

细胞外囊泡在新生儿疾病中的研究进展

郑灏¹, 陈妍¹, 钟晓燕¹, 林慧洁², 蒋嘉豪², 黄志华^{3,4}, 江丽霞^{1,2,4,5}

(1. 赣南医科大学医学技术学院; 2. 赣南医科大学第一临床医学院; 3. 赣南医科大学基础医学院; 4. 心脑血管疾病防治教育部重点实验室; 5. 赣南医科大学第一附属医院, 江西 赣州 341000)

摘要: 新生儿疾病是导致婴儿死亡和终身健康问题的首要原因, 其较高的死亡率对现代重症监护医学构成了严峻挑战。细胞外囊泡(Extracellular vesicles, EVs)是具有生物活性的膜性结构, 参与细胞间信号转导、抗原呈递和免疫应答等功能, 为开发新生儿疾病新疗法提供了新思路。当前, EVs研究主要聚焦于解析不同来源和类型EVs的特性及其在疾病模型中的治疗潜力。临床前研究证实, EVs在早产儿视网膜病变、支气管肺发育不良、新生儿缺氧缺血性脑病和坏死性小肠结肠炎等疾病中疗效显著, 表明其在新生儿疾病治疗领域具有可行性。然而, EVs的应用仍面临异质性和临床转化瓶颈等挑战, 亟须建立标准化、推进临床转化, 并探索诊断价值。

关键词: 细胞外囊泡; 早产儿视网膜病变; 支气管肺发育不良; 新生儿缺氧缺血性脑病; 坏死性小肠结肠炎

中图分类号: R722.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 2097-7174(2026)03-0248-08

DOI: 10.3969/j.issn.2097-7174.2026.03.009

Research progress of extracellular vesicles in neonatal diseases

ZHENG Hao¹, CHEN Yan¹, ZHONG Xiaoyan¹, LIN Huijie²,
JIANG Jiahao², HUANG Zhihua^{3,4}, JIANG Lixia^{1,2,4,5}

(1. School of Medical Technology, Gannan Medical University; 2. The First Clinical Medical School of Gannan Medical University; 3. School of Basic Medicine, Gannan Medical University; 4. Key Laboratory for Cardiovascular and Cerebrovascular Disease Prevention and Control of the Ministry of Education; 5. The First Affiliated Hospital of Gannan Medical University, Ganzhou, Jiangxi 341000)

Abstract: Neonatal diseases are the leading causes of infant mortality and long-term health complications. Its high mortality rate poses a severe challenge to modern intensive care medicine. Extracellular vesicles, biologically active membrane-bound structures, mediate critical intercellular functions including signal transduction, antigen presentation, and immune responses. This positions EVs as a novel therapeutic avenue for neonatal diseases. Current research primarily focuses on characterizing the properties of EVs derived from diverse cellular origins and subtypes, alongside evaluating their therapeutic potential in preclinical disease models. Preclinical studies have demonstrated significant efficacy of EVs in treating neonatal conditions such as retinopathy of prematurity, bronchopulmonary dysplasia, neonatal hypoxic-ischemic encephalopathy, and necrotizing enterocolitis, indicating their clinical feasibility in neonatal therapeutics. However, the clinical translation of EVs faces substantial challenges, including inherent heterogeneity and translational bottlenecks. Addressing these necessitates establishing standardized protocols, advancing clinical translation efforts, and exploring their diagnostic utility.

Key words: Extracellular vesicles; Retinopathy of prematurity; Bronchopulmonary dysplasia; Hypoxic ischemic encephalopathy; Necrotizing enterocolitis

早产是新生儿健康问题的一个重要风险因素, 由其引发的并发症, 如早产儿视网膜病变(Retinopathy of prematurity, ROP)、缺氧缺血性脑病(Hypoxic ischemic encephalopathy, HIE)、支气管肺发育不良

基金项目: 赣南医学院心脑血管疾病防治教育部重点实验室开放课题(XN201921); 研究生创新专项资金项目(YC2024-S831)

通信作者: 江丽霞, 女, 硕士, 主任技师, 研究方向: 新生儿缺氧缺血性脑病。E-mail: jlx7310@gmu.edu.cn

(Bronchopulmonary dysplasia, BPD)、坏死性小肠结肠炎(Necrotizing enterocolitis, NEC)等,已成为导致早产儿死亡和残疾的首要原因^[1]。尽管医疗技术的不断进步显著提高了早产儿的生存率,但仍易受多种短期及长期并发症影响。当前围产期早期以药物干预为主的治疗策略收效甚微。此外,由于缺乏专门针对新生儿的药物,使得许多缺乏安全性与有效性验证的成人药物直接用于临床,导致药物滥用、剂量不合适或用药时间不当,进而引发严重后果^[2]。因此,探索新生儿疾病治疗的新策略迫在眉睫。

近年来,细胞外囊泡(Extracellular vesicles, EVs)的生物学特性引起了广泛关注,EVs是细胞释放至细胞外环境的膜性囊泡,其携带的蛋白水解酶及信号转导分子等活性成分可重塑细胞外基质,从而维持细胞外微环境的动态平衡^[3]。大量临床前研究证实,特别是间充质干细胞(Mesenchymal stem cell, MSC)等来源的EVs,在ROP、HIE、BPD和NEC等疾病模型中展现出显著的神经保护、抗炎和促进组织再生等治疗潜力。研究范围也从哺乳动物细胞(干细胞、免疫细胞等)扩展到探索非哺乳动物来源EVs的应用可能性^[4]。然而,该领域向临床转化仍面临关键挑战,主要包括:EVs的高度异质性带来的标准化难题、治疗作用机制尚待阐明,以及长期安全性有待验证等转化瓶颈。本文在阐述EVs不同类型及功能的基础上,进一步探讨其在新生儿疾病治疗中的应用进展,以期开发新的治疗策略提供理论依据和研究方向。

1 EVs的分类及生物学作用

EVs是绝大多数细胞在其生命周期中释放的膜性囊泡,这类囊泡由磷脂双分子层构成,内含丰富的生物活性物质^[5],在调控免疫反应和细胞间通讯方面起着不可或缺的作用。基于来源途径和粒径范围,EVs可以分为3类:(1)外泌体:由多泡体与细胞膜融合后释放,直径为40~150 nm的小囊泡;(2)微囊泡:由细胞膜直接向外突出并脱落进入细胞外间隙形成,直径为100~1 000 nm的颗粒;(3)凋亡小体:在细胞凋亡过程中产生,直径为100~5 000 nm的囊泡结构^[6]。EVs囊泡内携带丰富的生物分子,包括DNA、mRNA、非编码RNA(如miRNA、lncRNA)、脂质、蛋白质及糖类等。

1.1 外泌体 外泌体由大多数细胞特别是免疫系

统细胞(如树突状细胞、B细胞和巨噬细胞等)主动分泌到周围环境中,并以自分泌、旁分泌和内分泌方式传递其分子信息^[7]。

外泌体的产生过程起始于细胞质膜的内陷形成内吞囊泡,早期内体经过成熟过程转化为含有内陷膜囊泡的多泡体。在此过程中,一些膜蛋白、脂质、RNA和其他分子选择性进入内泡化囊泡(Intraluminal vesicles, ILVs)中。成熟的多泡体有2种主要的细胞内膜运输途径:(1)与溶酶体融合导致内容物降解;(2)与细胞膜融合释放ILVs到细胞外,即外泌体。内体分选转运复合体(Endosomal sorting complex required for transport, ESCRT)参与了这些过程。ESCRT是由E类液泡蛋白分选(Vacuolar protein sorting, VPS)蛋白组成的4种复合物:ESCRT-0、ESCRT-I、ESCRT-II和ESCRT-III,在细胞的分泌和内吞途径中发挥重要作用^[8]。ESCRT-0、ESCRT-I、ESCRT-II的主要功能是将货物分拣到核内体膜上的功能性微域中,这些微域作为组织中心,促进信号转导相关分子的组装。ESCRT-III负责这些结构域的出芽和切割以产生ILVs。VPS4是一个与ESCRT-III紧密相关的AAA ATP酶复合物,有助于ESCRT-III在膜切割完成后的解离^[9],两者共同参与内泡化囊泡的形成和分选过程。小GTP酶ADP核糖基化因子6(Adp-ribosylation factor 6, ARF6)及其效应磷脂酶D2和鞘脂神经酰胺也调控外泌体的产生^[10],但不依赖ESCRT机制。

1.2 微囊泡 微囊泡(Microvesicles, MVs)的形成始于细胞骨架的重新排布,后者促进脂质和跨膜蛋白在质膜特定区域聚集,进而诱导质膜向外出芽,最终形成并释放MVs。ARF6是微囊泡释放的关键调节因子,其通过激活细胞外信号调节激酶,进而诱导肌球蛋白轻链磷酸化,促使肌动蛋白细胞骨架发生收缩,从而推动微囊泡的释放^[11]。

1.3 凋亡小体 处于凋亡期间的细胞同样能够释放多种EVs,总称为凋亡细胞源性的EVs(Apoptotic extracellular vesicles, ApoEVs)。ApoEVs主要包括2类亚型,一类是较大的囊泡(Apoptotic bodies, ApoBDs),另一类则是更小的微囊泡(Apoptotic microvesicles, ApoMVs)^[12]。在凋亡过程中,细胞膜双层发生重排,形成细胞膜泡,进而产生直径通常为1~5 μm的ApoBDs;与此同时,细胞还会释放直径小于1 μm的ApoMVs^[13]。目前,调控ApoEVs生成的分子机制尚不完全明确,但越来越多的研究

表明, ApoEVs 在免疫调节中发挥着重要作用。ApoEVs 不仅能促进巨噬细胞对凋亡细胞的吞噬清除, 还可通过调节抗原呈递过程影响自身免疫的发展^[14]。因此, ApoEVs 应被视为凋亡细胞与周围细胞之间交流的关键介质, 而不仅仅是细胞凋亡时产生的碎片或副产物。

2 EVs 的来源

EVs 可以来源于培养的细胞、原始细胞或经过基因编辑的细胞, 此外还可来源于植物、细菌及真菌等。EVs 具有较低的免疫刺激特性和高度的生物相容性, 在细胞间的物质传递中发挥作用。当前, MSC 是研究 EVs 最为常见的一类细胞, 可以从骨髓、脂肪组织、脐带及胎盘中分离得到^[15]。其中, 自体脂肪组织来源的 MSC 因其低免疫原性及潜在的再生修复能力, 成为制备 EVs 的理想细胞来源^[16]。

3 EVs 在新生儿疾病治疗中的应用

EVs 在新生儿疾病的多种动物模型中发挥了良好的治疗作用, 如在 ROP 疾病中促进视网膜细胞的修复和功能改善, 在 BPD 模型中促进肺部结构的修复与功能的恢复, 在 HIE 模型中减轻脑损伤程度, 在 NEC 模型中帮助肠道恢复健康状态^[3]。

3.1 早产儿视网膜病变 ROP 是一种导致失明的疾病, 在美国, 这种疾病在儿童失明病因中位居第二, 仅次于皮质视力障碍。在健康状态下, 眼内存在多种抗氧化剂, 负责清除视网膜能量代谢过程中产生的活性氧^[17], 防止其对视网膜细胞造成损伤。然而, 由于早产儿的视网膜尚未完全发育成熟, 更容易受到高氧环境的影响。高氧环境抑制缺氧诱导因子 1 α 的活性, 进而导致血管内皮生长因子 (Vascular endothelial growth factor, VEGF) 和胰岛素样生长因子 1 水平下降, 从而抑制视网膜的正常血管形成, 这是 ROP 病理生理过程的第一阶段。若未得到及时治疗, 视网膜病变可能进展至第二阶段, 即视网膜出现纤维组织增生以及内皮细胞的氧化损伤, 形成瘢痕, 进而导致视网膜脱离^[18]。近期的研究表明, EVs 可以恢复视网膜血流和维持结构完整性, 实现对视网膜的保护作用。

Moisseiev E 等^[19]研究发现, 使用人骨髓来源的 MSC-EVs (BM-MSC-EVs) 可以恢复视网膜的血流并减轻视网膜水肿; 进一步的蛋白组学分析揭示, 其作用机制与 cAMP 应答元件结合蛋白信号通路的激

活密切相关。Fernandez-Gonzalez A 等^[20]研究发现, 高氧环境虽可导致小鼠视网膜变薄与小胶质细胞数量增加, 但 EVs 干预后, 视网膜厚度得以维持, 小胶质细胞数量显著减少, 其对外核层的浸润也得到有效缓解。人脐带来源 MSC-EVs (hUC-MSC-EVs) 可显著减少 ROP 小鼠视网膜新生血管的形成, 且效果与 EVs 浓度呈正相关^[21]。这些发现支持 MSC-EVs 在 ROP 治疗中的潜在应用价值。

3.2 支气管肺发育不良 BPD 是早产儿中一种常见的肺部疾病, 发病机制涉及多种因素, 如母亲吸烟、胎儿生长受限、重症监护时操作不当 (如机械通气造成的损伤)、肺表面活性物质缺乏以及遗传因素等^[22]。这些因素都有可能导致肺部结构改变, 破坏肺泡内毛细血管的气体交换, 从而诱发 BPD。近几十年来, 新生儿重症监护以及产前和产后的干预取得了巨大进步, 极大提高了早产儿的存活率, 但 BPD 的临床治疗仍是巨大挑战^[23]。越来越多的证据表明, 细胞外囊泡在周围受损的组织微环境中起到调节作用, 进而诱导细胞再生分化以及器官的修复重建。

3.2.1 EVs 对 BPD 的治疗现状 在 BPD 的发病过程中, 炎症、氧化应激及血管生成失衡等因素共同破坏肺血管发育, 导致肺动脉高压和血管损伤。这两种病理改变相互加剧, 形成早产儿呼吸循环障碍的恶性循环。当前, 静脉注射 MSC-EVs 有助于减少巨噬细胞对肺部的浸润, 并通过降低缺氧引起的转录激活因子 3 来降低急性新生儿肺动脉高压的发生率^[24]。另外, MSC-EVs 也可通过影响 BPD 早产儿肺部的巨噬细胞来抑制炎症和免疫反应, 进而促进肺部结构的正常发育, 并恢复受损的血管系统^[25]。BPD 婴幼儿的症状并不会随着年龄的增长而有所缓解, 反而会长期存在直至成年。值得注意的是, 在 BPD 晚期应用 MSC-EVs 也能修复损伤的肺组织, 缓解右心室肥大并提高患者的运动能力^[26]。这意味着, 无论是肺损伤的初期还是晚期阶段, MSC-EVs 的介入都能够改善肺功能障碍。研究者进一步比较了不同干预时机的影响: 早期干预 (小鼠出生后第 4 天, 对应人类早产儿孕 24 ~ 28 周肺发育阶段) 与晚期干预 (出生后第 18 ~ 39 天, 对应青少年至成年期) 相比, 早期干预在促进肺泡化、减轻纤维化方面效果更为显著^[25]。因此, 尽早应用 MSC-EVs 干预对于优化肺部发育尤为重要。

3.2.2 EVs 治疗 BPD 的机制 MSC-EVs 负载的

肿瘤坏死因子刺激基因6显著降低BPD模型小鼠体内的炎症因子IL-6、TNF- α 和IL-1 β 的表达水平,同时促进巨噬细胞从促炎的M1状态向抗炎的M2状态转化^[27]。MSC-EVs通过下调无翅型小鼠乳腺肿瘤病毒整合Wnt5a信号通路延缓高氧诱导的肺泡II型细胞向肺泡I型细胞转化^[28];同时负载的microRNA-21-5p会上调Nr2f2的表达,促进肺修复^[29]。Reis M等^[30]研究表明,MSC-EVs可改善高氧诱导的胸腺髓质退化。使用单细胞RNA测序发现,MSC-EVs通过在树突状细胞和髓质上皮细胞中富集抗原提呈和抗氧化应激相关基因,从而发挥其有益作用。

VEGF可能是MSC-EVs发挥治疗BPD的关键分子。研究发现,降低MSC-EVs中VEGF的表达,会削弱其在促进肺泡生成、血管再生及减轻炎症等方面的修复能力^[31]。使用siRNA敲低MSC-EVs中VEGF的表达后,其治疗效果远不如siRNA处理的阴性对照组^[32],表明VEGF是MSC-EVs发挥治疗作用的关键分子。另有研究^[33]也证实了hUC-MSC-EVs表达的VEGF-A是经由PTEN/Akt信号通路(该通路可调节细胞增殖、凋亡与血管生成)这一机制来发挥对肺部的保护作用。

3.3 新生儿缺氧缺血性脑病 HIE是指围产期胎盘功能不全或脐带闭塞,导致脑部血流或氧气供应不足所引发的脑损伤。据统计,HIE约占全球新生儿死亡的23%,在发达国家,每1 000例早产儿中即有1~8例患病^[34],且这些患儿常伴随严重的神经系统后遗症,如脑瘫、癫痫发作、智力障碍、认知障碍等。

HIE的病理生理变化会随时间的推移愈发严重,这使得及时有效地治疗变得困难。HIE的病理分为4个阶段:(1)原发性能量衰竭:缺氧即刻引发ATP耗竭,导致细胞毒性水肿和急性坏死;(2)潜伏期:再灌注后6~48 h,临床表现暂时缓解,但钙超载、自由基损伤及兴奋毒性作用启动凋亡程序;(3)继发性能量衰竭:24~72 h内,线粒体功能障碍伴炎症反应,引发迟发性神经元死亡;(4)终末重塑:坏死组织液化为囊腔,胶质瘢痕形成及脑萎缩导致永久性神经功能缺损^[3]。此外,由于新生儿体内抗氧化剂浓度较低,而氧气需求量却较高,氧化应激对大脑的影响尤为显著。

近年来,尽管围产期治疗水平有了明显提高,但HIE仍是导致新生儿发病和死亡的重要原因之一。低温治疗(Therapeutic hypothermia, TH)是目前治疗

HIE的一种有效疗法,可显著降低18月龄患儿死亡或神经发育障碍的风险^[35]。然而,TH的应用受胎龄、治疗时间窗及医疗设施等条件限制,且部分患儿经TH治疗后仍存在死亡风险或遗留严重并发症^[36]。因此,寻求新的治疗方法成为临床上迫切的需求。

3.3.1 EVs在HIE治疗中的神经保护与免疫调节作用 Ophelders D R M G等^[37]首次将BM-MSC-EVs应用于HIE绵羊模型,从而验证了EVs对神经系统的保护作用。结果显示,BM-MSC-EVs不仅改善了绵羊的神经功能,降低了癫痫发作的频率与持续时间,还促进了皮下白质区域的髓鞘修复。MSC-EVs的神经保护作用可能与免疫功能相关,将BM-MSC-EVs注射到新生小鼠的腹腔内,可以降低大脑内促炎细胞因子TNF- α 的水平,同时增加抗炎细胞因子TGF- β 的水平,从而缓解HIE的病理过程^[38]。

Thomi G等^[39]研究发现人华通氏胶来源的MSC-EVs能影响小胶质细胞上Toll样受体4相关的信号通路,通过抑制NF- κ B抑制剂的降解和MAPK激酶磷酸化,抑制小胶质细胞的过度活化;同时,还能提高FOXO3a转录因子的表达,增强线粒体的自噬能力,进而降低缺氧/再灌注后小胶质细胞焦亡的发生率^[40]。

血脑屏障(Blood brain barrier, BBB)是外周和大脑之间物质交换的桥梁,其受损将导致外周致病因子(如炎症因子、毒性代谢产物)和白细胞进入大脑。EVs对恢复BBB的结构完整性、增加神经营养因子的表达起着非常重要的作用。已有研究证明EVs表面携带的膜联蛋白A1是一种重要的抗炎蛋白,作为外周白细胞迁移的调节因子和巨噬细胞吞噬作用的启动子,在维持BBB的完整性方面发挥作用^[41]。此外,在HIE小鼠模型中发现,通过腹腔注射MSC-EVs可增加多种神经营养因子的表达,如VEGF和表皮生长因子,促进BBB结构的恢复^[39]。

3.3.2 ciMSC-EVs联合HT改善HIE 近期研究表明,永生化间充质干细胞衍生的EVs(ciMSC-EVs)经鼻腔递送可显著提升HIE模型小鼠的少突胶质细胞标志物Olig2表达,其神经保护效应不但与原代MSC-EVs相当,还能够避免MSC相关的异质性问题^[42]。此外,有研究^[43]将HT与ciMSC-EVs相结合来治疗HIE,并在之后的1、3、5 d进行鼻内给药,实验结果表明,相比单纯HT治疗,额外给予ciMSC-EVs能够有效预防HI引起的认知缺陷和焦虑样行为,并

抑制小胶质细胞的活化和促炎因子的表达;结合疗法还可以促进神经再生和发育,包括内皮增殖、神经营养因子表达等,而单一HT治疗未表现出这些效果。

3.4 坏死性小肠结肠炎 NEC是一种常见于新生儿时期的胃肠道疾病,由早产、奶粉喂养、肠缺血和异常细菌定植等多种因素引起。这些因素诱导的炎症反应,可从肠道黏膜的轻微损伤发展至整个肠壁层坏死甚至穿孔,还会影响远端器官(如大脑)的炎症反应^[44]。目前,其基本治疗措施包括暂停经口或胃管喂养,转而采用全静脉营养支持,并使用母乳、预防性抗生素和益生菌;若患儿肠壁出现坏死或穿孔,可能需要进行外科干预。然而,这些措施尚未改善早产儿的预后,反而引起一些严重的并发症,如肠黏膜萎缩和菌群失调,肠切除(>50%)患儿中60%出现肝纤维化^[45]。最近研究表明,EVs具有低免疫原性和肠道保护作用,使其成为治疗NEC的一个颇具吸引力的选择^[46]。

3.4.1 EVs疗法在NEC治疗中的应用 McCulloch C J等^[47]研究了源自不同类型的大鼠干细胞EVs对NEC的治疗效果。这些EVs分别来源于以下4种细胞:羊水来源的间充质干细胞、骨髓来源的间充质干细胞、羊水源性的神经干细胞和新生儿肠道神经干细胞。这些来源的EVs都能够显著降低NEC的发生率。

3.4.2 母乳来源的EVs在NEC治疗中的作用 母乳在新生儿胃肠道发育、成熟及免疫系统维持中发挥着关键作用。Zonneveld M I等^[48]研究表明,母乳来源的EVs(mEVs)不仅可以调节胃肠道内细胞的生物过程,还能够直接作用于CD4⁺ T细胞,使其失活,从而减缓活化过程,但不会导致机体对这种失活状态产生耐受。此外,通过深入探究mEVs内的分子成分,研究发现了多种miRNAs,如let-7a、let-7b、let-7f及miRNA-148a,这些miRNAs具有抑制功能,能够降低树突状细胞中参与激活NF- κ B信号途径相关基因的表达水平^[49]。

3.4.3 益生菌衍生的EVs对肠道稳态的调节作用 肠道内环境异常复杂,其稳态受到上皮层、肠道免疫系统和微生物群之间动态的相互作用影响。最近的研究表明,一些益生菌衍生的EVs也可作为免疫和肠道屏障功能的调节剂。丁酸梭菌衍生的EVs可明显改善葡聚糖硫酸钠(Dextran sulfate sodium, DSS)诱导的肠道微生物群稳态,减轻溃疡

性结肠炎症状^[50]。Wang X等^[51]发现,摄入嗜粘蛋白阿克曼氏菌来源的外膜囊泡(Outer membrane vesicles, OMVs)可增加结肠炎小鼠肠道菌群的多样性和数量,促进肠壁完整性修复;同时,OMVs可促进黏膜上的IgA免疫应答,减轻炎症反应,从而有助于清除病原体。摄入丁酸梭菌衍生的OMVs显著减少了由DSS诱导的结肠炎小鼠体内的大肠埃希菌和福氏志贺菌的数量。进一步研究发现,当OMVs与LPS诱导的巨噬细胞共同培养时,OMVs可以恢复miRNA-199a-3p的表达并调控MAPK和NF- κ B信号通路,有效抑制炎症反应^[52]。上述研究表明,益生菌可能通过其衍生的EVs治疗NEC。

4 总结与展望

EVs作为关键的细胞间通讯媒介,凭借其良好的生物相容性与低免疫原性,通过递送蛋白质、核酸等活性成分,在ROP、BPD、HIE及NEC等多种新生儿疾病模型中显示出显著疗效。研究表明,无论是MSCs来源的EVs,还是母乳或益生菌衍生的EVs,均可通过抗炎、抗凋亡、促进组织修复与屏障保护等机制发挥神经、肺和肠道保护作用,为目前临床治疗手段有限的新生儿疾病提供了新思路。

然而,尽管EVs潜力巨大,但目前对其治疗成分的了解还不够全面。特别是特异性的非编码RNA,如PIWI蛋白相互作用RNA(piRNA)、核糖体RNA、核仁小RNA和环状RNA等,他们在EVs中的功能和作用机制仍有待许多待解之谜。此外,将EVs应用于临床还面临一系列技术和安全方面的挑战。例如,如何使EVs有效穿越生物屏障并精准递送至靶细胞、如何应对可能诱发的免疫反应及潜在长期毒性等问题,均是亟需解决的关键难题。面对这些难题,我们需要借助先进的科学技术,如蛋白质组学和基因组学的分析手段,来揭示EVs内部携带的特定分子结构和功能,并开展严格的临床前期安全性和有效性评估。这是确保这些新发现顺利走向临床实践的基础。

所有作者均声明不存在利益冲突关系。

参考文献:

- [1] Omar S A, Abdul-Hafez A, Ibrahim S, et al. Stem-cell therapy for bronchopulmonary dysplasia (BPD) in newborns[J]. *Cells*, 2022, 11(8): 1275.
- [2] Goryunov K, Ivanov M, Kulikov A, et al. A review of the

- use of extracellular vesicles in the treatment of neonatal diseases: current state and problems with translation to the clinic[J]. *Int J Mol Sci*, 2024, 25(5): 2879.
- [3] Wang W, Jo H, Park S, et al. Integrated analysis of ascites and plasma extracellular vesicles identifies a miRNA-based diagnostic signature in ovarian cancer[J]. *Cancer Lett*, 2022, 542: 215735.
- [4] Elsharkasy O M, Nordin J Z, Hagey D W, et al. Extracellular vesicles as drug delivery systems: why and how?[J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2020, 159: 332–343.
- [5] Szatanek R, Baj-Krzyworzeka M, Zimoch J, et al. The methods of choice for extracellular vesicles (EVs) characterization[J]. *Int J Mol Sci*, 2017, 18(6): 1153.
- [6] Clares-Pedrero I, Rocha-Mulero A, Palma-Cobo M, et al. Molecular determinants involved in the docking and uptake of tumor-derived extracellular vesicles: implications in cancer[J]. *Int J Mol Sci*, 2024, 25(6): 3449.
- [7] Théry C, Amigorena S, Raposo G, et al. Isolation and characterization of exosomes from cell culture supernatants and biological fluids[J]. *Curr Protoc Cell Biol*, 2006, Chapter 3: Unit 3. 22.
- [8] Winter V, Hauser M T. Exploring the ESCRTing machinery in eukaryotes [J]. *Trends Plant Sci*, 2006, 11(3): 115–123.
- [9] Krylova S V, Feng D. The machinery of exosomes: biogenesis, release, and uptake[J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(2): 1337.
- [10] Ghossoub R, Lembo F, Rubio A, et al. Syntenin-ALIX exosome biogenesis and budding into multivesicular bodies are controlled by ARF6 and PLD2 [J]. *Nat Commun*, 2014, 5: 3477.
- [11] Sheta M, Taha E A, Lu Y, et al. Extracellular vesicles: new classification and tumor immunosuppression [J]. *Biology (Basel)*, 2023, 12(1): 110.
- [12] Atkin-Smith G K, Tixeira R, Paone S, et al. A novel mechanism of generating extracellular vesicles during apoptosis *via* a beads-on-a-string membrane structure [J]. *Nat Commun*, 2015, 6: 7439.
- [13] Ainola M, Porola P, Takakubo Y, et al. Activation of plasmacytoid dendritic cells by apoptotic particles—mechanism for the loss of immunological tolerance in Sjögren’s syndrome[J]. *Clin Exp Immunol*, 2018, 191(3): 301–310.
- [14] Caruso S, Poon I K H. Apoptotic cell-derived extracellular vesicles: more than just debris [J]. *Front Immunol*, 2018, 9: 1486.
- [15] Sanz-Ros J, Mas-Bargues C, Romero-García N, et al. Extracellular vesicles as therapeutic resources in the clinical environment [J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(3): 2344.
- [16] Bond S T, Calkin A C, Drew B G. Adipose-derived extracellular vesicles: systemic messengers and metabolic regulators in health and disease [J]. *Front Physiol*, 2022, 13: 837001.
- [17] Masuda T, Shimazawa M, Hara H. Retinal diseases associated with oxidative stress and the effects of a free radical scavenger (edaravone) [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2017, 2017: 9208489.
- [18] Bashinsky A L. Retinopathy of prematurity[J]. *N Carol Med J*, 2017, 78(2): 124–128.
- [19] Moisseiev E, Anderson J D, Oltjen S, et al. Protective effect of intravitreal administration of exosomes derived from mesenchymal stem cells on retinal ischemia [J]. *Curr Eye Res*, 2017, 42(10): 1358–1367.
- [20] Fernandez-Gonzalez A, Willis G R, Yeung V, et al. Therapeutic effects of mesenchymal stromal cell-derived small extracellular vesicles in oxygen-induced multi-organ disease: a developmental perspective [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2021, 9: 647025.
- [21] Zhang X T, Zhao B W, Zhang Y L, et al. Human umbilical cord mesenchymal stem cells derived-exosomes on VEGF-A in hypoxic-induced mice retinal astrocytes and mice model of retinopathy of prematurity [J]. *Int J Ophthalmol*, 2024, 17(7): 1238–1247.
- [22] Xi Y, Ju R, Wang Y. Mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles for the treatment of bronchopulmonary dysplasia[J]. *Front Pediatr*, 2022, 10: 852034.
- [23] Bonadies L, Zaramella P, Porzionato A, et al. Present and future of bronchopulmonary dysplasia [J]. *J Clin Med*, 2020, 9(5): 1539.
- [24] Lee C, Mitsialis S A, Aslam M, et al. Exosomes mediate the cytoprotective action of mesenchymal stromal cells on hypoxia-induced pulmonary hypertension [J]. *Circulation*, 2012, 126(22): 2601–2611.
- [25] Willis G R, Fernandez-Gonzalez A, Anastas J, et al. Mesenchymal stromal cell exosomes ameliorate experimental bronchopulmonary dysplasia and restore lung function through macrophage immunomodulation [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2018, 197(1): 104–116.
- [26] Willis G R, Fernandez-Gonzalez A, Reis M, et al. Mesenchymal stromal cell-derived small extracellular vesicles restore lung architecture and improve exercise capacity in a model of neonatal hyperoxia-induced lung injury[J]. *J Extracell Vesicles*, 2020, 9(1): 1790874.
- [27] Chaubey S, Thuesen S, Ponnalagu D, et al. Early gestational mesenchymal stem cell secretome attenuates

- experimental bronchopulmonary dysplasia in part *via* exosome-associated factor TSG-6 [J]. *Stem Cell Res Ther*, 2018, 9(1): 173.
- [28] You J, Zhou O, Liu J, et al. Human umbilical cord mesenchymal stem cell-derived small extracellular vesicles alleviate lung injury in rat model of bronchopulmonary dysplasia by affecting cell survival and angiogenesis [J]. *Stem Cells Dev*, 2020, 29(23): 1520-1532.
- [29] Wu Y, Zhang Z, Li J, et al. Mechanism of adipose-derived mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles carrying miR-21-5p in hyperoxia-induced lung injury [J]. *Stem Cell Rev Rep*, 2022, 18(3): 1007-1024.
- [30] Reis M, Willis G R, Fernandez-Gonzalez A, et al. Mesenchymal stromal cell-derived extracellular vesicles restore thymic architecture and T cell function disrupted by neonatal hyperoxia [J]. *Front Immunol*, 2021, 12: 640595.
- [31] Sil C, Yoon A, Bae J, et al. Critical role of vascular endothelial growth factor secreted by mesenchymal stem cells in hyperoxic lung injury [J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2014, 51(3): 391-399.
- [32] Yoon A, Soon P, Eun K, et al. Vascular endothelial growth factor mediates the therapeutic efficacy of mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles against neonatal hyperoxic lung injury [J]. *Exp Mol Med*, 2018, 50(4): 26.
- [33] Lesage F, ThéBaud B. Mesenchymal stromal cell-derived extracellular vesicles for neonatal lung disease: tiny particles, major promise, rigorous requirements for clinical translation [J]. *Cells*, 2022, 11(7): 1176.
- [34] Douglas-Escobar M, Weiss M D. Hypoxic-ischemic encephalopathy: a review for the clinician [J]. *JAMA Pediatr*, 2015, 169(4): 397-403.
- [35] Tagin M A, Woolcott C G, Vincer M J, et al. Hypothermia for neonatal hypoxic ischemic encephalopathy: an updated systematic review and meta-analysis [J]. *Arch Pediatr Adolesc Med*, 2012, 166(6): 558-566.
- [36] Adstamgkonkul D, Hess D C. Ischemic Conditioning and neonatal hypoxic ischemic encephalopathy: a literature review [J]. *Cond Med*, 2017, 1(1): 9-16.
- [37] Ophelders D R M G, Wolfs T G A M, Jellema R K, et al. Mesenchymal stromal cell-derived extracellular vesicles protect the fetal brain after hypoxia-ischemia [J]. *Stem Cells Transl Med*, 2016, 5(6): 754-763.
- [38] Kaminski N, Köster C, Mouloud Y, et al. Mesenchymal stromal cell-derived extracellular vesicles reduce neuroinflammation, promote neural cell proliferation and improve oligodendrocyte maturation in neonatal hypoxic-ischemic brain injury [J]. *Front Cell Neurosci*, 2020, 14: 601176.
- [39] Thomi G, Surbek D, Haesler V, et al. Exosomes derived from umbilical cord mesenchymal stem cells reduce microglia-mediated neuroinflammation in perinatal brain injury [J]. *Stem Cell Res Ther*, 2019, 10(1): 105.
- [40] Hu Z, Yuan Y, Zhang X, et al. Human umbilical cord mesenchymal stem cell-derived exosomes attenuate oxygen-glucose deprivation/reperfusion-induced microglial pyroptosis by promoting FOXO3a-dependent mitophagy [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2021, 2021: 6219715.
- [41] Cristante E, McArthur S, Mauro C, et al. Identification of an essential endogenous regulator of blood-brain barrier integrity, and its pathological and therapeutic implications [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, 110(3): 832-841.
- [42] Labusek N, Mouloud Y, Köster C, et al. Extracellular vesicles from immortalized mesenchymal stromal cells protect against neonatal hypoxic-ischemic brain injury [J]. *Inflamm Regen*, 2023, 43(1): 24.
- [43] Labusek N, Ghari P, Mouloud Y, et al. Hypothermia combined with extracellular vesicles from clonally expanded immortalized mesenchymal stromal cells improves neurodevelopmental impairment in neonatal hypoxic-ischemic brain injury [J]. *J Neuroinflammation*, 2023, 20(1): 280.
- [44] Filip R. An update on the role of extracellular vesicles in the pathogenesis of necrotizing enterocolitis and inflammatory bowel diseases [J]. *Cells*, 2021, 10(11): 3202.
- [45] Roberts A G, Younge N, Greenberg R G. Neonatal necrotizing enterocolitis: an update on pathophysiology, treatment, and prevention [J]. *Paediatr Drugs*, 2024, 26(3): 259-275.
- [46] Manchon E, Hirt N, Bouaziz J D, et al. Stem cell-derived extracellular vesicles: potential therapeutics for wound healing in chronic inflammatory skin diseases [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(6): 3130.
- [47] McCulloh C J, Olson J K, Wang Y, et al. Treatment of experimental necrotizing enterocolitis with stem cell-derived exosomes [J]. *J Pediatr Surg*, 2018, 53(6): 1215-1220.

(下转第261页)