

## •综述•

## 不同来源间充质干细胞的细胞外囊泡对骨关节炎的影响

马国榕 郭洪章 李鹏飞 李海鹰

**摘要** 间充质干细胞(MSC)的细胞外囊泡在骨关节炎进展过程中起到重要作用。研究表明,细胞外囊泡在促进软骨再生、延缓软骨老化和成骨等方面发挥重要作用。而组织来源及培养条件不同的细胞外囊泡具有不同的生物学效应,对骨关节炎的治疗作用也具有差异性。该文就不同来源MSC及其细胞外囊泡对骨关节炎影响的研究进展进行综述。

**关键词** 间充质干细胞;细胞外囊泡;骨关节炎

**DOI:** 10.3969/j.issn.1673-7083.2022.05.007

骨关节炎(OA)是最常见的慢性退行性骨关节疾病,其发病机制尚不明确,病理过程多为长期、慢性、渐进的过程,病理改变涉及软骨、骨骼、滑膜、韧带、肌肉和关节周围脂肪等多部位<sup>[1]</sup>。OA患者的临床表现包括明显的疼痛、功能丧失和生活质量下降<sup>[2]</sup>,是老年人致残的主要原因。近期研究发现,机械、炎症和代谢因素所介导的骨损伤-修复平衡紊乱可能在OA病理过程中发挥重要作用<sup>[3]</sup>。而骨损伤和修复与间充质干细胞(MSC)及其细胞外囊泡密切相关。

## 1 MSC及其细胞外囊泡

根据人体组织来源不同, MSC可分为脂肪间充质干细胞(ADMSC)、滑膜间充质干细胞(SMSC)、脐带间充质干细胞(UCMSC)、骨髓间充质干细胞(BMSC)、胚胎间充质干细胞等<sup>[4]</sup>。MSC主要功能包括免疫调节、自分泌、旁分泌及规避免疫排斥反应等<sup>[5]</sup>, MSC的细胞外囊泡则在发挥这些功能时充当重要角色。细胞外囊泡含有生长因子、细胞因子、脂质、蛋白质、DNA和各种形式的RNA<sup>[6]</sup>。细胞外囊泡通过转运上述物质在细胞外基质降解、细胞间通讯、炎症调节、血管生成和抗原递呈等过程中发挥作用<sup>[7]</sup>。作为一种细胞间通信途径,细胞外囊泡具有稳定性高、生物相容性好、免疫原性低、

毒性低、生物屏障性好和有内在细胞靶向特性等优点,因而备受关注<sup>[8]</sup>。细胞外囊泡通过实现细胞间的信号传导,可达到促进组织再生目的,从而成为良好的OA细胞替代疗法。细胞外囊泡既能以天然形式应用,也可以作为治疗药物的载体应用<sup>[9]</sup>。值得注意的是,组织或器官来源不同的MSC细胞外囊泡治疗效果也不同<sup>[10]</sup>。因此,有必要进一步比较分析不同来源MSC的细胞外囊泡,以便指导其在OA治疗中的临床应用。

## 2 不同来源的MSC细胞外囊泡与OA

### 2.1 ADMSC

与骨髓衍生的MSC相比,ADMSC特性相似,但更容易获得<sup>[11]</sup>。在临床应用前,ADMSC的细胞外囊泡可以在培养物中长期扩增<sup>[12]</sup>。Li等<sup>[13]</sup>研究表明,ADMSC的细胞外囊泡生物活性高于SMSC的细胞外囊泡,且其产量、基质合成能力以及体内外促软骨生成和成骨能力均明显高于BMSC和SMSC的细胞外囊泡,其可以直接以完整形式进入软骨细胞中,介导分解代谢与合成代谢之间的平衡,促进人软骨细胞增殖和迁移,延缓软骨退化,使受损软骨得到恢复。

ADMSC的细胞外囊泡可增强人OA软骨细胞中Ⅱ型胶原(ColⅡ)蛋白mRNA表达,具有促进软骨再生作用。ADMSC的细胞外囊泡可促进巨噬细胞促炎表型M1向巨噬细胞抗炎表型M2极化,从而抑制白细胞介素(IL)-6和前列腺素E等巨噬细胞促炎细胞因子产生<sup>[14]</sup>,同时促进抗炎因子IL-10产生<sup>[15]</sup>,延缓OA进程。ADMSC的细胞

基金项目:甘肃省青年博士基金项目(2021QB-081)

作者单位:730000 兰州, 甘肃中医药大学第一临床医学院(马国榕、李鹏飞、李海鹰);730000 兰州, 甘肃省中医院骨科(郭洪章)

通信作者:李海鹰 E-mail: lihy8111@126.com

外囊泡也可通过抑制基质金属蛋白酶 (MMP) -1、MMP-3、MMP-13 和含 I 型血小板结合蛋白基序的解聚蛋白样金属蛋白酶 (ADAMTS) -5 表达来延缓 OA 中细胞外基质降解,从而减缓 OA 软骨破坏进展<sup>[16]</sup>。

## 2.2 SMSC

SMSC 具有增殖能力强、老化缓慢等优点,可以在 10 多代后仍保持其独特的细胞形态和分化潜力,且其分化能力与供体年龄无关<sup>[17-19]</sup>。由于滑膜和软骨均起源于滑膜关节发育期间的同一个细胞池,因此 SMSC 在发育上与软骨细胞的关系较其他 MSC 更密切,且比 BMSC 更容易促进软骨形成,特别适合软骨修复<sup>[20-22]</sup>。韩俊柱等<sup>[23]</sup>研究发现,SMSC 不仅增殖速度高于 ADMSC 和 BMSC,而且在成软骨诱导下其 Col II 的表达水平也高于 ADMSC 和 BMSC,说明 SMSC 在这 3 种 MSC 中成软骨潜能最强。Kubosch 等<sup>[24]</sup>研究发现,SMSC 的软骨形成标志物 Col II 和聚集蛋白聚糖 (ACAN) 表达水平也高于 BMSC。

SMSC 的细胞外囊泡可以有效促进软骨细胞增殖、迁移并抑制 OA 软骨细胞凋亡,其功能可在脂多糖预处理条件下得到优化。研究发现,经脂多糖预处理的 SMSC 细胞外囊泡在促进软骨细胞增殖和迁移以及抑制细胞凋亡方面优于未经处理的 SMSC 细胞外囊泡<sup>[25]</sup>。经脂多糖预处理的 SMSC 细胞外囊泡还可促进巨噬细胞向 M2 型转化,从而抑制炎症反应<sup>[26]</sup>。

## 2.3 UCMSC

UCMSC 是最年轻、最原始的 MSC<sup>[27]</sup>,具有免疫抑制能力和较低的免疫原性。与 ADMSC 和 BMSC 相比,其增殖率更高<sup>[28]</sup>,自我更新更快,并可通过非侵入性分离获得<sup>[29]</sup>。由于 UCMSC 来源充足、纯度高并具有多系分化潜力和抗炎能力,其更适用于在缺血和营养贫乏的环境中产生类似于软骨的细胞外基质<sup>[27,30]</sup>。

人 UCMSC 的细胞外囊泡在组织修复和再生方面具有重要作用,它不但能够刺激软骨细胞增殖、迁移,而且可以通过增强骨形成、减少骨髓脂肪堆积和减少骨吸收来防止骨质流失<sup>[31]</sup>。人 UCMSC 的细胞外囊泡可上调 Col II、Sox9、ACAN 等软骨特异性标记物,有效维持软骨细胞的基质合成能力和表型稳定<sup>[32]</sup>,并通过靶向调节蛋白激酶 B (Akt) 信号转导通路促进骨细胞增殖和抑制骨细胞凋亡

<sup>[33]</sup>。同时,人 UCMSC 的细胞外囊泡既可以促进抗炎相关细胞因子表达,使 CD206 和 IL-10 等巨噬细胞抗炎表型 M2 标志物表达量增加<sup>[34]</sup>,又可以抑制炎症因子表达,降低 ADAMTS-5 和 MMP-13 表达,从而调节软骨细胞功能<sup>[32]</sup>。

## 2.4 BMSC

BMSC 是一种非造血间充质干细胞,能够分化为间充质组织。BMSC 的数量、增殖速度和分化能力均与供体年龄呈负相关<sup>[35]</sup>。BMSC 可改善和维持关节内环境,以促进软骨修复和再生。与 UCMSC、胎盘间充质干细胞 (PMSC) 相比,BMSC 软骨分化潜能更大;与 PMSC 相比,BMSC 自我更新能力更强<sup>[36]</sup>。研究证实,BMSC 体内外分化为成骨细胞的潜力和 Col II 蛋白表达水平均较 ADMSC 更高<sup>[37-38]</sup>。

BMSC 的细胞外囊泡可诱导 ACAN 和 Col II 产生并促进其增加,产生细胞外基质,恢复人软骨修复能力。BMSC 的细胞外囊泡也可在体外调节成骨分化,并在体内促进骨再生<sup>[39]</sup>。BMSC 的细胞外囊泡还可以抑制炎症介质对软骨稳态破坏,消除肿瘤坏死因子 (TNF) - $\alpha$  介导的环氧化酶 (COX) 2 上调,降低促炎 IL 表达。同时,BMSC 的细胞外囊泡通过抑制 OA 软骨细胞中 TNF- $\alpha$  诱导的促炎性核因子 (NF) - $\kappa$ B 信号传导,介导肥大相关基因表达下调,这表明 BMSC 的细胞外囊泡不仅能促进软骨形成,还能抑制软骨细胞的肥大分化<sup>[40]</sup>。

## 3 结语

MSC 的细胞外囊泡具有促进软骨再生和延缓软骨老化的能力,可在 OA 治疗中发挥作用,因而广受关注。使用 MSC 的细胞外囊泡能够跨越生物屏障<sup>[9]</sup>,直接进入靶细胞。现有研究结果可归纳如下:① UCMSC 是最年轻、最原始的 MSC<sup>[27]</sup>;② SMSC 和 UCMSC 增殖率均较 ADMSC 和 BMSC 更高<sup>[23,28]</sup>,而 ADMSC 增殖率又高于 BMSC<sup>[23]</sup>;③ 在体外二维培养条件下,ADMSC 增殖率高于 SMSC<sup>[41]</sup>;④ BMSC 分化能力与供体年龄呈负相关<sup>[35]</sup>,而 SMSC 分化能力与供体年龄无关<sup>[19]</sup>;⑤ 在软骨生成过程中 Col II 的表达水平方面,SMSC 优于 BMSC,而 BMSC 又优于 ADMSC,说明 3 种 MSC 中 SMSC 成软骨潜能最强<sup>[23]</sup>;⑥ ADMSC 的细胞外囊泡产量较 BMSC、SMSC 的细胞外囊泡明显更高,其基质合成能力、促进软骨生成和成骨分化能力更具明显优势<sup>[13]</sup>。由此可以看出,MSC

增殖速度受不同培养条件影响,细胞外囊泡的促软骨生成和成骨分化能力受组织来源影响。

先前的研究表明,组织来源以及培养条件不同的细胞外囊泡具有不同的生物学效应,各具优势。尽管目前已明确不同来源 MSC 的细胞外囊泡对 OA 均具有治疗潜力,但仍有如下问题值得探究。①选择何种组织来源的细胞外囊泡治疗 OA。②制定标准的细胞外囊泡制备方法、培养条件。现有的细胞外囊泡制备方法限制了其大规模生产,从而阻碍其临床应用<sup>[42]</sup>。长期传代的方法虽然有助于获得相当数量的细胞外囊泡,但可能导致 MSC 分化<sup>[43]</sup>。③明确细胞外囊泡的给药方式、药物剂量和给药频率。上述问题均有待进一步的动物实验研究及临床研究予以解决。通过实验选取最佳的细胞外囊泡用于治疗 OA 将成为新的研究方向,进一步研究不同来源 MSC 的细胞外囊泡对 OA 的治疗作用意义重大。

#### 参考文献

- [1] Katz JN, Arant KR, Loeser RF. Diagnosis and treatment of hip and knee osteoarthritis: a review[J]. JAMA, 2021, 325(6): 568-578.
- [2] Abramoff B, Caldera FE. Osteoarthritis: pathology, diagnosis, and treatment options[J]. Med Clin North Am, 2020, 104(2): 293-311.
- [3] Fu K, Robbins SR, McDougall JJ. Osteoarthritis: the genesis of pain[J]. Rheumatology (Oxford), 2018, 57(suppl 4): iv43-iv50.
- [4] Vasanthan J, Gurusamy N, Rajasingh S, et al. Role of human mesenchymal stem cells in regenerative therapy[J]. Cells, 2020, 10(1): 54.
- [5] Mishra VK, Shih HH, Parveen F, et al. Identifying the therapeutic significance of mesenchymal stem cells[J]. Cells, 2020, 9(5): 1145.
- [6] Costa LA, Eiro N, Fraile M, et al. Functional heterogeneity of mesenchymal stem cells from natural niches to culture conditions: implications for further clinical uses[J]. Cell Mol Life Sci, 2021, 78(2): 447-467.
- [7] Withrow J, Murphy C, Liu Y, et al. Extracellular vesicles in the pathogenesis of rheumatoid arthritis and osteoarthritis[J]. Arthritis Res Ther, 2016, 18(1): 286.
- [8] Tang TT, Wang B, Lv LL, et al. Extracellular vesicle-based nanotherapeutics: emerging frontiers in anti-inflammatory therapy[J]. Theranostics, 2020, 10(18): 8111-8129.
- [9] Imafuku A, Sjoqvist S. Extracellular vesicle therapeutics in regenerative medicine[J]. Adv Exp Med Biol, 2021, 1312: 131-138.
- [10] Zhao T, Sun F, Liu J, et al. Emerging role of mesenchymal stem cell-derived exosomes in regenerative medicine[J]. Curr Stem Cell Res Ther, 2019, 14(6): 482-494.
- [11] van den Bosch MHJ. Osteoarthritis year in review 2020: biology[J]. Osteoarthritis Cartilage, 2021, 29(2): 143-150.
- [12] Gimble JM, Katz AJ, Bunnell BA. Adipose-derived stem cells for regenerative medicine[J]. Circ Res, 2007, 100(9): 1249-1260.
- [13] Li Q, Yu H, Sun M, et al. The tissue origin effect of extracellular vesicles on cartilage and bone regeneration[J]. Acta Biomater, 2021, 125: 253-266.
- [14] Tofiño-Vian M, Guillén MI, Pérez Del Caz MD, et al. Extracellular vesicles from adipose-derived mesenchymal stem cells downregulate senescence features in osteoarthritic osteoblasts[J]. Oxid Med Cell Longev, 2017, 2017: 7197598.
- [15] Tofiño-Vian M, Guillén MI, Pérez Del Caz MD, et al. Microvesicles from human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells as a new protective strategy in osteoarthritic chondrocytes[J]. Cell Physiol Biochem, 2018, 47(1): 11-25.
- [16] Woo CH, Kim HK, Jung GY, et al. Small extracellular vesicles from human adipose-derived stem cells attenuate cartilage degeneration[J]. J Extracell Vesicles, 2020, 9(1): 1735249.
- [17] Tao SC, Yuan T, Zhang YL, et al. Exosomes derived from miR-140-5p-overexpressing human synovial mesenchymal stem cells enhance cartilage tissue regeneration and prevent osteoarthritis of the knee in a rat model[J]. Theranostics, 2017, 7(1): 180-195.
- [18] Reisbig NA, Pinnell E, Scheuerman L, et al. Synovium extra cellular matrices seeded with transduced mesenchymal stem cells stimulate chondrocyte maturation in vitro and cartilage healing in clinically-induced rat-knee lesions in vivo[J]. PLoS One, 2019, 14(3): e0212664.
- [19] Mochizuki T, Muneta T, Sakaguchi Y, et al. Higher chondrogenic potential of fibrous synovium- and adipose synovium-derived cells compared with subcutaneous fat-derived cells: distinguishing properties of mesenchymal stem cells in humans[J]. Arthritis Rheum, 2006, 54(3): 843-853.
- [20] Archer CW, Dowthwaite GP, Francis-West P. Development of synovial joints[J]. Birth Defects Res C Embryo Today, 2003, 69(2): 144-155.
- [21] Zhu Y, Wang Y, Zhao B, et al. Comparison of exosomes secreted by induced pluripotent stem cell-derived mesenchymal stem cells and synovial membrane-derived mesenchymal stem cells for the treatment of osteoarthritis[J]. Stem Cell Res Ther, 2017, 8(1): 64.
- [22] Zamudio-Cuevas Y, Plata-Rodríguez R, Fernández-Torres J, et al. Synovial membrane mesenchymal stem cells for cartilaginous tissues repair[J]. Mol Biol Rep, 2022, 49(3): 2503-2517.
- [23] 韩俊柱, 朱勋兵, 武世伍, 等. 3 种间充质干细胞成软骨分化潜能比较 [J]. 现代生物医学进展, 2019, 19(12): 2252-2255.
- [24] Kubosch E J, Heidt E, Niemeyer P, et al. In-vitro chondrogenic potential of synovial stem cells and chondrocytes allocated for autologous chondrocyte implantation - a comparison : synovial stem cells as an alternative cell source for autologous chondrocyte implantation[J]. Int Orthop, 2017, 41(5): 991-998.
- [25] Duan A, Shen K, Li B, et al. Extracellular vesicles derived from LPS-preconditioned human synovial mesenchymal stem cells inhibit extracellular matrix degradation and prevent osteoarthritis of the knee in a mouse model[J]. Stem Cell Res Ther, 2021, 12(1): 427.
- [26] Ti D, Hao H, Tong C, et al. LPS-preconditioned mesenchymal stromal cells modify macrophage polarization for resolution of chronic inflammation via exosome-shuttled let-7b[J]. J Transl Med, 2015, 13: 308.
- [27] Um S, Ha J, Choi SJ, et al. Prospects for the therapeutic development

- of umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cells[J]. *World J Stem Cells*, 2020, 12(12): 1511-1528.
- [28] Ma K, Zhu B, Wang Z, et al. Articular chondrocyte-derived extracellular vesicles promote cartilage differentiation of human umbilical cord mesenchymal stem cells by activation of autophagy[J]. *J Nanobiotechnology*, 2020, 18(1): 163.
- [29] Ding DC, Chang YH, Shyu WC, et al. Human umbilical cord mesenchymal stem cells: a new era for stem cell therapy[J]. *Cell Transplant*, 2015, 24(3): 339-347.
- [30] Russo E, Caprnda M, Kruzliak P, et al. Umbilical cord mesenchymal stromal cells for cartilage regeneration applications[J]. *Stem Cells Int*, 2022, 2022: 2454168.
- [31] Hu Y, Zhang Y, Ni CY, et al. Human umbilical cord mesenchymal stromal cells-derived extracellular vesicles exert potent bone protective effects by CLEC11A-mediated regulation of bone metabolism[J]. *Theranostics*, 2020, 10(5): 2293-2308.
- [32] Yan L, Wu X. Exosomes produced from 3D cultures of umbilical cord mesenchymal stem cells in a hollow-fiber bioreactor show improved osteochondral regeneration activity[J]. *Cell Biol Toxicol*, 2020, 36(2): 165-178.
- [33] Kuang MJ, Huang Y, Zhao XG, et al. Exosomes derived from Wharton's jelly of human umbilical cord mesenchymal stem cells reduce osteocyte apoptosis in glucocorticoid-induced osteonecrosis of the femoral head in rats via the miR-21-PTEN-AKT signalling pathway[J]. *Int J Biol Sci*, 2019, 15(9): 1861-1871.
- [34] Tang S, Chen P, Zhang H, et al. Comparison of curative effect of human umbilical cord-derived mesenchymal stem cells and their small extracellular vesicles in treating osteoarthritis[J]. *Int J Nanomedicine*, 2021, 16: 8185-8202.
- [35] Berebichez-Fridman R, Montero-Olvera PR. Sources and clinical applications of mesenchymal stem cells: state-of-the-art review[J]. *Sultan Qaboos Univ Med J*, 2018, 18(3): e264-e277.
- [36] Heo JS, Choi Y, Kim HS, et al. Comparison of molecular profiles of human mesenchymal stem cells derived from bone marrow, umbilical cord blood, placenta and adipose tissue[J]. *Int J Mol Med*, 2016, 37(1): 115-125.
- [37] Xu L, Liu Y, Sun Y, et al. Tissue source determines the differentiation potentials of mesenchymal stem cells: a comparative study of human mesenchymal stem cells from bone marrow and adipose tissue[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2017, 8(1): 275.
- [38] Fazaeli H, Kalhor N, Naserpour L, et al. A comparative study on the effect of exosomes secreted by mesenchymal stem cells derived from adipose and bone marrow tissues in the treatment of osteoarthritis-induced mouse model[J]. *Biomed Res Int*, 2021, 2021: 9688138.
- [39] Qin Y, Wang L, Gao Z, et al. Bone marrow stromal/stem cell-derived extracellular vesicles regulate osteoblast activity and differentiation in vitro and promote bone regeneration in vivo[J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 21961.
- [40] Vonk LA, van Dooremalen SFJ, Liv N, et al. Mesenchymal stromal/stem cell-derived extracellular vesicles promote human cartilage regeneration in vitro[J]. *Theranostics*, 2018, 8(4): 906-920.
- [41] 宋卓悦, 王洋, 连晓磊, 等. 人脂肪间充质干细胞和滑膜间充质干细胞协同抑制炎症软骨细胞的退变 [J]. *中国组织工程研究*, 2018, 22(17): 2661-2668.
- [42] Whitford W, Guterstam P. Exosome manufacturing status[J]. *Future Med Chem*, 2019, 11(10): 1225-1236.
- [43] McKee C, Chaudhry GR. Advances and challenges in stem cell culture[J]. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 2017, 159: 62-77.

( 收稿日期 : 2022-04-25 )

( 本文编辑 : 富饶 )