泛应用于组织工程及再生医学中。研究表明, 骨髓间充质干细胞(bone marrow-derived mesenchymal stem cells, BMMSCs)、脂肪干细胞(adipose-derived stem cells, ASCs)、尿源性干细胞(urine-derived stem cells, USCs)、脐带间充质干细胞(umbilical cord-derived mesenchymal stem cells, UCMSCs)等多种MSCs移植均能不同程度地改善泌尿系损伤组织器官的功能^[1-3]。然而, 移植后的干细胞存在成活率低、存活时间短及分化归巢率不高等问题, 尤其在缺血、缺氧等病态微环境中问题更为突出, 且存在多向分化及致瘤性等潜在风险^[4]。这使得研究者将研究方向转为干细胞的旁分泌效应上, 而外泌体(exosomes)是干细胞旁分泌效应的主要活性物质。与干细胞相比, 作为其旁分泌产物的外泌体具有免疫原性更低、移植感染及致瘤风险更低、生物学特性更稳定(外泌体在-80℃保存2年仍能保持其生物学功能^[5])等优点。本文就MSCs来源的外泌体MSC-Exos在泌尿系损伤修复中的研究进展进行综述, 为今后进一步探讨MSC-Exos修复泌尿系损伤的作用机制及其相关研究提供参考和依据。

1 外泌体的主要干细胞来源

外泌体是由细胞内多泡体与细胞膜融合后释放到细胞外基质中直径为30~150 nm的膜性小囊泡, 现多特指直径30~100 nm的盘状囊泡, 携带相应来源细胞的生物学信息^[6]。有研究已证实, 人体多种细胞(MSCs、肿瘤细胞、淋巴细胞、上皮细胞、神经元细胞、脂肪细胞等)和体液(血液、尿液、唾液、乳液、羊水、腹水、胸水等)以及干细胞的条件培养基中都存在由细胞分泌的外泌体^[7]。目前用于泌尿系统损伤修复研究中的MSC-Exos大多取自ASCs、BMMSCs、UCMSCs和USCs^[8-9]。其中, USCs是一种新型的成体干细胞来源, 具有MSCs的生物学特性, 可分化为平滑肌细胞、成骨细胞、成脂细胞、成软骨细胞、神经细胞和内皮细胞等, 且具备高度的自我更新能力和旁分泌特性, 从而能达到修复组

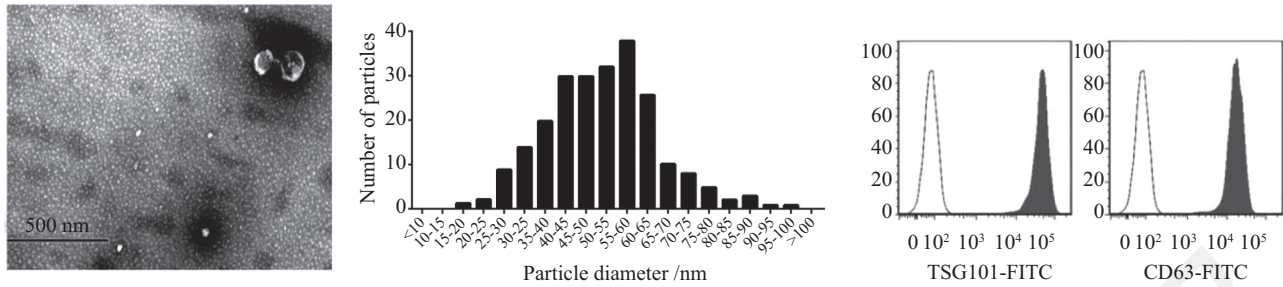
织或器官损伤、促进愈合的目的^[10]。近年来陆续有学者进行USCs相关研究并从中提取出外泌体, 因其来源丰富、尿液采集方便、安全无创伤、无伦理学问题、制备过程简便、成本低等优点吸引了研究者关注^[11-12]。

2 MSC-Exos的生物学特性

外泌体易与邻近细胞的胞膜融合或者以靶受体的方式被相结合, 在细胞间传递各种细胞因子或RNA等一系列活性成分, 进而使靶细胞发生相应的生物学效应, 发挥与来源细胞相似的特定生物学功能。MSC-Exos携带包含亲代干细胞的mRNA、microRNA、蛋白质、脂质及多种抗细胞凋亡和促血管生成因子组成的复杂成分, 是干细胞旁分泌效应的主要介质^[13]。高效液相色谱分析也证实, 外泌体是干细胞条件培养液中发挥主导作用的物质。外泌体移植的实验治疗效果并不亚于其所来源的干细胞, miRNA序列表明, MSC-Exos对心肌损伤的修复作用甚至优于MSCs^[14]。

2.1 MSCs的分离培养及外泌体的提取

ASCs与BMMSCs表达的 surface 标志物类似, 但存在一些分子差异, 其区别在于前者CD9、CD49d、CD55和CD59等表达阳性, 而后者CD22、CD51、CD64a、CD140b等表达阳性^[15]。由于ASCs、BMMSCs等干细胞的提取均需要侵入性操作, 并且具有潜在的并发症, 相比之下USCs则是干细胞替代治疗中较为理想的非侵入性种子细胞。ASCs多通过吸脂术或切除术获得脂肪组织, 取材相对方便, 其分离方法主要有组织块贴壁法、酶消化法、机械分离法、悬浮培养法等, 前两种方法使用较为广泛。组织块贴壁法实验成本低, 但脂肪组织块易脱落。酶消化法干细胞产量高, 但成本高, 且胶原酶有一定毒副作用。BMMSCs的分离也有全骨髓贴壁法、红细胞溶解法、免疫磁珠分选法等。全骨髓贴壁法应用广泛, 多次更换培养液可获得较为纯化的干细胞^[16]。USCs的分离方法则有两种, 区别在于离心一次还是两次。前者将尿液离心后弃去上清液、加入专用培养基混匀, 再加入24孔板进行培养^[17]。后者则在离心、弃上清后加入PBS洗涤, 再次离心、弃上清后加入培养基然后培养^[18]。待干细胞长满细胞培养瓶80%~90%后即可进行外泌体的提取, 包括超高速离心、蔗糖密度梯度离心、超滤离心、磁珠免疫、聚



A: USC-Exos的透射电镜图。B: 自TEM图像计算USC-Exos的平均直径(51.57 ± 2.93) nm; $n=232$, 每5 nm组绘制外泌体频率。C: 流式细胞直方图显示USC-Exos结合珠上存在外泌体表面标志物CD63和TSG101(实心灰色曲线)。

A: morphology of USC-Exos under transmission electron microscopy. B: the mean diameter of USC-Exos (51.57 ± 2.93) nm; $n=232$ was calculated from TEM images and the exosomes frequency was plotted for indicated size groups of 5 nm each. C: representative flow cytometry histograms showing the presence of exosomal surface markers CD63 and TSG101 on USC-Exos-bound beads (solid gray curves).

图1 USC-Exos的生物学特性(根据参考文献[10]修改)

Fig.1 Biological characteristics of USC-Exos (modified from reference [10])

乙二醇(polyethylene glycols, PEG)-base沉淀、色谱及试剂盒提取等方法^[19]。超高速离心法是目前最常用的外泌体提取手段, 操作相对简单、获得的外泌体数量较多、纯度较高, 但需要专业设备、耗时较长, 且反复离心可能降低外泌体质量。商业试剂盒因高成本和相对低的外泌体纯度而被限制了推广。Rider等^[20]采用名为Extra PEG的方法先通过低速离心的方式快速、低成本地从培养基中富集外泌体, 再进行单次小体积的超速离心纯化步骤, 中获得的外泌体的总蛋白质和RNA在数量和质量上足以用于蛋白质组学和测序分析。

2.2 MSC-Exos的鉴定

Bucan等^[21]用大鼠BMMSCs提取外泌体, 电子显微镜下显示其直径约40 nm, Western blot及流式细胞仪鉴定显示, CD9、CD63、CD81呈阳性表达。Cooper等^[22]利用含有磁珠的试剂盒提取人ASCs来源的外泌体(ASCs-derived exosomes, ASC-Exos), 发现ASC-Exos表达标志性蛋白Alix和CD63。Chen等^[10]自人USCs中分离出外泌体后用电子显微镜和流式细胞仪进行鉴定(图1)。透射电镜下外泌体的形态呈杯状或球形、直径为(51.57 ± 2.93) nm, CD63及肿瘤易感基因101(tumor susceptibility gene 101, *TSG101*)表达阳性。这些研究说明, MSC-Exos主要表达外泌体通用标志物, 如CD9、CD63、CD81、TSG101等。此外, 也有研究指出, 这些外泌体还可表达MSCs表面特异性标志物(如CD29、CD44、CD73等)^[7,23]。值得注意的是, Choudhery等^[24]研究了40例志愿者后发现, 老年供体ASCs的存活率、增殖能力及分化潜能均低于年轻供体, 前者高表达衰老相关基因*p16*和

p21。Gao等^[25]也研究发现, 儿童组比中年和老年组健康志愿者的USCs增殖更快、衰老趋势更低、成骨能力更强。虽然该研究所纳入的人数过少(仅19名志愿者), 但仍显示供体年龄可能影响USCs的增殖、衰老和成骨分化能力。这都提示, 年龄对MSC-Exos的功能可能有一定的影响。

2.3 各类MSCs之间的比较

Kang等^[26]比较了从同一患者收集的USCs和ASCs的特征和分化能力, 发现USCs具有更高的干细胞增殖率、更强的免疫调节能力以及更高的肌源性、神经源性和内源性分化率, 而成骨、成脂和软骨分化率则更低。可见, USC在作为肌肉、神经元和内皮组织重建的替代自体干细胞来源上, 比ASCs更具优势。正如Kocan等^[15]指出的那样, 应特别重视研究MSC-Exos, 因为作为干细胞旁分泌效应的产物, 外泌体已被广泛认为在再生医学应用中比干细胞移植到损伤部位及其分化能力更重要。Baglio等^[27]研究发现, ASCs和BMMSCs分泌的外泌体中均富含特异性miRNA和tRNA, 其RNA种类的分布和组成类似, 但分化落后的tRNA类别有明显差异, 这可能与MSCs的分化状态有关。然而, 目前暂未检索到各类MSC-Exos功能之间相互比较的相关文献。

3 MSC-Exos在泌尿系损伤修复中的基础研究

因MSC-Exos在组织再生修复中具有生物学特性稳定、多向分化能力良好、移植风险及并发症更低等优点, 国内外已有众多研究将来源于ASCs、BMMSCs、UCMSCs、USCs等MSCs的外泌体用于

肾脏、膀胱、尿道等泌尿系组织或器官的损伤修复中,对糖尿病泌尿系统并发症也具有良好的改善作用。

3.1 肾损伤修复

研究表明,干细胞对肾脏的修复再生作用并非依赖于它们的分化和替代受损组织的能力,而是主要由旁分泌效应释放的因子介导,包括由微囊泡和外泌体组成的细胞外囊泡^[28]。MSC-Exos治疗改善了几种急性肾损伤和慢性肾病动物模型的肾脏转归,包括缺血再灌注损伤、药物或毒素诱发的肾病、肾血管疾病、输尿管梗阻等。

Zhu等^[29]在对单侧肾缺血再灌注小鼠的研究中发现,人ASCs移植可上调管状上皮细胞依赖性Sox9转录因子的表达,促进肾小管再生、减轻随之而来的慢性肾纤维化。然而,这种有益效果被抑制ASCs分泌外泌体的药物消除。同时,Sox9抑制剂也逆转了这些保护作用。由此得知,ASCs利用外泌体通过激活Sox9基因达到减弱急性肾损伤向慢性肾病转变的作用。Gregorini等^[30]发现,BMMSCs来源的外泌体(BMMSCs-derived exosomes, BMMSC-Exos)灌注分离的大鼠肾脏可预防缺血性肾损伤。Zhang等^[31]研究发现,人UCMSCs对急性缺血再灌注损伤大鼠的肾保护作用与外泌体的抗氧化应激作用有关。在大鼠单侧肾缺血后静脉注射外泌体,受损肾组织中还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸氧化酶2(nicotinamide-adenine dinucleotide phosphate oxidase 2, NOX2)和活性氧(reactive oxygen species, ROS)的表达下降,氧化应激明显减轻,同时细胞凋亡减少、细胞增殖增强,肾纤维化和肾功能也得以改善。MSC-Exos也可通过免疫调节中的抗炎作用保护肾功能。Eirin等^[9]利用猪自体ASC-Exos干预肾动脉狭窄的猪模型后发现,肾血流量和肾小球滤过率能得以恢复,外泌体治疗能减轻肾脏炎症,并改善肾髓质氧合和纤维化,而这些肾保护作用在预沉默IL10(IL10敲低)的ASC-Exos处理的猪中减弱。Zou等^[32]研究发现,在缺血性急性肾损伤大鼠模型中静脉注射MSC-Exos后肾细胞凋亡减轻、增殖增强,在最初的48小时内肾脏炎症也得到缓解。MSC-Exos可以抑制CX3CL1的表达并减少肾脏中CD68⁺巨噬细胞的数量。后期亦观察到肾功能的改善和肾纤维化的消除。而在体外, MSC-Exos可以在24或48小时下调缺氧损伤后人脐静脉内皮细胞中CX3CL1的表达。可见, MSC-Exos可以改善急性和慢性期肾损伤,其抑

制CX3CL1的表达可能是一种潜在机制。Wu等^[33]在肾缺血再灌注损伤动物模型中的研究也得出了类似结论,他们还发现, MSC-Exos降低了 α -平滑肌肌动蛋白(alpha-smooth muscle actin, α -SMA)和转化生长因子- β 1(transforming growth factor β 1, TGF- β 1)的表达水平,并在多个时间点(24小时、48小时、1周或2周)增加了肝细胞生长因子(hepatocyte growth factor, HGF)的表达水平。

Collino等^[34]研究发现, BMMSC-Exos来源的外泌体体外可以抵抗肾小管上皮细胞的凋亡并刺激小管细胞增殖,并在甘油诱导的急性肾损伤小鼠模型中可以明显改善肾脏形态和功能的损伤,原因可能是外泌体将自身携带的来源于间充质干细胞的大量蛋白质、脂质、多种编码或非编码的RNA,以及与促进细胞增殖、抑制细胞凋亡的细胞因子、生长因子传递给了受损的细胞。而在顺铂诱导的急性肾损伤大鼠模型研究中,移植人UCMSCs源性外泌体后大鼠的肾功能有所恢复,肾组织病理损伤得到改善、肾小管上皮细胞凋亡明显减少(凋亡相关蛋白的表达减少、增殖和抗凋亡蛋白的表达增加)^[35]。该研究发现, MSC-Exos在体外不仅抑制顺铂诱导的肾小管上皮细胞线粒体凋亡和炎性细胞因子的分泌,还能增加自噬标记蛋白LC3B和自噬相关基因ATG5和ATG7的表达。这表明, MSC-Exos可通过激活自噬来有效缓解顺铂的肾毒性。

Wang等^[36]研究发现,人BMMSC-Exos移植在单侧输尿管梗阻(unilateral ureteral obstruction, UUO)小鼠模型中能选择性归巢于受损的肾细胞,并过表达miRNA-let7c基因,有效缓解了肾损伤并显著下调UUO肾中的胶原IV α 1、金属蛋白酶-9、TGF- β 1和TGF- β 1型受体,从而达到有效抗纤维化、修复肾损伤的作用。该研究体外实验也证实,过表达miRNA-let7c基因的MSC-Exos能明显抑制TGF- β 1诱导的NRK52E细胞中纤维化基因的表达上调。MSC-Exos对改善糖尿病肾病的也能发挥良好的作用。人USCs来源的外泌体(USCs-derived exosomes, USC-Exos)对1型糖尿病大鼠的肾脏也具有保护作用,能通过抑制足细胞凋亡,促进血管再生和细胞存活,具有预防和治疗糖尿病肾病的作用^[37]。

3.2 膀胱损伤修复

Huang等^[38]用BMMSCs干预糖尿病性膀胱病大鼠模型后,大鼠膀胱残余尿量有所减少,膀胱收缩反

应、膀胱组织结构和平滑肌再生及血管形成也有所改善。Dong等^[39]发现, USC也能显著缓解II型糖尿病大鼠并发症中的组织学破坏和功能下降, 使膀胱逼尿肌的纤维化和凋亡过程受到明显抑制, 能部分恢复膀胱的收缩功能, 具有治疗神经源性膀胱功能障碍的作用。USCs能通过抑制氧化应激、减轻炎症反应和凋亡过程来恢复膀胱功能和组织学结构^[40]。可见在对糖尿病性膀胱病的研究中, 干细胞已表现出良好的膀胱修复作用。但目前尚缺乏MSC-Exos在神经源性膀胱中的应用报道。在膀胱炎症性损伤的研究中, 有实验证实, *Mfn2*是间质性膀胱炎中miR-214的靶基因。与正常膀胱组织相比, 间质性膀胱炎膀胱组织中miR-214减少, 但*Mfn2*增加。ASC-Exos能通过miR-214调节膀胱上皮-间质转分化进程, 下调*Mfn2*延缓膀胱壁纤维化, 达到改善绝经后妇女间质性膀胱炎的作用^[41]。

3.3 尿道损伤修复

MSC-Exos也可应用于尿道损伤修复并治疗尿失禁。既往一些研究发现, 干细胞能再生尿道括约肌、缓解压力性尿失禁症状^[42], 近年来, MSC-Exos在此方面具有更佳的应用效果。Ni等^[43]研究了大鼠压力性尿失禁模型, 经外周尿道局部注射人ASC-Exos, 在第2、4和8周后对大鼠进行膀胱测压和漏尿点压力测试, 并收集组织用于组织化学分析。体内实验表明, 外泌体组大鼠膀胱容量和漏尿点压力增高、尿道横纹肌纤维和外周神经纤维增多。外泌体组大鼠的尿道功能和组织学改变均略好于ASCs组, 显示局部注射ASC-Exos可明显改善压力性尿失禁大鼠的尿道功能和组织学恢复。Liu等^[44]研究发现, ASC-Exos能调节压力性尿失禁女性成纤维细胞中的I型胶原代谢, 通过增加阴道成纤维细胞中胶原合成和降低胶原蛋白降解来增加I型胶原蛋白含量, 从而发挥治疗压力性尿失禁的治疗作用。

4 MSC-Exos的临床研究

目前已有数十个临床试验开展了MSCs治疗急性肾损伤和慢性肾病, 这些临床研究表明, 干细胞修复急性、慢性肾损伤具有安全可靠并且患者耐受良好的特点。基于MSC-Exos在大量基础研究中显示出对肾损伤的良好修复作用, Nassar等^[45]开展了MSC-Exos对慢性肾损伤肾脏保护作用的临床试验。他们将40名肾小球滤过率15~60 mL/min的慢性肾病患者

分为2组, 随访12个月, UCMSCs源性外泌体治疗组患者的肾小球滤过率、肌酐、尿素氮以及尿白蛋白/肌酐比率等肾功能指标得到明显改善。外泌体治疗组的患者, 炎症性免疫反应指标血浆TNF- α 水平明显降低、TGF- β 1和IL-10水平明显增加。外泌体治疗3个月后肾活检病理结果显示, 肾脏表面细胞再生和分化标志物的表达均上调。而且在整个外泌体治疗研究期间患者均未出现明显不良事件。该研究表明, MSC-Exos可以改善肾脏炎症和肾功能, 能安全地改善慢性肾病患者临床疾病进展。然而, 迄今尚未查询到其他类似的临床试验, 长期的后续随访也需要证实这种方法对患者是否能维持治疗作用, 而用于临床的人体细胞外囊泡或外泌体的制剂也正在研发^[46]。

5 结语和展望

近年来, MSC-Exos已成为干细胞、再生医学和组织工程等领域研究的新热点, 应用前景广阔。不同组织来源的MSC-Exos对泌尿系损伤均有一定的修复能力。骨髓及脂肪组织是研究者最为常用的MSCs来源, 但具有取材不便、取材部位局限及有创的方式取材需要通过人的知情同意或动物的伦理要求等劣势, 相比之下尿液是较为理想的非侵入性MSCs来源。由于起源于泌尿系统, USC-Exos在泌尿系组织损伤修复中具有明显优势。更重要的是, USC-Exos可通过无创、相对简单和低成本的方法获得, 是应用于泌尿系统疾病较好的成体干细胞来源的外泌体。总之, 现有研究表明, MSC-Exos对泌尿系损伤具有良好的修复作用, USC-Exos极具应用潜力。但MSC-Exos相关临床研究偏少, 具体作用机制仍不甚明确, 自体 and 异体MSC-Exos是否存在功能差异也鲜有报道, 这些方面均值得改进。因此, 今后可开展下列研究。(1)探寻无创、简单、快速的MSC-Exos来源, 尿液来源潜力巨大, 可进一步探索和优化提取、鉴定及培养扩增方法。(2)MSC-Exos修复泌尿系损伤的作用机制值得深入研究, 所牵涉到的分子机制、下游信号通路等问题需进一步在体内、外实验中探讨。(3)自体 and 异体来源的MSC-Exos、同种和异种来源的MSC-Exos功能上是否有差异值得研究。无免疫原性或低免疫原性的MSC-Exos值得开发。(4)应不断加大MSC-Exos的临床应用研究, 尤其是对于目前药物无法改善的泌尿生殖系慢

性不可逆性损伤, MSC-Exos具有重要的临床价值。相信随着研究的不断深入, MSC-Exos的功能和作用机制将更为明确, 这也将为MSC-Exos在治疗泌尿系损伤方面提供新思路 and 理论依据。

参考文献 (References)

- 1 Ibrahim ME, Bana EE, El-Kerdasy HI. Role of bone marrow derived mesenchymal stem cells and the protective effect of silymarin in cisplatin-induced acute renal failure in rats. *Am J Med Sci* 2018; 355(1): 76-83.
- 2 Kim A, Yu HY, Lim J, Ryu CM, Kim YH, Heo J, *et al.* Improved efficacy and *in vivo* cellular properties of human embryonic stem cell derivative in a preclinical model of bladder pain syndrome. *Sci Rep* 2017; 7(1): 8872.
- 3 Furuta A, Yamamoto T, Igarashi T, Suzuki Y, Egawa S, Yoshimura N. Bladder wall injection of mesenchymal stem cells ameliorates bladder inflammation, overactivity, and nociception in a chemically induced interstitial cystitis-like rat model. *Int Urogynecol J* 2018; 29(11): 1615-22.
- 4 Josse C, Schoemans R, Niessen NA, Delgaudine M, Hellin AC, Herens C, *et al.* Systematic chromosomal aberrations found in murine bone marrow-derived mesenchymal stem cells. *Stem Cells Dev* 2010; 19(8): 1167-73.
- 5 Lindoso RS, Collino F, Bruno S, Araujo DS, Sant'Anna JF, Tetta C, *et al.* Extracellular vesicles released from mesenchymal stromal cells modulate miRNA in renal tubular cells and inhibit ATP depletion injury. *Stem Cells Dev* 2014; 23(15): 1809-19.
- 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. *中华医学杂志(Zhang Dengshen, Liu Daxing, Liang Guiyou. Research progress on exosome-derived microRNAs in the pathogenesis of cardiovascular diseases. Natl Med J China)* 2018; 98(46): 3802-4.
- 7 Sun B, Peng J, Wang S, Liu X, Zhang K, Zhang Z, *et al.* Applications of stem cell-derived exosomes in tissue engineering and neurological diseases. *Rev Neurosci* 2018; 29(5): 531-46.
- 8 Bruno S, Tapparo M, Collino F, Chiabotto G, Deregibus MC, Soares Lindoso R, *et al.* Renal regenerative potential of different extracellular vesicle populations derived from bone marrow mesenchymal stromal cells. *Tissue Eng Part A* 2017; 23(21/22): 1262-73.
- 9 Eirin A, Zhu XY, Puranik AS, Tang H, McGurran KA, van Wijnen AJ, *et al.* Mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles attenuate kidney inflammation. *Kidney Int* 2017; 92(1): 114-24.
- 10 Chen CY, Rao SS, Ren L, Hu XK, Tan YJ, Hu Y, *et al.* Exosomal DMBT1 from human urine-derived stem cells facilitates diabetic wound repair by promoting angiogenesis. *Theranostics* 2018; 8(6): 1607-23.
- 11 Shi L, Cui Y, Luan J, Zhou X, Han J. Urine-derived induced pluripotent stem cells as a modeling tool to study rare human diseases. *Intractable Rare Dis Res* 2016; 5(3): 192-201.
- 12 Gao P, Jiang D, Liu W, Li H, Li Z. Urine-derived stem cells, a new source of seed cells for tissue engineering. *Curr Stem Cell Res Ther* 2016; 11(7): 547-53.
- 13 Rosca AM, Rayia DM, Tutuianu R. Emerging role of stem cells-derived exosomes as valuable tools for cardiovascular therapy. *Curr Stem Cell Res Ther* 2017; 12(2): 134-8.
- 14 Shao L, Zhang Y, Lan B, Wang J, Zhang Z, Zhang L, *et al.* MiRNA-sequence indicates that mesenchymal stem cells and exosomes have similar mechanism to enhance cardiac repair. *Biomed Res Int* 2017; 2017: 4150705.
- 15 Kocan B, Maziarz A, Tabarkiewicz J, Ochiya T, Banas-Zabczyk A. Trophic activity and phenotype of adipose tissue-derived mesenchymal stem cells as a background of their regenerative potential. *Stem Cells Int* 2017; 2017: 1653254.
- 16 Ge S, Ma Y, Rui X, Zhang J, Wang X, Su J. [Isolation and identification of extracellular vesicles from rat bone marrow mesenchymal stem cells]. *Xi Bao Yu Fen Zi Mian Yi Xue Za Zhi* 2017; 33(10): 1381-4.
- 17 陶立, 马文军, 龚梦嘉, 毕杨, 魏光辉, 张元原. 糖尿病肾病患者尿源性干细胞的分离鉴定及与健康人尿源性干细胞的细胞生物学比较研究. *中国细胞生物学学报(Tao Li, Ma Wenjun, Gong Mengjia, Bi Yang, Wei Guanghui, Zhang Yuanyuan. Isolation and identification of urine derived stem cells from patients with diabetic nephropathy and comparison with urine derived stem cells from healthy people in biological characteristics. Chinese Journal of Cell Biology)* 2018; 40(2): 194-201.
- 18 Wang C, Hei F, Ju Z, Yu J, Yang S, Chen M. Differentiation of urine-derived human induced pluripotent stem cells to alveolar type II epithelial cells. *Cellular Reprogram* 2016; 18(1): 30-6.
- 19 Li P, Kaslan M, Lee SH, Yao J, Gao Z. Progress in exosome isolation techniques. *Theranostics* 2017; 7(3): 789-804.
- 20 Rider MA, Hurwitz SN, Meckes DG, Jr. ExtraPEG: a polyethylene glycol-based method for enrichment of extracellular vesicles. *Sci Rep* 2016; 6: 23978.
- 21 Bucan V, Vaslaitis D, Peck CT, Strauss S, Vogt PM, Radtke C. Effect of exosomes from rat adipose-derived mesenchymal stem cells on neurite outgrowth and sciatic nerve regeneration after crush injury. *Mol Neurobiol* 2019; 56(3): 1812-24.
- 22 Cooper DR, Wang C, Patel R, Trujillo A, Patel NA, Prather J, *et al.* Human adipose-derived stem cell conditioned media and exosomes containing MALAT1 promote human dermal fibroblast migration and ischemic wound healing. *Adv Wound Care (New Rochelle)* 2018; 7(9): 299-308.
- 23 Yu B, Shao H, Su C, Jiang Y, Chen X, Bai L, *et al.* Exosomes derived from MSCs ameliorate retinal laser injury partially by inhibition of MCP-1. *Sci Rep* 2016; 6: 34562.
- 24 Choudhery MS, Badowski M, Muise A, Pierce J, Harris DT. Donor age negatively impacts adipose tissue-derived mesenchymal stem cell expansion and differentiation. *J Transl Med* 2014; 12: 8.
- 25 Gao P, Han P, Jiang D, Yang S, Cui Q, Li Z. Effects of the donor age on proliferation, senescence and osteogenic capacity of human urine-derived stem cells. *Cytotechnology* 2017; 69(5): 751-63.
- 26 Kang HS, Choi SH, Kim BS, Choi JY, Park GB, Kwon TG, *et al.* Advanced properties of urine derived stem cells compared to adipose tissue derived stem cells in terms of cell proliferation, immune modulation and multi differentiation. *J Korean Med Sci* 2015; 30(12): 1764-76.
- 27 Baglio SR, Rooijers K, Koppers-Lalic D, Verweij FJ, Perez Lanzon M, Zini N, *et al.* Human bone marrow- and adipose-mesenchymal stem cells secrete exosomes enriched in distinctive

- miRNA and tRNA species. *Stem Cell Res Ther* 2015; 6: 127.
- 28 Aghajani Nargesi A, Lerman LO, Eirin A. Mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles for kidney repair: current status and looming challenges. *Stem Cell Res Ther* 2017; 8(1): 273.
 - 29 Zhu F, Chong Lee Shin OLS, Pei G, Hu Z, Yang J, Zhu H, *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): 70707-26.
 - 30 Gregorini M, Corradetti V, Pattonieri EF, Rocca C, Milanese S, Peloso A, *et al.* Perfusion of isolated rat kidney with mesenchymal stromal cells/extracellular vesicles prevents ischaemic injury. *J Cell Mol Med* 2017; 21(12): 3381-93.
 - 31 Zhang G, Zou X, Miao S, Chen J, Du T, Zhong L, *et al.* The anti-oxidative role of microvesicles derived from human Wharton-Jelly mesenchymal stromal cells through NOX2/gp91 (phox) suppression in alleviating renal ischemia-reperfusion injury in rats. *PLoS One* 2014; 9(3): e92129.
 - 32 Zou X, Zhang G, Cheng Z, Yin D, Du T, Ju G, *et al.* Microvesicles derived from human Wharton's Jelly mesenchymal stromal cells ameliorate renal ischemia-reperfusion injury in rats by suppressing CX3CL1. *Stem Cell Res Ther* 2014; 5(2): 40.
 - 33 Wu X, Yan T, Wang Z, Wu X, Cao G, Zhang C, *et al.* Microvesicles 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): 1879-88.
 - 34 Collino F, Bruno S, Incarnato D, Dettori D, Neri F, Provero P, *et al.* AKI recovery induced by mesenchymal stromal cell-derived extracellular vesicles carrying microRNAs. *J Am Soc Nephrol* 2015; 26(10): 2349-60.
 - 35 Wang B, Jia H, Zhang B, Wang J, Ji C, Zhu X, *et al.* Pre-incubation with hucMSC-exosomes prevents cisplatin-induced nephrotoxicity by activating autophagy. *Stem Cell Res Ther* 2017; 8(1): 75.
 - 36 Wang B, Yao K, Huuskes BM, Shen HH, Zhuang J, Godson C, *et al.* Mesenchymal stem cells deliver exogenous microRNA-let7c via exosomes to attenuate renal fibrosis. *Mol Ther* 2016; 24(7): 1290-301.
 - 37 Jiang ZZ, Liu YM, Niu X, Yin JY, Hu B, Guo SC, *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.
 - 38 Huang Y, Ding L, Shao Y, Chen Z, Shen B, Ma Y, *et al.* Integrin-linked kinase improves functional recovery of diabetic cystopathy and mesenchymal stem cell survival and engraftment in rats. *Can J Diabetes* 2017; 41(3): 312-21.
 - 39 Dong X, Zhang T, Liu Q, Zhu J, Zhao J, Li J, *et al.* Beneficial effects of urine-derived stem cells on fibrosis and apoptosis of myocardial, glomerular and bladder cells. *Mol Cell Endocrinol* 2016; 427: 21-32.
 - 40 Li J, Luo H, Dong X, Liu Q, Wu C, Zhang T, *et al.* Therapeutic effect of urine-derived stem cells for protamine/lipopolysaccharide-induced interstitial cystitis in a rat model. *Stem Cell Res Ther* 2017; 8(1): 107.
 - 41 Lv JW, Wen W, Jiang C, Fu QB, Gu YJ, Lv TT, *et al.* Inhibition of microRNA-214 promotes epithelial-mesenchymal transition process and induces interstitial cystitis in postmenopausal women by upregulating Mfn2. *Exp Mol Med* 2017; 49(7): e357.
 - 42 Aicher WK, Hart ML, Stallkamp J, Klunder M, Ederer M, Sawodny O, *et al.* Towards a treatment of stress urinary incontinence: application of mesenchymal stromal cells for regeneration of the sphincter muscle. *J Clin Med* 2014; 3(1): 197-215.
 - 43 Ni J, Li H, Zhou Y, Gu B, Xu Y, Fu Q, *et al.* Therapeutic potential of human adipose-derived stem cell exosomes in stress urinary incontinence-an *in vitro* and *in vivo* study. *Cell Physiol Biochem* 2018; 48(4): 1710-22.
 - 44 Liu X, Wang S, Wu S, Hao Q, Li Y, Guo Z, *et al.* Exosomes secreted by adipose-derived mesenchymal stem cells regulate type I collagen metabolism in fibroblasts from women with stress urinary incontinence. *Stem Cell Res Ther* 2018; 9(1): 159.
 - 45 Nassar W, El-Ansary M, Sabry D, Mostafa MA, Fayad T, Kotb E, *et al.* Umbilical cord mesenchymal stem cells derived extracellular vesicles can safely ameliorate the progression of chronic kidney diseases. *Biomater Res* 2016; 20: 21.
 - 46 Gimona M, Pachler K, Laner-Plamberger S, Schallmoser K, Rohde E. Manufacturing of human extracellular vesicle-based therapeutics for clinical use. *Int J Mol Sci* 2017; 18(6): 1190.