

丁甜甜,吕凤凤,赵巧英,等. 外泌体在系统性硬化症中的研究进展 [J]. 中国比较医学杂志, 2022, 32(9): 115-121.

Ding TT, Lyu FF, Zhao QY, et al. Research progress of exosomes in systemic sclerosis [J]. Chin J Comp Med, 2022, 32(9): 115-121.

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2022.09.016

## 外泌体在系统性硬化症中的研究进展

丁甜甜<sup>1,2</sup>, 吕凤凤<sup>3</sup>, 赵巧英<sup>3</sup>, 孙晓林<sup>3\*</sup>, 王永福<sup>2,3\*</sup>

(1.内蒙古科技大学包头医学院, 内蒙古 包头 014010; 2.内蒙古科技大学包头医学院  
第一附属医院风湿免疫科, 内蒙古 包头 014010; 3.内蒙古科技大学包头医学院第一附属医院中心实验室  
(内蒙古自治区自体免疫学重点实验室), 内蒙古 包头 014010)

**【摘要】** 外泌体是由大多数细胞分泌的小囊泡。外泌体及其包含的 microRNA、mRNA、蛋白质在细胞间通讯中起重要作用。研究表明外泌体具有免疫调节作用,参与自身免疫性疾病的发病及免疫治疗,并可作为诊断疾病的有效生物标志物。此外,外泌体可被用作药物传递的生物载体。系统性硬化症(systemic sclerosis, SSc)是一种复杂的自身免疫性疾病,发病机制包括血管损伤、免疫异常、内脏器官及皮肤纤维化。近年来,在研究 SSc 的发病机制方面取得了不错的进展,推动了临床治疗方面的研究。本文综述了外泌体的组成、功能,外泌体在 SSc 发病以及诊治方面的潜在作用。

**【关键词】** 外泌体; 系统性硬化症; 免疫调节; 诊断; 治疗

**【中图分类号】** R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856 (2022) 09-0115-07

## Research progress of exosomes in systemic sclerosis

DING Tiantian<sup>1,2</sup>, LYU Fengfeng<sup>3</sup>, ZHAO Qiaoying<sup>3</sup>, SUN Xiaolin<sup>3\*</sup>, WANG Yongfu<sup>2,3\*</sup>

(1. Baotou Medical College, Inner Mongolia University of Science and Technology, Baotou 014010, China.  
2. Department of Rheumatology, the First Affiliated Hospital of Baotou Medical College, Inner Mongolia University of Science and Technology, Baotou 014010. 3. Central Laboratory of the First Affiliated Hospital of Baotou Medical College, Inner Mongolia University of Science and Technology (Key Laboratory of Autoimmunity of Inner Mongolia), Baotou 014010)

**【Abstract】** Exosomes are small vesicles that can be secreted by most cells. Exosomes and their miRNA, mRNA and proteins play an important role in intercellular communication. Specifically, exosomes play an immunoregulatory role, participate in the pathogenesis and immunotherapy of autoimmune diseases, and can be used as effective biomarkers for diagnosis of diseases. In addition, exosomes can be used as biological carriers for drug delivery. Systemic sclerosis (SSc) is a complex autoimmune disease whose pathogenesis includes vascular damage, immune abnormalities, and fibrosis of internal organs and skin. In recent years, good progress has been made in the study of the pathogenesis of SSc, which has promoted research on clinical treatments. This article reviews the composition and function of exosomes, and their potential role in the pathogenesis, diagnosis and treatment of SSc.

**【Keywords】** exosomes; systemic sclerosis; immunoregulation; diagnosis; therapeutics

**【基金项目】** 国家自然科学基金资助项目(81860294); 内蒙古自治区自然科学基金资助项目(2019MS08055, 2021MS08045); 内蒙古自治区科技计划项目(201802089, 2019GG052)。

**【作者简介】** 丁甜甜(1996—), 女, 在读硕士研究生, 研究方向: 自身免疫性疾病的研究。E-mail: dt1845915080@163.com

**【通信作者】** 王永福(1968—), 男, 博士, 教授, 研究方向: 风湿免疫学的研究。E-mail: wyf5168@hotmail.com

孙晓林(1989—), 女, 博士, 主管检验师, 研究方向: 风湿免疫学的研究。E-mail: yolo\_1010@126.com

\* 共同通信作者

外泌体为 40~150 nm 的脂质双层膜囊泡,囊泡中包括蛋白质、DNA、RNA 及脂类等<sup>[1]</sup>,脂质双层膜能保护囊泡的内容物免受降解。外泌体在透射电子显微镜下类似于扁平的球体,是由多囊内体膜向内凸出并收缩而形成,当多囊内体膜与质膜相互融合时,外泌体被释放进入细胞外<sup>[2]</sup>。几乎所有细胞都可自由分泌外泌体,如肿瘤细胞、B 细胞、T 细胞、中性粒细胞、肥大细胞、脂肪细胞、星形胶质细胞、神经元、血细胞和上皮细胞等<sup>[3]</sup>。当细胞分泌外泌体后,可以在恶性积液、血浆、支气管肺泡灌洗液、唾液、母乳、附睾液和尿液等多种体液中发现<sup>[3]</sup>。外泌体具有许多生物学功能,包括遗传物质运输、免疫反应调节、信号转导和细胞内通讯<sup>[4]</sup>。外泌体的免疫调节功能与自身免疫性疾病的发病机制密切相关,在免疫治疗中发挥重要作用,并可作为诊断疾病的有效生物标志物,如干燥综合征(sjögren's syndrome, SS)、系统性硬化症(systemic sclerosis, SSc)和类风湿性关节炎(rheumatoid arthritis, RA)等。本文旨在讨论外泌体在 SSc 中的最新进展。

## 1 外泌体

### 1.1 外泌体的概念

外泌体是大小为 40~150 nm 的细胞外球形囊泡,由多囊内体膜向内凸出并收缩而形成<sup>[1]</sup>。外泌体含有蛋白质、核酸、脂质和各种细胞因子<sup>[3]</sup>。外泌体中的蛋白质种类丰富,其中包括能够参与外泌体内部生物发生的蛋白质,如 ESCRT 复合体、ALIX、TSG101。与膜转运和融合功能密切相关的蛋白质,如 Rab GTPases 和膜联蛋白<sup>[1]</sup>。外泌体还包括四分体蛋白(CD9、CD63、CD81 和 CD82)、热休克蛋白(HSP70、HSP90)、整联蛋白、II 类蛋白、上皮细胞黏附分子(EpCAM)和人表皮受体(HER)家族的成员等<sup>[1]</sup>。外泌体中的核酸包括 RNA 和 DNA,其中 RNA 常与疾病的发生发展有关,主要包括微小核糖核酸(miRNA)、信使核糖核酸(mRNA)、长链非编码核糖核酸(lncRNA)。外泌体中的脂质主要包括胆固醇、鞘磷脂、己糖神经酰胺、磷脂酰丝氨酸和饱和脂肪酸等<sup>[3]</sup>,它们都是质膜的组成成分。正是由于外泌体内的蛋白质、核酸、脂质和各种细胞因子等使其在生物体内发挥功能。

### 1.2 外泌体的功能

外泌体参与细胞间信号转导,主要参与信息传递、炎症、抗原呈递、肿瘤生长、转移、血管生成等过

程<sup>[5]</sup>。已有研究表明,外泌体在细胞间通讯中起独特的中介作用,当外泌体从细胞表面释放时,外泌体可被受体细胞摄取、吞噬、内化,从而释放内容物或与受体细胞物质交换实现信号交流。外泌体还可与受体细胞膜直接融合,将蛋白质、脂质、核酸等其他物质转运到受体细胞,激活或抑制各种信号通路,介导表型改变。另外,通过膜蛋白和表面粘附分子及受体,激活靶细胞内受体以及下游信号转导途径,外泌体无需进入靶细胞而发挥作用<sup>[3,6]</sup>。此外,外泌体还参与免疫调节,包括抗原呈递、免疫监视、免疫激活和免疫抑制的调节等<sup>[7]</sup>。

## 2 SSc

SSc 是一种病因不明的自身免疫性结缔组织疾病,分为弥漫性系统性硬化症(diffuse systemic sclerosis, dSSc)和局限性系统性硬化症(localized systemic sclerosis, lSSc)。目前关于系统性硬化症的发病机制尚未完全清楚,除了可能的遗传与环境因素外,还包括内皮损伤和纤维增生性血管病变、免疫系统异常和成纤维细胞功能障碍 3 大机制<sup>[8]</sup>。免疫异常可能促进 SSc 纤维化,同时纤维化也可能促进免疫细胞活化。免疫异常也与 SSc 的血管病变有关。大多数研究表明血管损伤是免疫细胞的激活剂<sup>[9]</sup>。因此免疫异常与血管损伤及皮肤器官纤维化 3 者相互影响。越来越多证据显示外泌体与 SSc 的血管损伤、免疫异常和纤维化密切相关。

## 3 外泌体与 SSc

### 3.1 外泌体与血管病变

外泌体已在多种疾病中得到广泛研究。例如外泌体可以促进血管生成,从而促进脊髓神经功能的恢复<sup>[10]</sup>。外泌体以多种方式参与来自不同组织来源的肿瘤的发展,包括促进血管生成、转移和侵袭<sup>[6]</sup>。

SSc 血管病变在 SSc 的发病机制中起着核心作用。器官和组织的血管系统形成过程包括血管形成和血管新生,SSc 血管病变主要是由两者之间的异常平衡引起。在 SSc 患者中,毛细血管和小血管的显著损失表明血管生成过程缺陷,组织缺血通常导致血管生成生长因子,如血管内皮生长因子(VEGF)的表达,导致血管扩张、增殖、内皮细胞迁移和腔壁稳定形成新血管。SSc 中血浆 VEGF 水平升高,这可以刺激血管生成。VEGF 及其受体

VEGFR1 和 VEGFR2 在 SSc 患者皮肤中的表达增加<sup>[11]</sup>。除了 VEGF 水平升高外,SSc 患者表现出体内抗血管生成因子与促血管生成因子水平的异常,具体表现为血管抑素、白细胞介素 4(interleukin 4, IL-4)细胞因子以及趋化因子配体 4 蛋白(CXCL4)等抗血管生成因子水平的升高,内皮素-1、粘附分子、胎盘生长因子(PGF)和成纤维细胞生长因子 2(FGF-2)以及血小板衍生生长因子(PDGF)等促血管生成因子的过度表达<sup>[8]</sup>。

中性粒细胞来源的外泌体参与 SSc 的血管病变。激活的中性粒细胞可释放外泌体,使幼稚的中性粒细胞致敏,并招募邻近的中性粒细胞<sup>[12]</sup>。在研究 SSc 患者的外泌体对血管生成的作用时发现 SSc 患者的中性粒细胞外泌体抑制了人表皮微血管内皮细胞的增殖和迁移<sup>[13]</sup>,内皮细胞在新血管形成和伤口愈合过程中发挥重要作用,因此 SSc 患者的中性粒细胞来源的外泌体具有抑制血管生成的作用。

在研究外泌体对 SSc 伤口愈合中的假定作用时发现,与正常受试者相比,SSc 小鼠的血清外泌体水平显著降低。这种减少可能是由于 SSc 中的血管异常引起的外泌体从皮肤组织向血流的转移受到干扰。血清外泌体水平降低与 SSc 血管受累互为因果关系,具体表现为血清外泌体水平降低的 SSc 小鼠更易出现血管受累,有血管受累的 SSc 小鼠可能由于转移障碍而降低了血清外泌体水平,这反过来又通过下调 I 型胶原蛋白而导致伤口愈合延迟,形成恶性循环,导致更容易出现皮肤溃疡或凹陷性疤痕<sup>[14]</sup>。在血清源性外泌体对 SSc 小鼠伤口愈合的影响实验中发现,相比于对照组缓冲液,用含外泌体的缓冲液处理的 SSc 小鼠皮肤伤口愈合加快,同时,外泌体处理的小鼠伤口组织中 I 型胶原  $\alpha 1$  和 I 型胶原  $\alpha 2$  的基因水平上调<sup>[14]</sup>。因此,用血清来源的外泌体治疗 SSc 小鼠可加速小鼠伤口的愈合。

### 3.2 外泌体与免疫系统

SSc 的特征为自身抗体和细胞因子的产生以及免疫细胞的浸润和激活。参与的细胞因子主要包括 IL-4、白细胞介素 6(interleukin 6, IL-6)和转化生长因子- $\beta$ (transforming growth factor- $\beta$ , TGF- $\beta$ )等,发病过程涉及多种免疫细胞,例如 T 细胞、B 细胞、树突状细胞、肥大细胞和巨噬细胞等,在 SSc 患者的受累器官中 B 细胞、T 细胞和固有免疫细胞浸润普遍增加。先天免疫和适应性免疫在 SSc 的发病机制中扮演重要角色,先天和适应性免疫系统异常可以

引起自身抗体的产生,介导自身免疫<sup>[11]</sup>。B 细胞主要参与自身抗体的产生,但没有证据证明 SSc 自身抗体在疾病中的直接因果意义,自身抗体的存在有助于 SSc 的诊断,并预测其严重程度和疾病进展,例如,在有限或弥漫性 SSc 患者中可检测到抗内皮细胞自身抗体和抗成纤维细胞抗体,并与内皮细胞凋亡和成纤维细胞激活有关<sup>[8]</sup>。

免疫系统不同成分释放的外泌体可能会调节免疫反应。在 SSc 患者中已发现高水平的单核细胞来源的外泌体,并且其可能在调节内皮细胞凋亡中发挥作用,而内皮细胞凋亡是禽和人 SSc 皮肤病变的致病因素<sup>[8]</sup>。CD8<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>调节性 T 细胞释放的外泌体分子可能在调节性 T 细胞介导的免疫抑制中发挥重要作用。研究表明,天然 CD8<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>调节性 T 细胞释放的外泌体,类似于 CD8<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>调节性 T 细胞,可抑制 CD8<sup>+</sup>T 细胞反应和抗肿瘤免疫,由于天然 CD8<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>调节性 T 细胞在维持自身耐受中发挥重要作用<sup>[15]</sup>,因此,来自天然 CD8<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>调节性 T 细胞的外泌体可能成为 SSc 以及自身免疫性疾病免疫治疗的替代物。

不同免疫成分来源的外泌体发挥不同的免疫作用。B 细胞是第一个能够分泌外泌体的免疫细胞。抗原提呈细胞(APC)(如树突状细胞和 B 淋巴细胞等)分泌的外泌体富含共刺激分子以及主要组织相容性复合体(major histocompatibility complex, MHC) I 类和 II 类复合物,APC 通过与抗原相互作用,抗原被蛋白酶降解成的多肽与 MHC 分子结合,此部分多肽即抗原肽,它们通过抗原肽在免疫调节中发挥重要作用<sup>[16]</sup>。许多研究表明,外泌体的抗原呈递功能在刺激免疫反应中发挥关键作用<sup>[4]</sup>。研究发现 B 细胞来源的外泌体可以通过激活 CD4<sup>+</sup>T 细胞,参与由淋巴细胞介导的抗原呈递<sup>[17]</sup>。由于外泌体参与抗原呈递,即使缺乏抗原提呈细胞,外泌体也能够促进 CD4<sup>+</sup>T 细胞和 CD8<sup>+</sup>T 细胞的活化,激活免疫反应<sup>[18]</sup>。B 细胞衍生的淋巴母细胞样细胞系(LCL)产生 MHCII<sup>+</sup>FasL<sup>+</sup>外泌体,其可以诱导 CD4<sup>+</sup>T 细胞的凋亡<sup>[19]</sup>。然而目前关于外泌体参与 SSc 自身免疫的研究缺乏证据,还需进一步探索。

### 3.3 外泌体与纤维化

纤维化是一种修复性过程,其特征为器官组织内过量纤维结缔组织的沉积。肌成纤维细胞是 SSc 纤维化的关键效应细胞。纤维化发生的一个重要过程是成纤维细胞向肌成纤维细胞的转化,由许多



促纤维化因子驱动<sup>[20]</sup>。多种细胞可通过上皮-间质转化途径转化为肌成纤维细胞,如血管内皮细胞、血管平滑肌细胞等,活化后的肌成纤维细胞可合成胶原蛋白,形成细胞外基质,从而导致纤维化<sup>[21]</sup>。血管损伤和功能障碍最有可能导致局部组织缺血,从而促进组织纤维化。

多种信号通路可导致 SSc 纤维化,包括 TGF- $\beta$  信号、Wnt 信号、Toll 样受体 4 信号 (TLR4)、NOTCH 信号、活性氧 (ROS) 生成、腺苷单磷酸激活蛋白激酶 (AMPK) 信号、IL-6 和白细胞介素 23 (interleukin 23, IL-23) 等其他因素<sup>[5]</sup>。TGF- $\beta$  可诱导成纤维细胞向肌成纤维细胞转化,是导致 SSc 纤维化的最重要的生长因子,大部分由血小板产生。Wnt 途径是 SSc 中持续活化成纤维细胞的重要介质,Wnt-3a 激活  $\beta$ -catenin,刺激成纤维细胞增殖和迁移,胶原凝胶收缩,肌成纤维细胞分化,并通过 TGF- $\beta$  信号传导增强纤维化基因表达。NOTCH 信号在 SSc 患者中被激活,并在纤维化中发挥重要作用。除此之外,与纤维化有关的信号还有 TLR4。先天免疫细胞对肌成纤维细胞的激活大多发生在 TLRs 的环境中,阻断 TLR4 信号传导导致肌成纤维细胞转化和基质重塑,从而预防和逆转纤维化<sup>[22]</sup>。随着近年来对外泌体与自身免疫性疾病发病机制的深入研究,越来越多证据显示不同来源的外泌体及外泌体衍生的 RNA 与 SSc 的发病密切相关。

SSc 患者皮肤可出现钙质沉着,钙质沉着病可通过皮肤形成溃疡或感染<sup>[20]</sup>。因此皮肤伤口的愈合对 SSc 患者至关重要。通过研究外泌体与不同纤维化疾病的相关性可知,实质细胞应激后通过释放外泌体,将应激信号传递给邻近的免疫细胞,如巨噬细胞,从而诱导几个器官的纤维化<sup>[23-25]</sup>。皮肤再生依赖于皮肤细胞的增殖。在先前研究中评估了人类脂肪干细胞 (adipose-derived mesenchymal stem cells, ADMSCs) 来源的外泌体是否能够刺激人类真皮成纤维细胞的再生,从而促进伤口愈合,研究发现 ADMSCs 来源的外泌体可被人类真皮成纤维细胞内化,以剂量依赖的方式促进人类真皮成纤维细胞的增殖和迁移,刺激胶原合成,同时也增加了成纤维细胞中 n-钙粘蛋白、细胞周期蛋白-1 和 I 型和 III 型胶原等基因表达,微阵列分析显示了具有再生功能的 miRNAs 的富集,从而加速皮肤再生<sup>[26]</sup>。另外,在研究人类 ADMSCs 来源的外泌体对皮肤伤口愈合的影响中发现,ADMSCs 及其来源的外泌体显

著增加了受体细胞中 miR-19b 的表达,而抑制 miR-19b 导致 ADMSCs 来源的外泌体的治疗效果降低。更进一步研究发现 ADMSCs 来源的外泌体 miR-19b 通过靶向趋化因子 CC 基序配体 1 (CCL1) 和调节通路促进皮肤伤口愈合<sup>[27]</sup>。TGF- $\beta$  通路的激活可导致纤维化,从而促进伤口愈合。这一发现可能有助于开发新的促进伤口愈合的治疗方法。

成纤维细胞来源的外泌体也可以诱导纤维化。在 SSc 中,通过对比正常人皮肤成纤维细胞与 SSc 患者成纤维细胞发现,在 SSc 患者皮肤成纤维细胞中观察到外泌体标记 CD63、CD9 和 CD81 的表达增加,表明外泌体水平增加,而且来源于 SSc 患者成纤维细胞的培养基中 I 型胶原  $\alpha 1$  和 I 型胶原  $\alpha 2$  的 mRNA 水平显著增加,外泌体含量增加可能诱导 SSc 患者成纤维细胞 I 型胶原的表达增加,从而促进纤维化。此外,从 SSc 患者成纤维细胞培养基中分离的外泌体也可以刺激正常成纤维细胞中 I 型胶原的表达<sup>[14]</sup>。由此证明外泌体可能参与 SSc 的纤维化。

研究发现中性粒细胞来源的外泌体包含许多参与 SSc 发病机制的特征性 miRNAs 和 lncRNAs,对 dSSc 患者中性粒细胞来源的外泌体 miRNA 和 lncRNA 表达谱进行系统分析,发现了与外泌体的 miRNAs、lncRNAs 和 mRNAs 相关的信号通路,包括 Wnt、AMPK、IL-23 和 NOTCH 信号通路,同时鉴定出信号通路中与 SSc 纤维化相关的基因对,dSSc 患者中性粒细胞来源的外泌体可激活 Wnt、AMPK、IL-23 和 NOTCH 信号通路,促进纤维化的发生<sup>[5]</sup>。这是第一个系统分析 dSSc 患者中性粒细胞来源的外泌体 miRNA 和 lncRNA 表达谱的研究,一些与 SSc 纤维化相关的 lncRNA-miRNA-mRNA 可能是 dSSc 中潜在的生物标志物和治疗靶点,但这些 RNA 的生物学功能和四个相关信号通路有待进一步探索。

#### 4 外泌体在 SSc 的诊治中的潜在应用

外泌体不仅可以作为生物标志物诊断疾病,还可以作为多种疾病的治疗剂。在临床诊断上,外泌体可能是有效的生物标志物,能够超越目前现有的侵入性方法的诊断。外泌体携带的各种蛋白质和 miRNAs,是包括自身免疫疾病在内的各种疾病的良好生物标志物的来源。外泌体中各种蛋白质水平变化的定量数据可以使这些蛋白质成为有价值的生物标志物,用于诊断 SSc、评估疾病进展和严重

程度或评估患者对治疗的反应。外泌体中的 miRNAs 作为生物标志物或在邻近和远处细胞中作为表型状态修饰者的潜力一直是研究热点。miRNAs 是小的(约 22 个核苷酸)、非编码和进化保守的 RNA,能够在转录后调节大量蛋白编码基因的表达,循环 miRNAs 成为 SSc 潜在的替代诊断和预后标记物<sup>[28]</sup>。在临床治疗上,由于有天然的生物相容性和细胞靶向特性,外泌体成为一种有潜力的药物递送载体<sup>[29]</sup>。目前有许多可用的药物输送的载体,如脂质体、纳米粒子、微胶粒、水凝胶等,但这些载体大多具有如生物利用度低、全身毒性高、较差的生物相容性及生物降解性等缺点。而外泌体和多囊泡体具有某些其他药物输送载体不具备的优点,如有机性、良好的生物利用度、稳定性高、具有很少或非常小的毒性和免疫原性<sup>[12,30]</sup>。与传统的给药系统相比,纳米囊泡给药系统最大的优点是能够将药物提前送到特定的部位,也称为药物靶向。目前的证据表明,外泌体的使用还可以为未来无细胞癌症疫苗的开发奠定基础<sup>[4]</sup>。

越来越多的研究证实外泌体对 SSc 模型小鼠有诊治作用。在博莱霉素诱导的 SSc 小鼠模型中研究脐带间充质干细胞(umbilical cord mesenchymal stem cells, UCMSCs)来源的外泌体对真皮纤维化的影响,结果表明 SSc 小鼠经 UCMSCs 来源的外泌体治疗后恢复了真皮结构,减少了真皮厚度,并增加了皮下脂肪组织厚度。此外,UCMSCs 来源的外泌体抑制 I 型胶原、III 型胶原和  $\alpha$  平滑肌肌动蛋白( $\alpha$  smooth muscle actin,  $\alpha$ -SMA)的表达。在 UCMSCs 来源的外泌体处理的小鼠中, TGF- $\beta$ /Smad 信号通路也受到抑制<sup>[31]</sup>。结果表明,UCMSCs 来源的外泌体可以通过下调 TGF- $\beta$ /Smad 信号通路来减弱真皮纤维化中肌成纤维细胞的激活和胶原沉积,从而改善了 SSc 模型小鼠的皮肤纤维化。

另外,骨髓间充质干细胞(bone marrow mesenchymal stem cells, BM-MSCs)衍生的外泌体是低免疫原性的纳米载体,含有许多免疫调节因子,与 BM-MSCs 的作用相同,可通过自身发挥免疫调节功能,并且可通过添加抗炎分子和某些受体,特异性地靶向受损的组织或器官。由此可见,外泌体可能是治疗强直性脊柱炎和 SSc 等其他自身免疫性疾病的新药物<sup>[32]</sup>。外泌体中的 miR-151-5p 是一种有前途的生物标志物。在 SSc 小鼠模型中,将从供体 BM-MSCs 释放的外泌体中含有的 miR-151-5p 转移

到受体 BM-MSCs 中,从而抑制 IL4R $\alpha$  的表达和 mTOR 通路的下调以增强成骨分化并减少成脂分化<sup>[33]</sup>。miR-151-5p 的全身给药可以减轻 SSc 小鼠的骨髓间充质干细胞损伤和皮肤硬化,挽救其骨量减少以及免疫障碍,这表明 miR-151-5p 可能是诊治 SSc 的特异性靶点。注射 BM-MSCs 来源的外泌体可显著抑制博莱霉素诱导的 SSc 小鼠皮肤纤维化和炎症。BM-MSCs 来源的外泌体显著减少了病变皮肤中胶原的数量和  $\alpha$ -SMA<sup>+</sup> 肌成纤维细胞和 CD68<sup>+</sup> 巨噬细胞的数量。它们还降低了成纤维细胞 I 型胶原和 TGF- $\beta$  受体 1 的表达。此外,miRNA 分析显示, BM-MSCs 来源的外泌体中有几种 miRNAs 具有抗纤维化潜能。在成纤维细胞中过表达 miR-196b-5p 显著抑制 I 型胶原蛋白  $\alpha$ 2 的表达<sup>[34]</sup>。由此可知,外泌体 miR-196b-5p 抑制 I 型胶原蛋白的表达可能是 BM-MSCs 来源的外泌体抑制 SSc 小鼠模型皮肤纤维化的机制之一。因此,使用 MSCs 来源的外泌体可能是治疗系统性硬化症的一种潜在的治疗方法。

目前研究不仅局限于外泌体对 SSc 模型小鼠的治疗作用,也初步对 SSc 患者进行研究,从而探索外泌体在 SSc 中的临床应用。从 SSc 患者血清中分离外泌体,通过检测其 18 种抗纤维化和 9 种促纤维化 miRNA 的含量,与正常血清外泌体相比, SSc 血清外泌体中的 10 个抗纤维化 miRNAs 减少,6 个促纤维化 miRNAs 增加。此外,在 lcSSc 和 dcSSc 患者中,检测发现外泌体中的 8 个 miRNAs 水平显著不同<sup>[35]</sup>,这表明这些 miRNAs 可能是区分 SSc 亚型的有价值的生物标志物。从局限性或弥漫性 SSc 患者血清中分离的外泌体在体外引起正常人皮肤成纤维细胞中纤维化前基因表达和 I 型胶原及纤连蛋白产生和分泌,表明 SSc 患者的血清外泌体含有的 miRNA 显示出明显的纤维化特征,并在体外诱导正常成纤维细胞的纤维化表型<sup>[35]</sup>。因此,血清来源的外泌体除了是 SSc 诊断和预后生物标志物的潜在来源外,可能是治疗 SSc 的一种新的模式,旨在防止促纤维化 SSc 表型扩展到身体未受影响的区域,从而阻止这种毁灭性疾病的纤维化的进展。

综上所述,这些发现表明外泌体尤其是间充质干细胞来源的外泌体在 SSc 的诊疗中显示出巨大的潜力,并且在许多自身免疫性疾病中发挥诊疗作用。然而使用外泌体作为治疗药物有局限性,外泌体的提取和分离技术不完善,导致提取率

低<sup>[36]</sup>。另外,外泌体作为药物输送载体的装载效率低,这可能是由于外泌体内的一部分来源于它们的亲代细胞,从而导致容纳外源因子的空间有限<sup>[37]</sup>。虽然在实际使用外泌体时面临巨大的挑战和困难,但这种内源性囊泡在生物医学领域显示出巨大的潜力,并将成为下一代先进的药物治疗。

## 5 结语

SSc 是一种复杂的慢性自身免疫性疾病,以血管病变、免疫异常、纤维化为特点。目前由于缺乏有效的诊断及治疗,会导致死亡的严重后果。外泌体是大多数细胞分泌的具有多种功能的小囊泡,外泌体与 SSc 的发病机制关系密切,并在血管病变、免疫异常、纤维化 3 个方面发挥作用。

在血清来源的外泌体与 SSc 血管病变的研究中发现皮肤溃疡和凹陷性疤痕的发生率在血清外泌体水平降低的 SSc 患者中显著增加。由此可假设,在 SSc 中所见的血管异常,特别是微血管病,可能导致外泌体从皮肤组织向血液转移障碍,从而导致血清外泌体减少,继而下调 I 型胶原蛋白而导致皮肤溃疡或凹陷性疤痕。血清外泌体减少引起的血管异常和 I 型胶原表达水平降低可能协同介导了 SSc 溃疡的延迟愈合。然而,研究比较了皮肤溃疡患者的血清和皮肤的外泌体水平,没有发现显著的相关性。此外,在 SSc 和正常皮肤中内皮细胞外泌体表达水平无明显差异。因此需要进一步的研究来证明这种假设。自身抗原和自身抗体的产生在自身免疫疾病的发病机制中起着重要作用。外泌体能否作为自身反应识别的目标触发或维持病理的自身免疫反应是外泌体能否在自身免疫性疾病中起作用的关键。研究发现外泌体中的自身抗原可被自身抗体所识别,并能在自身免疫性疾病患者中触发自身免疫反应,然而目前关于外泌体可作为 SSc 的自身抗原的研究缺乏证据,还需进一步探索。

外泌体有助于 SSc 的诊断及治疗,近年来,外泌体已成为自身免疫性疾病的潜在生物标志物和治疗剂。大量证据表明,外泌体在自身免疫性疾病的生理和病理功能中起着重要作用。然而,目前人们对这些囊泡结构的个体成分、精确功能以及针对其作为生物标志物、治疗载体和自身免疫性疾病的靶点尚未完全了解。外泌体的基础和应用研究仍处于早期阶段,与其他疾病相比,对 SSc 发病机制中外泌体的研究相对较少。对于外泌体用于临床仍需

更多的研究,首先,尽管在动物实验的基础上已初步证实了外泌体的安全性,但仍然需要大量实验来确保其用于临床的安全性;其次,外泌体可以来源于脂肪、脐带等不同的间充质干细胞,需要进一步实验探究不同间充质干细胞来源的外泌体的具体特性、对 SSc 的作用机制以及用于 SSc 乃至自身免疫性疾病的使用剂量及疗效。最后,目前外泌体的提取面临耗时耗力、纯度相对较低等问题,如何提高外泌体的纯度,高效提取外泌体也是需要考虑的问题。因此,目前仍需进一步探索外泌体的生物学和功能及外泌体在 SSc 发病以及诊治方面的潜在作用,使外泌体更安全高效的用于临床。

## 参考文献:

- [1] Kalluri R. The biology and function of exosomes in cancer [J]. J Clin Invest, 2016, 126(4): 1208-1215.
- [2] Zhu T, Wang Y, Jin H, et al. The role of exosome in autoimmune connective tissue disease [J]. Ann Med, 2019, 51(2): 101-108.
- [3] Xu H, Jia S, Xu H. Potential therapeutic applications of exosomes in different autoimmune diseases [J]. Clin Immunol, 2019, 205: 116-124.
- [4] Natasha G, Gundogan B, Tan A, et al. Exosomes as immunotheranostic nanoparticles [J]. Clin Ther, 2014, 36(6): 820-829.
- [5] Li L, Zuo X, Liu D, et al. The profiles of miRNAs and lncRNAs in peripheral blood neutrophils exosomes of diffuse cutaneous systemic sclerosis [J]. J Dermatol Sci, 2020, 98(2): 88-97.
- [6] Liu Y, Shi K, Chen Y, et al. Exosomes and their role in cancer progression [J]. Front Oncol, 2021, 11: 639159.
- [7] Greening DW, Gopal SK, Xu R, et al. Exosomes and their roles in immune regulation and cancer [J]. Semin Cell Dev Biol, 2015, 40: 72-81.
- [8] Colletti M, Galardi A, De Santis M, et al. Exosomes in systemic sclerosis: messengers between immune, vascular and fibrotic components [J]. Int J Mol Sci, 2019, 20(18): 4337.
- [9] Brown M, O'reilly S. The immunopathogenesis of fibrosis in systemic sclerosis [J]. Clin Exp Immunol, 2019, 195(3): 310-321.
- [10] Cao Y, Xu Y, Chen C, et al. Local delivery of USC-derived exosomes harboring ANGPTL3 enhances spinal cord functional recovery after injury by promoting angiogenesis [J]. Stem Cell Res Ther, 2021, 12(1): 20.
- [11] Pattanaik D, Brown M, Postlethwaite BC, et al. Pathogenesis of systemic sclerosis [J]. Front Immunol, 2015, 6: 272.
- [12] Deb A, Gupta S, Mazumder PB. Exosomes: a new horizon in modern medicine [J]. Life Sci, 2021, 264: 118623.
- [13] Li L, Zuo X, Xiao Y, et al. Neutrophil-derived exosome from systemic sclerosis inhibits the proliferation and migration of



- endothelial cells [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2020, 526(2): 334–340.
- [14] Nakamura K, Jinnin M, Harada M, et al. Altered expression of CD63 and exosomes in scleroderma dermal fibroblasts [J]. *J Dermatol Sci*, 2016, 84(1): 30–39.
- [15] Xie Y, Zhang X, Zhao T, et al. Natural CD8<sup>+</sup>25<sup>+</sup> regulatory T cell-secreted exosomes capable of suppressing cytotoxic T lymphocyte-mediated immunity against B16 melanoma [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2013, 438(1): 152–155.
- [16] Beach A, Zhang HG, Ratajczak MZ, et al. Exosomes: an overview of Biogenesis, composition and role in ovarian cancer [J]. *J Ovarian Res*, 2014, 7(1): 14.
- [17] Zhang B, Yin Y, Lai RC, et al. Immunotherapeutic potential of extracellular vesicles [J]. *Front Immunol*, 2014, 5: 518.
- [18] Admyre C, Johansson SM, Paulie S, et al. Direct exosome stimulation of peripheral human T cells detected by ELISPOT [J]. *Eur J Immunol*, 2006, 36(7): 1772–1781.
- [19] Klinker MW, Lizzio V, Reed TJ, et al. Human B cell-derived lymphoblastoid cell lines constitutively produce fas ligand and secrete MHCII<sup>+</sup> FasL<sup>+</sup> killer exosomes [J]. *Front Immunol*, 2014, 5: 144.
- [20] Hughes M, Herrick AL. Systemic sclerosis [J]. *Br J Hosp Med (Lond)*, 2019, 80(9): 530–536.
- [21] Yu Y, Shen L, Xie X, et al. The therapeutic effects of exosomes derived from human umbilical cord mesenchymal stem cells on scleroderma [J]. *Tissue Eng Regen Med*, 2022, 19(1): 141–150.
- [22] Korman B. Evolving insights into the cellular and molecular pathogenesis of fibrosis in systemic sclerosis [J]. *Transl Res*, 2019, 209: 77–89.
- [23] Hirsova P, Gores GJ. Death receptor-mediated cell death and proinflammatory signaling in nonalcoholic steatohepatitis [J]. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol*, 2015, 1(1): 17–27.
- [24] Zhang W, Zhou X, Zhang H, et al. Extracellular vesicles in diagnosis and therapy of kidney diseases [J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2016, 311(5): F844–F851.
- [25] Vanhaverbeke M, Gal D, Holvoet P. Functional role of cardiovascular exosomes in myocardial injury and atherosclerosis [J]. *Adv Exp Med Biol*, 2017, 998: 45–58.
- [26] Choi EW, Seo MK, Woo EY, et al. Exosomes from human adipose-derived stem cells promote proliferation and migration of skin fibroblasts [J]. *Exp Dermatol*, 2018, 27(10): 1170–1172.
- [27] Cao G, Chen B, Zhang X, et al. Human adipose-derived mesenchymal stem cells-derived exosomal microRNA-19b promotes the healing of skin wounds through modulation of the CCL1/TGF- $\beta$  signaling axis [J]. *Clin Cosmet Investig Dermatol*, 2020, 13: 957–971.
- [28] Wermuth PJ, Piera-Velazquez S, Rosenbloom J, et al. Existing and novel biomarkers for precision medicine in systemic sclerosis [J]. *Nat Rev Rheumatol*, 2018, 14(7): 421–432.
- [29] Taverna S, Pucci M, Alessandro R. Extracellular vesicles: small bricks for tissue repair/regeneration [J]. *Ann Transl Med*, 2017, 5(4): 83.
- [30] Antimisiaris SG, Mourtas S, Marazioti A. Exosomes and exosome-inspired vesicles for targeted drug delivery [J]. *Pharmaceutics*, 2018, 10(4): 218.
- [31] Li M, Zhang HP, Wang XY, et al. Mesenchymal stem cell-derived exosomes ameliorate dermal fibrosis in a murine model of bleomycin-induced scleroderma [J]. *Stem Cells Dev*, 2021, 30(19): 981–990.
- [32] Baharloo H, Azimi M, Salehi Z, et al. Mesenchymal stem cell-derived exosomes: a promising therapeutic ace card to address autoimmune diseases [J]. *Int J Stem Cells*, 2020, 13(1): 13–23.
- [33] Chen C, Wang D, Moshaverinia A, et al. Mesenchymal stem cell transplantation in tight-skin mice identifies miR-151-5p as a therapeutic target for systemic sclerosis [J]. *Cell Res*, 2017, 27(4): 559–577.
- [34] Baral H, Uchiyama A, Yokoyama Y, et al. Antifibrotic effects and mechanisms of mesenchymal stem cell-derived exosomes in a systemic sclerosis mouse model: Possible contribution of miR-196b-5p [J]. *J Dermatol Sci*, 2021, 104(1): 39–47.
- [35] Wermuth P, Piera-Velazquez S, Jimenez S. Exosomes isolated from serum of systemic sclerosis patients display alterations in their content of profibrotic and antifibrotic microRNA and induce a profibrotic phenotype in cultured normal dermal fibroblasts [J]. *Clin Exp Rheumatol*, 2017, 35(4): 21–30.
- [36] Taylor DD, Shah S. Methods of isolating extracellular vesicles impact down-stream analyses of their cargoes [J]. *Methods*, 2015, 87: 3–10.
- [37] Meng W, He C, Hao Y, et al. Prospects and challenges of extracellular vesicle-based drug delivery system: considering cell source [J]. *Drug Deliv*, 2020, 27(1): 585–598.

[收稿日期]2022-01-19