

DOI: 10.11830/ISSN.1000-5013.202408063



间充质干细胞外泌体在骨肉瘤治疗中的研究进展

王福财, 刘卓晟

(华侨大学 医学院, 福建 泉州 362021)

摘要: 阐述间充质干细胞外泌体(MSC-Exos)在骨肉瘤(OS)治疗中的研究进展。通过查阅近年的相关文献,综述 OS 的研究现状、发病机制和潜在治疗靶点, MSC-Exos 的生物学特性和功能,以及 MSC-Exos 在 OS 的靶向治疗、肿瘤耐药性和作为药物递送载体等方面的研究进展。结果表明: MSC-Exos 作为一种新兴的生物治疗剂,在 OS 治疗领域具有广阔的应用前景。

关键词: 间充质干细胞; 外泌体; 骨肉瘤; 靶向治疗; 肿瘤耐药性

中图分类号: R 738.1

文献标志码: A

文章编号: 1000-5013(2025)01-0001-13

Research Progress of Mesenchymal Stem Cell-Derived Exosomes in Treatment of Osteosarcoma

WANG Fucui, LIU Zhuosheng

(College of Medicine, Huaqiao University, Quanzhou 362021, China)

Abstract: This review is to elucidate the research progress of mesenchymal stem cell-derived exosomes (MSC-Exos) in the treatment of osteosarcoma (OS). By reviewing recent relevant literature, the current status, pathogenesis and potential therapeutic targets of OS, the biological characteristics and functions of MSC-Exos, as well as the research progress of MSC-Exos in OS targeted therapy, tumor drug resistance and as a drug delivery carrier are summarized. The results show that MSC-Exos, as a novel biological therapeutic agent, has broad application prospects in OS treatment.

Keywords: mesenchymal stem cells; exosomes; osteosarcoma; targeted therapy; tumor resistance

骨肉瘤(OS)是来源于间叶组织的骨肿瘤,在原发恶性骨肿瘤中占比约为 50%。目前,学界广泛认为其起源于间充质干细胞(MSC),尽管骨肉瘤的治疗已经取得了巨大的进展,但仍然面临着作用靶点少、异质性高、肿瘤微环境复杂、预后较差等问题。近年来,间充质干细胞外泌体(MSC-Exos)作为肿瘤治疗的有力工具已经成为研究热点, MSC-Exos 通过调节肿瘤微环境、抑制肿瘤细胞的增殖和迁移,表现出显著的抗肿瘤作用。此外, MSC-Exos 还能作为药物递送的纳米载体,提高药物的靶向性和治疗效果。大量研究结果表明, MSC-Exos 具有体积小、完整性高等特性,将 MSC-Exos 应用于 OS 治疗具有较高的临床价值和广阔的应用前景,有望成为一种治疗 OS 的新型纳米治疗剂。

收稿日期: 2024-08-25

通信作者: 王福财(1978-),男,副教授,博士,主要从事间充质干细胞在肿瘤及炎症损伤中的应用的研究。E-mail: wfc@hqu.edu.cn.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81860354, 81060273); 江西省青年科学基金资助项目(20132BAB215017)

1 骨肉瘤概述

1.1 骨肉瘤研究现状

OS 是骨组织中最常见的原发性恶性骨肿瘤,在儿童和青少年人群中的发病率最高(中位年龄为 18 岁),其次是 60 岁以上的老年人,具有双峰年龄分布特征。研究显示,在全球范围内,OS 的发生率约为每年每百万人 2~4 例^[1-2],其中,大约四分之一的患者存在肝和肺的转移性疾病,肺是最常见的转移部位^[3],肺组织的转移进展和患者复发是 OS 临床死亡的主要原因^[4]。OS 的好发部位为股骨远端、胫骨近端和肱骨近端等长骨靠近骨干骺端的生长板,较少发生在颅骨、颌骨、骨盆等位置。OS 的特征是存在转化的成骨细胞并产生类骨质基质。OS 细胞的生长转移与肿瘤微环境(TME)有很强的联系,特别是骨微环境。骨微环境是由细胞外基质和各种细胞所组成,后者包括 MSC、内皮细胞、巨噬细胞、淋巴细胞、干细胞、成纤维细胞、成骨细胞、破骨细胞和骨细胞等。骨微环境是一个非常特化、复杂的高度动态的环境,OS 和骨微环境中多种细胞之间通过许多环境信号相互调节,这些环境信号通常由多种细胞因子、趋化因子、可溶性生长因子诱导生成^[5],由细胞外囊泡(EV)进行传递。目前,EV 被认为是细胞间通信的一个有效载体^[6],由外泌体(Exos)、迁移体、微泡等多种亚型构成。然而,由于 OS 高水平细胞异质性的存在,以及 OS 相关分子和遗传机制的复杂性,使临床上开发有效治疗的手段变得极其困难。目前,OS 患者使用的治疗包括手术切除原发性肿瘤和新辅助化疗。这种常规治疗方法对于局限性 OS 患者疗效较好,但对于具有化疗药物耐药性的晚期、转移性、复发性的 OS 患者则效果大大降低,可导致预后不良。据报道,转移性 OS 患者的平均生存时间一般不到 5 a^[7]。因此,阐明 OS 的发病机制及其潜在治疗靶点,可为未来开发新型 OS 的治疗方法提供新的思路。

1.2 骨肉瘤发病机制

1.2.1 骨肉瘤分子生物学特征 OS 的分子生物学机制可以大致分为 DNA 突变、非编码 RNA 作用和表观遗传学改变等 3 个部分。DNA 突变主要体现在 TP53 和 RB1 两个抑癌基因。Wagley 等^[8]发现,在小鼠体外试验中使 TP53 沉默后,可以诱导小鼠 MSC 中的 Osx,Runx2 高水平表达,使骨质表型产生恶性转化。研究表明,RB1 基因是推动 OS 亚群发展的重要驱动因子。其他的 DNA 突变,如 MDM2^[9],WWOX,NF2^[10],BLM^[11]等均与 OS 的发生、发展具有相关性。非编码 RNA 占体内 RNA 数量的 90%以上,其中,miR-101,miR-200 等微小 RNA 与 OS 密切相关。miR-101 能显著降低 MG-63 细胞系的存活率抑制 OS 增殖,而 miR-200 则可以通过下调 OS 细胞中的 E 结合锌指蛋白(ZEB1,ZEB2),抑制 OS 发生及转移。其他的非编码 RNA(如 lncRNA-FGD5-AS1,circRNA-103801,circRNA-MTO1 等)均可对 OS 产生不同程度的影响。除此之外,Zhang 等^[12]发现,以 DNA 甲基化和组蛋白修饰为主的表观遗传学异常改变也能够引起正常细胞向恶性肿瘤细胞转化。因此,研究 OS 的分子生物学特征,可为 OS 的早期诊断、早期治疗、疗效判断及预后等提供重要的参考指标。

1.2.2 骨肉瘤相关信号通路 近年来,越来越多的研究表明,肿瘤细胞内信号通路的失调与 OS 的发生、发展密切相关。Zhu 等^[13]发现,SNHG10,FLVCR1-AS1 等非编码 RNA 物质可通过调节 Wnt/ β -连环蛋白信号通路的活性调控 OS 细胞的增殖和侵袭。Liu 等^[14]发现,在 PI3K/Akt 信号通路中,lncRNA GAS5 的上调可以降低 PI3K/Akt 信号通路的活性,达到抑制 OS 细胞增殖和减少侵袭的效果。而 Wang 等^[15]发现,在 JAK/STAT 信号通路中,OS 细胞中 IL-6 呈高水平表达,抑制该通路则可抑制 OS 细胞生长和转移。除此之外,PD-1/PD-L1,MAPK,NF- κ B 等信号通路也呈现出与 OS 的高度相关性,共同参与 OS 的生长发展机制^[16-17]。因此,多条信号通路参与 OS 的发生、发展,但 OS 具体发病机制尚不明确。

1.3 骨肉瘤潜在分子靶点

1.3.1 泛素特异性蛋白酶家族 泛素-蛋白酶体系统的功能影响着机体大部分的重要细胞活动,包括基因转录、DNA 修复及细胞凋亡的全过程,并且深刻诱导肿瘤的发生、发展^[18]。泛素特异性蛋白酶 1(USP1)是一种去泛素化酶亚型,研究表明,USP1 在肿瘤组织中呈高度表达,其在 OS 的进展中也发挥重要作用。Chen 等^[19]发现,盐诱导激酶 2(SIK2)在多种肿瘤(包括 OS)中的表达水平与肿瘤的进展密切相关,SIK2 可作为 OS 潜在的治疗靶点。以慢病毒载体为传递介质的 USP1-shRNA 能够沉默 SIK2

并导致 OS 细胞系凋亡,降低侵袭性,这表明 USP1 和 SIK2 之间存在密切关联。Yuan 等^[18]发现, USP1 可以通过 K11 和 K29 去泛素化介导转录共激活因子与 PDZ 结合基序进行稳定结合,对下游的 Hippo 信号通路产生影响,抑制 OS 细胞中 TEAD 转录因子和 PDZ 结合基序的相互作用,降低下游 Hippo 信号通路的各组分水平,包括 CYR61,c-Myc 和 RUNX2 等。此外,Zeng 等^[20]在 一 项 包 含 45 个 OS 样 本 的 报 告 中 发 现,USP7 的 高 水 平 表 达,可 能 通 过 激 活 Wnt/ β -连 环 蛋 白 信 号 通 路 诱 导 OS 细 胞 发 生 上 皮-间 质 转 化。因 此,泛 素 特 异 性 蛋 白 酶 家 族(不 限 于 USP1,USP2,USP7)均 对 OS 的 发 生、发 展 产 生 直 接 或 间 接 的 影 响。

1.3.2 ErbB 家族 ErbB 家族是一类能够调节关键细胞信号传导途径和基因表达水平的酪氨酸激酶受体^[21]。ErbB 家族由以下 4 个成员构成:ErbB1 (HER1),ErbB2 (HER2),ErbB3 (HER3),ErbB4 (HER4),其中,HER1 属于表皮生长因子受体(EGFR)。ErbB1 和 ErbB2 能够促进肿瘤的发展,且 ErbB2/ErbB3 的信号传导可以通过 PI3K/Akt 途径促进肿瘤细胞的生长和侵袭。ErbB3 可以通过激活 Wnt 3a 途径的信号传导,使由 Wnt 3a 途径诱导的靶向 MSC 向成骨细胞分化,形成新的骨组织应用于骨再生。Huang 等^[22]在 一 项 包 括 90 个 OS 患 者 样 本 的 研 究 中 发 现,原 发 性 OS 组 织 中 的 ErbB3,ErbB4 的 扩 增 水 平 明 显 更 高,并 且 ErbB3 和 ErbB3-EGFR 共 扩 增 水 平 与 OS 发 生、发 展 有 着 密 切 相 关 性,提 示 ErbB3 可 能 是 OS 治 疗 的 一 个 重 要 靶 点。Jullien 等^[23]发 现,在 同 种 异 体 移 植 的 小 鼠 模 型 中,ErbB3 的 沉 默 能 够 通 过 抑 制 肿 瘤 细 胞 增 殖 达 到 治 疗 肿 瘤 的 效 果,这 更 证 实 ErbB3 应 用 于 OS 治 疗 中 的 潜 在 可 能 性。因 此,ErbB 家 族 有 望 成 为 OS 潜 在 的 治 疗 靶 标。

1.3.3 溶血磷脂酸酰基转移酶 β 溶血磷脂酸酰基转移酶 β (LPAAT β)是一类可以调节 OS 细胞增殖的酶类。它能够将机体内的溶血磷脂酸转化为磷脂酸,溶血磷脂酸的生物活性与细胞的生长增殖有着紧密的联系,且转化后的产物磷脂酸是一种具有信息传导功能的生物活性磷脂,它广泛参与机体多种信号转导途径,如 Raf-1,mTOR 等,能够发挥抑制肿瘤细胞的作用。在大量的 OS 患者样本研究中,均发现 LPAAT β 的过表达情况,这表明 LPAAT β 的水平高低与 OS 发生、发展有着潜在联系。Song 等^[24]发 现,将 siRNA 沉 默 的 LPAAT β 插 入 到 慢 病 毒 载 体 后,在 体 外 对 具 有 顺 铂 耐 药 性 的 OS 细 胞 进 行 给 药,以 此 来 观 测 沉 默 LPAAT β 对 OS 细 胞 活 力 的 影 响,结 果 表 明,沉 默 LPAAT β 基 因 能 够 抑 制 顺 铂 耐 药 性 OS 细 胞 的 生 长,主 要 是 通 过 降 低 PI3K/Akt/mTOR 信 号 通 路 的 激 活。Gan 等^[25]发 现,在 睾 丸 癌 细 胞 模 型 中,激 活 PI3K/Akt/mTOR 信 号 通 路 能 够 抑 制 顺 铂 诱 导 的 细 胞 凋 亡,并 改 善 对 顺 铂 的 耐 药 性。这 一 机 制 在 其 他 肿 瘤 如 OS 中 可 能 也 具 有 相 似 的 调 控 作 用,但 具 体 机 制 尚 需 进 一 步 研 究 验 证。

1.3.4 Notch 信号通路 Notch 信号通路主要参与细胞间的信息传导,当细胞间带有 Notch 信号的相关配体的细胞和相邻带有 Notch 信号受体的细胞结合后,即可激活 Notch 信号通路,产生信号传导,其本质是配体受体相互结合后产生交互作用,使得细胞中 Notch 蛋白的构象变化,发生 Notch 细胞内域的核转位。目前,在哺乳动物体内已发现有 5 种配体(DLL1,DLL3,DLL4,Jagged1,Jagged2)和 4 种受体(Notch1,Notch2,Notch3,Notch4)。骨形态发生蛋白 9(BMP9)是一类能够调节肿瘤细胞增殖和组织修复再生的蛋白质,在建立 BMP9 强诱导性 MSC 分化的前提条件之下,Notch 信号可通过调节不同的配体和受体发挥不同作用,其中,Notch1 能够抑制破骨细胞的生成和骨吸收,而 Notch2 则可以显著增强作用。由此可见,Notch 信号传导在肿瘤细胞发生、发展、迁移过程中都发挥关键作用,与 OS 微环境紧密相关。在 OS 的模型中,可以发现 Notch 信号失调,Notch 信号活性调节对于 OS 的治疗具有潜在意义。Cao 等^[26]发 现,Notch1 可 以 激 活 BMP9/Smad 信 号 通 路,并 通 过 上 调 ALK2 表 达 水 平,促 进 MSC 分 化 增 殖 用 于 骨 再 生,而 且 经 过 Notch 信 号 诱 导 的 BMP9 还 能 够 促 进 MSC 成 骨 分 化 的 全 过 程,使 机 体 内 碱 性 磷 酸 酶 活 性 大 大 增 强。然 而,Notch 信 号 通 路 在 OS 发 生、发 展 中 的 确 切 作 用 仍 有 待 进 一 步 研 究。

1.3.5 其他潜在分子靶点 细胞外基质(ECM)与 OS 的发生、发展密切相关。Martino 等^[27]发现,ECM 不仅可以早期预防 OS 的发生,还能通过调控 TME 抑制肿瘤的生长和进展,具体表现在 TME 中胶原蛋白、纤维粘连蛋白、层粘连蛋白等物质的水平变化。Bergamaschi 等^[28]发 现,将 ECM 分 为 主 要 的 4 大 类:ECM1,ECM2,ECM3,ECM4,它 们 分 别 参 与 4 种 不 同 的 途 径(PI3K 途 径、葡 萄 糖 代 谢 途 径、Wnt- β -连 环 蛋 白 途 径、内 质 网 途 径)对 肿 瘤 细 胞 进 行 调 节,能 够 在 肿 瘤 细 胞 中 发 挥 不 同 的 生 物 学 功 能。

小分子核糖核酸(miRNA)与蛋白质的相互作用对于 OS 的进展有重要作用。常见的结合蛋白主要是以 NOB1, HMGB1, MIF 为主。Zhang 等^[29]发现,通过下调 miR-363 能够使 NOB1 的表达水平提高,而 miR-363 又与 OS 细胞增殖、迁移及上皮-间质转化有着重要联系。此外,Sumaiya 等^[30]发现,巨噬细胞移动抑制因子(MIF)通过糖皮质激素反调节来介导生成炎症因子并参与肿瘤过程,MIF 能够与 miR-451 发生相互作用,诱导 miR-451 过表达并抑制 OS 细胞的增殖和迁移。Centomo 等^[31]发现,miR-22 能够靶向作用于树突状细胞(DC)的 p38 而抑制 DC 的抗肿瘤能力,进而诱导肿瘤进展。Lian 等^[32]发现,miR-34a 通过调控 C-Myc 和 Bim 信号通路,与 OS 细胞对顺铂(CDDP)的化疗敏感性、转移及患者预后密切相关。

DNA 依赖性蛋白激酶催化亚基(DNA-PKcs)是一类与凋亡蛋白酶高度相关的核 DNA 依赖性丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶的催化亚基,在大量凋亡细胞中都可以观测到 DNA-PKcs 活性降低,因此,DNA-PKcs 是评价细胞凋亡的关键指标。Fang 等^[33]在小鼠实验模型中发现,DNA-PKcs 活性降低可以抑制小鼠体中人胶质母细胞瘤异种移植物的生长,使人胶质母细胞瘤异种移植植物中的肿瘤细胞大程度消退,在 OS 治疗中也可能发挥作用。

Gremlin(GREM)1 是骨形态形成蛋白拮抗剂,属于 BMP 家族成员,在机体内发挥着调节组织分化的关键作用。Gu 等^[34]发现,通过 lenti-GREM1 诱导的 GREM1 表现出过表达水平后,能够对 OS 细胞系中的 U2OS, MG63, Saos-2 等细胞的活力产生抑制作用,从而抑制 OS 发展。进一步在小鼠接种 U2OS 细胞模型中研究发现,上调 GREM1 水平能够抑制 OS 增殖,而 GREM1 沉默表达则会促进 OS 的发生、发展。

不同类型分子靶点与治疗骨肉瘤生物学功能的关系,如表 1 所示。

表 1 不同类型分子靶点与治疗骨肉瘤生物学功能的关系

Tab. 1 Relationship between different types of molecular targets and biological functions in treatment of osteosarcoma

分子靶点	靶点/信号通路	功能	引用文献
SNHG10	Wnt/ β -连环蛋白途径	促进增殖和转移	文献[13]
lncRNA GAS5	PI3K/Akt 途径	抑制侵袭和迁移	文献[14]
IL-6	JAK/STAT 途径	调节生长和转移	文献[15]
USP1	Hippo 途径	诱导细胞凋亡	文献[18-19]
USP7	Wnt/ β -连环蛋白途径	诱导上皮-间质转化	文献[20]
ErbB3	Wnt 3a 途径	抑制细胞增殖	文献[22-23]
LPAAT β	PI3K/Akt/mTOR 途径	增强耐药性	文献[24-25]
Notch1	BMP9/Smad 途径	促进 MSC 成骨分化	文献[26]
ECM1	PI3K 途径	上调胶原蛋白	文献[28]
ECM2	Wnt/ β -连环蛋白途径	高度表达透明质酸	文献[28]
ECM3	葡萄糖代谢途径	维护细胞结缔组织	文献[28]
ECM4	内质网途径	上调炎症基因表达	文献[28]
miR-363	NOB1	抑制生长、迁移	文献[29]
miR-451	MIF	介导生成炎症因子	文献[30]
miR-22	p38	抑制 DC 抗肿瘤活性	文献[31]
miR-34a	C-Myc, Bim	提高化疗敏感性	文献[32]
DNA-PKcs	GBM	介导肿瘤消退	文献[33]
GREM1	U2OS, MG63, Saos-2	抑制细胞系活性	文献[34]

2 间充质干细胞及外泌体生物学特性

2.1 间充质干细胞外泌体

MSC 起源于发育早期的中胚层,属于多能干细胞。MSC 具有多向分化和自我复制的特点,能够分化为多种不同的组织细胞,包括骨细胞、软骨细胞、脂肪细胞等, MSC 在成人组织中功能的主要表现包括修复机制和再生活性。它存在于人体生长发育的许多组织中,可来源于骨髓、胎盘、羊水、脐带、脂肪组织和其他组织细胞。MSC 除了通过直接分化而达到治疗作用以外,还能够通过旁分泌的方式实现治

疗作用,旁分泌的物质主要是外泌体等细胞外囊泡。这类物质作用于靶细胞,最终实现靶向治疗^[35-36]。此外,Abdelmoneim 等^[37]发现,MSC 还表现出极强的免疫调节能力,MSC 可以通过分泌大量促炎因子诱导机体产生免疫应答,并且还能够有效地抑制炎症反应,招募大量的生长因子,从而激活机体损伤组织部位再生修复的机制。MSC 还具有多种生物学效应,在干扰肿瘤增殖侵袭、调节炎症反应、抗细胞凋亡、促进血管生成中都发挥着重要作用。MSC 临床广泛应用于干细胞移植、组织损伤修复、自身免疫性疾病治疗等领域,是目前再生医学领域中研究最广泛的干细胞。近年来,Qiao 等^[38]的研究结果显示, MSC 可促进肿瘤进展和抑制肿瘤增殖的现象,这提示 MSC 可能与肿瘤治疗存在高度相关性。Karnoub 等^[39]的研究结果显示, MSC 在 TME 中能够转化为肿瘤相关间充质干细胞,从而促进癌症进展。此后,基于 MSC 巨大的治疗潜力,将 MSC 用于临床肿瘤的治疗受到了越来越多学者的关注。

Exos 是由细胞分泌出的 EV 的一个亚群,大小均匀、直径为 40~100 nm,且具有相对稳定的脂质双分子层膜结构。根据颗粒直径大小, EV 可以分为外泌体(40~100 nm)、微泡(100~1 000 nm)和凋亡小体(500~5 000 nm)。外泌体最初是由 Johnstone^[40]在网织红细胞的研究中发现,并且在 1987 年将其命名为 exosome。Exos 早期被当作是与细胞废物代谢相关的物质,近些年来开始逐渐受到人们关注。Exos 通常以其内容物的不同进行分类,含有不同内容物的 Exos 在溶液中都具有各自的沉降系数,利用该特点进行差速离心是目前最常用的外泌体分离和提取的方法。除差速离心之外,通常还可使用超滤法、免疫亲和膜分离法、尺寸排除色谱法、分子筛层析法、微流控技术法等多种方法^[41]作为分离提取 Exos 的途径。Exos 是细胞间通讯的重要介质,可以将不同的内容物运至不同细胞,并参与信息传递和信号调控,其内容物复杂多样,包括蛋白质、核酸(mRNA, lncRNA, circRNA, miRNA, DNA)、脂质等生物分子。根据来自外泌体数据库 Vesiclepedia(<http://microvesicles.org/>)的数据,迄今为止被发现的 Exos 内容物包括 566 911 种蛋白质, 27 692 种 mRNA, 22 858 种 miRNA。随着研究的深入,除了网织红细胞以外,如间充质干细胞、肿瘤细胞、脂肪细胞、淋巴细胞等几乎所有类型的细胞都能够形成 Exos,且大多数都以出芽的方式进行分泌。Exos 可以由多种来源细胞释放,也可以由体液分离得到,如唾液、尿液、母乳、羊水、腹水等。Exos 在维持机体正常生理活动的同时,还参与多种病理生理过程。Exos 可以促进肿瘤细胞上皮-间质转化,形成转移前微环境,利于肿瘤的生长。Kogure 等^[42]发现,Exos 在肿瘤发生和发展、肿瘤转移的过程中都发挥着重要的调控作用。因此,Exos 已经成为医学领域治疗肿瘤的研究热点话题之一。

2.2 间充质干细胞外泌体的生物学特性

MSC 是一种具有巨大细胞治疗潜力的多能成体干细胞,在疾病治疗过程中, MSC 主要通过旁分泌途径产生 Exos 来介导细胞间通讯。Exos 作为体积最小的 EV,其稳定性最好,近年来被作为替代干细胞治疗的新研究热点。间充质干细胞外泌体(MSC-Exos)被描述为来源于 MSC 的且含有 Exos 的产物^[43],是目前使用最广泛的干细胞源性外泌体之一,其携带着母体细胞 MSC 的多种生物活性成分及生物学信息,可以替代细胞疗法实现无细胞疗法^[44]。Yaghoubi 等^[45]研究表明, MSC-Exos 在多种疾病的动物模型中展现出显著疗效,从而引起广泛的关注。

Hassanzadeh 等^[46]研究表明, MSC-Exos 在肿瘤治疗中具有显著作用,它能够作为治疗载体,与靶向药物结合后广泛参与细胞间通讯,将蛋白质、RNA 及其他生物活性分子递送到靶细胞中,发挥调节免疫、促血管生成的作用对特定疾病途径进行调控,这种 Exos 的介导反应可以抑制或促进肿瘤的发生、发展,显示出良好的治疗效果。与 MSC 相比, MSC-Exos 具有低免疫原性、低毒性、低致瘤性、长半衰期的独特优势,并且便于储存和管理,能够有效地降低肿瘤细胞不良分化的风险,并减少肿瘤治疗中不利的副作用。MSC-Exos 的功能可能与 MSC 的来源有关^[47-48]。不同来源 MSC-Exos 在生物学上都具有相同的特性,但同时也存在功能上的细微差异。例如,从脂肪细胞中提取的 MSC-Exos 比从骨髓中提取的 MSC-Exos 在促血管生成能力上更具有优势^[49]。

因此,探究 MSC-Exos 的来源、靶向性,以及其在肿瘤细胞中的作用和机制,将有助于扩大无细胞治疗方法的应用前景,提升临床肿瘤治疗水平^[36]。除此之外,目前 MSC-Exos 的研究大多数还停留在动物实验和人体体外实验中,在广泛投入临床使用之前,还需确定其给药剂量、给药途径、最佳的治疗时间窗,并且制定标准化生产、分离鉴定、效力检测等一系列相对统一的标准。传统的细胞治疗以干细胞

移植为主,这种方式可能存在机体免疫排斥现象及致瘤的可能,且由于体积较大,容易损伤周边组织,在使用上存在很大的局限性。与使用 MSC 的传统细胞治疗方法相比,MSC-Exos 在临床肿瘤治疗方面的应用范围更广、风险更小,既保留了 MSC 的生物学特性,又具备更好的安全性和便利性,因此,MSC-Exos 正成为一种有前途的纳米级无细胞治疗工具。

2.3 间充质干细胞外泌体的功能

MSC-Exos 除了表现 MSC 和 Exos 共同的生物学特性以外,与 MSC 相比具备更为稳定的膜结构,能够更大程度保证其内容物的完整性,并且 MSC-Exos 体积更小,更容易到达作用靶点,具有更低的免疫原性和更高的安全性。与 Exos 相比,MSC-Exos 富含蛋白质、核酸、脂类,以及具有生物活性的 RNA,包括 mRNA,miRNA,tRNA 等,能维持 MSC-Exos 对靶细胞进行基因转录与翻译的功能^[50]。这对于调节骨重建、神经炎症细胞及炎症因子等都拥有着直接或者间接的作用。机体中的骨稳态,主要靠成骨细胞和破骨细胞调节,若成骨细胞的相对活性高,可能会引发骨硬化,若成骨细胞的相对活性低,可能会引起骨质疏松,对机体均产生不利影响。因此,对成骨细胞和破骨细胞进行活性调节对于骨的再生修复具有重要意义。Yang 等^[51]发现,来源于 MSC-Exos 的 lncRNA MALAT1 能够与成骨细胞中的 miRNA-34c 结合,提高转录因子 RUNX2 的活性水平,从而提高成骨细胞活性,增强体内成骨作用。Zuo 等^[52]发现,MSC-Exos 能够参与成骨细胞、破骨细胞之间的信息运输和传递,且能够防止破骨细胞因过度活化而对骨组织产生破坏,对维持骨稳态有着积极作用。除此之外,在动物试验中,MSC-Exos 还能够提高实验动物体内 VEGF/VEGFR 的表达水平,促进局部新生血管的形成^[53],同时还能够对骨折部位起到促进骨修复、加速骨愈合的作用^[54]。因此,MSC-Exos 疗法具有更广阔的应用前景。

MSC-Exos 还可以对神经炎症细胞及炎症因子产生作用,主要体现在对中性粒细胞、小胶质细胞、星形胶质细胞等神经炎症细胞及炎症因子的抑制作用。MSC-Exos 可以抑制中性粒细胞释放 IL-17 及补体激活,影响 IL-18,MMP-9,TNF- α 等^[55]物质的表达,从而对机体内中性粒细胞的浸润和吞噬能力进行调控。Zhao 等^[56]研究表明,它还可以作用于 NF- κ B 和 CysLT2R-ERK1/2 信号通路,减少小胶质细胞向 M1 型转化的可能,并促进其向 M2 型转化,最终抑制炎症的反应。对于星形胶质细胞,MSC-Exos 在经过 IL-1 的诱导后,可以抑制 Nrf-2 信号通路的活性^[57],减少脂多糖诱导的神经炎症反应。除作用于神经炎症细胞外,MSC-Exos 对巨噬细胞、树突状细胞、淋巴细胞也具有潜在调控作用,具体作用机制有待阐明。

3 间充质干细胞外泌体在骨肉瘤治疗中的应用

3.1 MSC-Exos 参与骨肉瘤靶向治疗

3.1.1 MSC-Exos 参与 OS 的肿瘤生长、转移与侵袭 MSC-Exos 可携带 MSC 的遗传信息,参与多种肿瘤的进程,并在 OS 细胞的生长、转移及侵袭过程中发挥重要作用。Yoshida 等^[58]发现,分离提取骨髓来源的 MSC-Exos 内容物 miR-25-3p,可以调控 OS 细胞增殖、迁移及侵袭能力,其主要表现在骨髓来源的 MSC-Exos 可以将 miR-25-3p 靶向转移至 OS 细胞,过表达后抑制其靶基因的表达,从而诱导 OS 细胞形成和转移。Shimbo 等^[59]发现,携带 miR-143 的 MSC-Exos 作用于 OS 的 143B 细胞后,机体内 OS 肺转移趋势明显受到抑制,表明 miR-143 可以很大程度上减少 OS 细胞的迁移。Qin 等^[60]探索内含 miR-208a 的 MSC-Exos 对 OS 细胞的影响,结果显示,OS 细胞能够通过 miR-208a 的介导与 MSC-Exos 进行细胞通讯,形成异位表达的 miR-208a 能显著提高 OS 细胞的存活和增殖能力。Zhang 等^[61]发现,miR-206 在 OS 细胞中呈低表达,过表达的 miR-206 能够显著抑制肿瘤细胞的增殖,并靶向作用于 TRA2B 促进细胞凋亡。Gong 等^[62]发现,OS 细胞通过 MSC-Exos 摄取 miR-675 后,能够显著下调细胞中 CALN1 的表达水平,从而促进细胞增殖与转移。Ruan 等^[63]发现,内容物 miR-22 可被 MG63 摄取,抑制 MG63 的增殖,从而抑制 OS 发展。Yun 等^[64]发现,miR-488-3p 通过靶向 NRSN2 来抑制肿瘤细胞的恶性行为并促进自噬,为 miR-488-3p 在 OS 发生中的作用提供新的见解。Xu 等^[65]发现,miR-150 能够通过靶向 IGF2BP1 促进 OS 细胞凋亡,抑制 OS 增殖与迁移。Zhao 等^[66]发现,长链非编码 RNA PVT1 也对 OS 也有影响,包裹 PVT1 的 MSC-Exo 与 OS 细胞接触后,能够抑制细胞的泛素化进程并促

进 ERG 的表达,从而促进肿瘤生长和转移。Li 等^[67]还发现,lncRNA MALAT1 能够通过 MALAT1/miR-143/NRSN2 轴调节下游 Wnt/ β -Catenin 信号通路,从而促进 OS 细胞的增殖、迁移和侵袭。除此之外,内含蛋白 uPA^[68]、LCP1^[69]的 MSC-Exos 也对调控 OS 细胞增殖、迁移等发挥关键作用。uPA 能够通过激活 OS 细胞中的 uPA/uPAR 轴,使肿瘤恶性转化为转移表型。而 LCP1 则能够通过 JAK2/STAT3 途径促进 OS 转移和增殖。因此,MSC-Exos 参与 OS 的肿瘤生长、转移与侵袭。

3.1.2 MSC-Exos 参与 OS 的肿瘤耐药性 随着 OS 耐药性机制的研究逐渐深入,MSC-Exos 不仅可以通过诱导 TME 细胞表型改变促进 OS 细胞的增殖、迁移,还可以通过其内含物诱导 OS 细胞产生化疗耐药性。因此,研究 MSC-Exos 内含物与 OS 信号通路和耐药性机制的关系都对探究其耐药性具有重要意义。临床上应用于 OS 治疗的药物主要有阿霉素(Dox)和 CDDP,Dox 和 CDDP 的耐药非常普遍^[70]。耐药性受 MSC-Exos 内含物调控的影响,耐药性的发展严重限制了药物在 OS 临床治疗中的应用和有效性,并且还可能引起预后不良和复发。

MSC-Exos 的内容物包含多种物质,其中很大一部分可对 OS 细胞耐药性产生直接或间接的影响。Zhu 等^[71]的研究显示,Exos 内含物 circPVT1 能在 OS 细胞系中表达相较于正常成骨细胞系 hFOB1.19 显著上调,并且在多药耐药的 OS 细胞系中 circPVT1 的表达水平更高。进一步研究发现,circPVT1 能通过上调耐药性相关基因 ABCB1 的表达,诱导 OS 细胞对顺铂和阿霉素的耐药性发生。敲除 circPVT1 的表达则可降低 ABCB1 的表达水平,从而部分恢复 OS 细胞对这两种化疗药物的敏感性。临床数据表明,高表达 circPVT1 的患者在生存率和预后方面均显著低于低表达患者,这表明 circPVT1 在 OS 耐药性发展及患者预后中发挥重要作用。Pu 等^[72]发现,内容物 miR-34a-5p 可以通过抑制 AGTR1 基因的表达,从而促进 OS 的多药耐药性。而内容物 miR-199a-3p 却能靶向调节 AK4 的表达,下调 AK4 的水平,从而降低 OS 的多药耐药性^[73]。此外,Wang 等^[74]发现,miR-155 能够靶向作用于 PTEN 的表达,通过激活 PI3K/Akt/mTOR 信号通路,降低 OS 对 DOX 的敏感性。Li 等^[75]还发现,miR-214 均可通过靶向作用位点 PHLDA2 抑制 PI3K/Akt 信号通路,最终增强 OS 对于放射的敏感性。

目前,尽管 OS 患者的临床化疗药物(包括顺铂、阿霉素、甲氨蝶呤及多比柔星等)能够较大幅度地改善病况,提高预后总生存率,然而,OS 化疗药物耐药性的高患病率却是一个不可忽略的因素。因此,使用 MSC-Exos 运载的内容物对 OS 细胞进行靶向调控,从而降低其耐药性,是目前临床治疗 OS 的关键问题。

MSC-Exos 不同内容物与骨肉瘤靶向治疗功能的关系,如表 2 所示。

表 2 MSC-Exos 不同内容物与骨肉瘤靶向治疗功能的关系

Tab.2 Relationship between different contents of MSC-Exos and targeted therapeutic function of osteosarcoma			
外泌体内容物	靶点/信号通路	功能	引用文献
miR-25-3p	DKK3	诱导细胞形成和转移	文献[58]
miR-143	143B	减少细胞迁移	文献[59]
miR-208a	MG62,Saos-2	促进细胞侵袭和迁移	文献[60]
miR-206	143B	抑制细胞增殖、诱导凋亡	文献[61]
miR-675	CALN1	促进细胞增殖与转移	文献[62]
miR-22	MG63	抑制肿瘤增殖	文献[63]
miR-488-3p	NRSN2	抑制肿瘤增殖	文献[64]
miR-150	IGF2BP1	抑制 OS 增殖和迁移	文献[65]
lncRNA PVT1	Saos-2, MG63, MNNG/HOS	促进肿瘤增殖和迁移	文献[66]
lncRNA MALAT1	NRSN2	促进细胞增殖、迁移和侵袭	文献[67]
uPA	KHOS	促进细胞转移和侵袭	文献[68]
LCP1	143B, HOS	促进肿瘤增殖和转移	文献[69]
circPVT1	ABCB1	增加多药耐药性	文献[71]
miR-34a-5p	AGTR1	促进耐药性	文献[72]
miR-199a-3p	AK4	降低耐药性	文献[73]
miR-155	PTEN	降低 DOX 敏感性	文献[74]
miR-214	PHLDA2	增强放疗敏感性	文献[75]

3.2 药物递送载体 MSC-Exos

由于传统细胞治疗中 MSC 载药能力的限制, MSC 分泌的纳米级细胞外囊泡,即外泌体,已成为研究重点。MSC-Exos 能够携带不同的信号分子内容物,且本身体积小、便于分离提取,可以很好地解决药物装载的问题,是一种可以实现靶向递送的天然药物载体,已经成为临床治疗肿瘤的理想载体。Abello 等^[76]发现,标记的 hUC-MSCs 外泌体在进入机体后,24 h 内在肿瘤部位不断蓄积,具有定位肿瘤和药物靶向递送的潜在用途。证实被标记过的 Exos 具有肿瘤靶向特性。在药物递送的过程中, MSC-Exos 能够通过膜蛋白与受体细胞相结合,克服 P-糖蛋白等多药耐药相关蛋白介导的耐药性^[77],将抗癌药物选择性递送到 OS 细胞处。Wei 等^[78]发现, MSC-Exos 含有高表达 SDF-1 蛋白,能够与 OS 细胞中的 CXCR4 蛋白发生相互作用,通过 SDF1-CXCR4 轴的激活,从而接近靶向细胞发挥治疗作用。由此表明, MSC-Exos 可作为递送药物的载体靶向到达肿瘤细胞发挥作用,其在 OS 治疗中的作用有待进一步研究。

阿霉素是目前广泛用于癌症治疗的药物之一,但其对心肌具有损害性,因此,增加药物靶向性和降低对心肌的损伤对临床治疗癌症具有重要意义^[79]。Wei 等^[80]发现,将骨髓来源的 MSC-Exos 作为纳米药物载体,与化疗药物 Dox 结合后靶向运送至 OS 细胞内,通过 SDF1-CXCR4 轴对 OS 细胞趋化性进行调控,实验结果表明,在肿瘤晚期的酸性条件下,承载 Dox 的 MSC-Exos 药物载体能够显著降低机体毒性和增强对肿瘤细胞的毒性,这提示 MSC-Exos 可以作为药物递送载体应用于 OS 治疗。此后, Wang 等^[81]也发现,利用骨髓 MSC 分泌的外泌体制备的 EM-Dox 在 OS 中表现出更强的肿瘤抑制活性和更少的副作用,这为开发 OS 新型纳米级药物载体提供了机会。

Kanchanapally 等^[82]将厚朴酚(Honokiol)装载到 MSC-Exos 后进行药效检测,结果发现,经过 MSCs-Exos-Honokiol 处理后的癌细胞中药物的蓄积浓度较 Honokiol 组明显更高,这提示 MSCs-Exos-Honokiol 能够对药物进行更有效的传递。在相同培养条件下, MSCs-Exos-Honokiol 对癌细胞的杀伤力是 Honokiol 的 4~5 倍,且在 MSCs-Exos-Honokiol 作用的肿瘤细胞中,检测显示特大型 B 淋巴细胞瘤、抗凋亡蛋白 B 细胞淋巴瘤 2 蛋白显著减少,而细胞凋亡蛋白 Bcl-2 相关 X 蛋白和 p21 表达显著增加。这提示 MSCs-Exos-Honokiol 可以通过促进细胞凋亡、改变细胞周期进程抑制 OS 细胞的生长。

人子宫内膜干细胞(hEnSCs)属于 MSC 的一个亚类,其分泌形成的 hEnSCs-Exos 也属于 MSC-Exos 的一种。Nooshabadi 等^[83]将阿托伐他汀(Ato)装载到 hEnSCs-Exos 上后,形成 hEnSCs-Exos-Ato 应用于评估肿瘤治疗,结果显示 hEnSCs-Exos-Ato 具有理想的药物释放能力,在 48 h 内能够释放大约 50% 的药物。此外, Abas 等^[84]还提出,人脐带 MSC 来源的 Exos 也能够装载 PTX 应用于癌症治疗,这都为 OS 治疗药物递送载体的选择提供了重要参考。

总而言之, MSC-Exos 作为药物递送载体具有低免疫原性、无细胞毒性、长期安全的特点,对于多种恶性肿瘤(包括 OS)都表现出了巨大优势, MSC-Exos 载药系统能够在提高肿瘤摄取的同时,极大地减少对机体的不良反应,包括药物本身毒副反应和对器官的生物毒性。 MSC-Exos 载药系统具有更好的药物释放潜力,利用 MSC-Exos 载药系统传递药物治疗 OS 还具有很多的优势和发展空间,值得更深入的研究。

4 结论

近年来, MSC-Exos 作为一种新兴的生物治疗剂,在 OS 治疗领域具有广阔的应用前景,但由于 OS 的高度异质性和复杂的肿瘤微环境,患者的生存率提升仍然有限。因此, OS 的治疗和预后改善一直是医学研究中的难题。目前, MSC-Exos 可通过多种途径在 OS 发生、发展及其治疗中发挥效应,还可以作为有效的药物递送载体,将化疗药物如 Dox 等直接递送到肿瘤细胞中,从而提高治疗效率并减少对正常细胞的毒性影响,为 OS 的治疗提供了多角度的策略。尽管 MSC-Exos 在实验室研究和动物模型中表现出显著的抗肿瘤效果,但它在 OS 治疗中的应用仍面临着许多挑战。 MSC-Exos 的生产、提纯、表征及体内外功效评估等技术问题需进一步解决。此外, MSC-Exos 的临床转化研究尚处于初步阶段,为了加快 MSC-Exos 的临床转化,亟需开展更多的临床试验以验证其安全性和有效性。

总而言之, MSC-Exos 作为一种具有高度生物相容性的新型生物治疗剂,在 OS 治疗中展现出了独

特的优势,其独特的生物学特性和多功能性为 OS 的治疗提供了新的思路。随着对 MSC-Exos 生物学特性和治疗机制的深入理解,以及生产和应用技术的不断完善, MSC-Exos 有望成为 OS 患者治疗的重要工具,为 OS 及其他恶性肿瘤的治疗带来新的希望。

参考文献:

- [1] KLEIN M J, SIEGAL G P. Osteosarcoma: Anatomic and histologic variants[J]. American Journal of Clinical Pathology, 2006, 125(4): 555-581. DOI: 10.1309/UC6K-QHLD-9LV2-KENN.
- [2] SMELAND S, BIELACK S S, WHELAN J, *et al.* Survival and prognosis with osteosarcoma: Outcomes in more than 2000 patients in the EURAMOS-1 (European and American Osteosarcoma Study) cohort[J]. European Journal of Cancer, 2019, 109: 36-50. DOI: 10.1016/j.ejca.2018.11.027.
- [3] MILLER B J, CRAM P, LYNCH C F, *et al.* Risk factors for metastatic disease at presentation with osteosarcoma: An analysis of the SEER database[J]. The Journal of Bone and Joint Surgery. American Volume, 2013, 95(13): e89. DOI: 10.2106/JBJS.L.01189.
- [4] NIE Zhigang, PENG Hao. Osteosarcoma in patients below 25 years of age: An observational study of incidence, metastasis, treatment and outcomes[J]. Oncology Letters, 2018, 16(5): 6502-6514. DOI: 10.3892/ol.2018.9453.
- [5] ALFRANCA A, MARTINEZ-CRUZADO L, TORNIN J, *et al.* Bone microenvironment signals in osteosarcoma development[J]. Cellular and Molecular Life Sciences, 2015, 72(16): 3097-3113. DOI: 10.1007/s00018-015-1918-y.
- [6] MATHIEU M, MARTIN-JAULAR L, LAVIEU G, *et al.* Specificities of secretion and uptake of exosomes and other extracellular vesicles for cell-to-cell communication[J]. Nature Cell Biology, 2019, 21(1): 9-17. DOI: 10.1038/s41556-018-0250-9.
- [7] ZHANG Bin, ZHANG Yan, LI Rongzhen, *et al.* The efficacy and safety comparison of first-line chemotherapeutic agents (high-dose methotrexate, doxorubicin, cisplatin, and ifosfamide) for osteosarcoma: A network meta-analysis[J]. Journal of Orthopaedic Surgery and Research, 2020, 15(1): 51. DOI: 10.1186/s13018-020-1576-0.
- [8] WAGLEY Y, CHESI A, ACEVEDO P K, *et al.* Canonical notch signaling is required for bone morphogenetic protein-mediated human osteoblast differentiation[J]. Stem Cells, 2020, 38(10): 1332-1347. DOI: 10.1002/stem.3245.
- [9] FENG Weilou, WANG Zhi, FENG Dongxu, *et al.* The effects of common variants in MDM2 and GNRH2 genes on the risk and survival of osteosarcoma in Han populations from Northwest China[J]. Scientific Reports, 2020, 10(1): 15939. DOI: 10.1038/s41598-020-72995-4.
- [10] MA J, KLEMM J, GERARDO-RAMIREZ M, *et al.* Cluster of differentiation 44 promotes osteosarcoma progression in mice lacking the tumor suppressor Merlin[J]. International Journal of Cancer, 2020, 147(9): 2564-2577. DOI: 10.1002/ijc.33144.
- [11] TOUS-ROMERO F, PALMA-MILLA C, ORTIZ-DE FRUTOS J. Skin lesions associated with a new mutation in the RECQL4 gene in a patient with osteosarcoma[J]. Actas Dermo-Sifiliográficas, 2022, 113(10): 983-984. DOI: 10.1016/j.ad.2021.07.013.
- [12] ZHANG Ying, LIU Zhaoyong, YANG Xia, *et al.* H3K27 acetylation activated-COL6A1 promotes osteosarcoma lung metastasis by repressing STAT1 and activating pulmonary cancer-associated fibroblasts[J]. Theranostics, 2021, 11(3): 1473-1492. DOI: 10.7150/thno.51245.
- [13] ZHU Shutao, LIU Yang, WANG Xiao, *et al.* lncRNA SNHG10 promotes the proliferation and invasion of osteosarcoma via Wnt/ β -catenin signaling[J]. Molecular Therapy-Nucleic Acids, 2020, 22: 957-970. DOI: 10.1016/j.omtn.2020.10.010.
- [14] LIU Jianmin, CHEN Ming, MA Longyang, *et al.* LncRNA GAS5 suppresses the proliferation and invasion of osteosarcoma cells via the miR-23a-3p/PTEN/PI3K/AKT pathway[J]. Cell Transplant, 2020, 29: 963689720953093. DOI: 10.1177/0963689720953093.
- [15] WANG Shenglin, WANG Yunqing, HUANG Zhen, *et al.* Stat3 sensitizes osteosarcoma cells to epidermal growth factor receptor inhibitors via blocking the interleukin 6-induced STAT3 pathway[J]. Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai), 2021, 53(12): 1670-1680. DOI: 10.1093/abbs/gmab146.
- [16] LI Rui, SHI Yanlong, ZHAO Shiwei, *et al.* NF- κ B signaling and integrin- β 1 inhibition attenuates osteosarcoma metastasis via increased cell apoptosis[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2019, 123: 1035-1043. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2018.11.003.

- [17] NING Lei, WAN Shuanglin, JIE Zhiwei, *et al.* Lycorine induces apoptosis and G1 phase arrest through ROS/p38 MAPK signaling pathway in human osteosarcoma cells *in vitro* and *in vivo* [J]. *Spine*, 2020, 45(3): E126-E139. DOI:10.1097/brs.0000000000003217.
- [18] YUAN Putao, FENG Zhenhua, HUANG Hai, *et al.* USP1 inhibition suppresses the progression of osteosarcoma *via* destabilizing TAZ [J]. *International Journal of Biological Sciences*, 2022, 18(8): 3122-3136. DOI:10.7150/ijbs.65428.
- [19] CHEN Fangyu, CHEN Liuwei, QIN Qin, *et al.* Salt-inducible kinase 2: An oncogenic signal transmitter and potential target for cancer therapy [J]. *Frontiers in Oncology*, 2019, 9: 18. DOI:10.3389/fonc.2019.00018.
- [20] ZENG Qiuming, LI Zongyuan, ZHAO Xi, *et al.* Ubiquitin specific protease 7 promotes osteosarcoma cell metastasis by inducing epithelia mesenchymal transition [J]. *Oncology Reports*, 2018, 41(1): 543-551. DOI:10.3892/or.2018.6835.
- [21] BHANUMATHY K K, BALAGOPAL A, VIZEACOUMAR F S, *et al.* Protein tyrosine kinases: Their roles and their targeting in leukemia [J]. *Cancers*, 2021, 13(2): 184. DOI:10.3390/cancers13020184.
- [22] HUANG Zhen, WANG Shenglin, CHEN Hui, *et al.* Clinicopathological and prognostic values of ErbB receptor family amplification in primary osteosarcoma [J]. *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation*, 2019, 79(8): 601-612. DOI:10.1080/00365513.2019.1683764.
- [23] JULLIEN N, DIEUDONNE F X, HABEL N, *et al.* ErbB3 silencing reduces osteosarcoma cell proliferation and tumor growth *in vivo* [J]. *Gene*, 2013, 521(1): 55-61. DOI:10.1016/j.gene.2013.03.031.
- [24] SONG Lei, DUAN Ping, GAN Yibo, *et al.* Silencing LPAAT β inhibits tumor growth of cisplatin-resistant human osteosarcoma *in vivo* and *in vitro* [J]. *International Journal of Oncology*, 2017, 50(2): 535-544. DOI:10.3892/ijo.2016.3820.
- [25] GAN Yu, WANG Yong, TAN Zhengyu, *et al.* TDRG1 regulates chemosensitivity of seminoma TCam-2 cells to cisplatin *via* PI3K/Akt/mTOR signaling pathway and mitochondria-mediated apoptotic pathway [J]. *Cancer Biology & Therapy*, 2016, 17(7): 741-750. DOI:10.1080/15384047.2016.1178425.
- [26] CAO Junjie, WEI Yalin, LIAN Jing, *et al.* Notch signaling pathway promotes osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells by enhancing BMP9/Smad signaling [J]. *International Journal of Molecular Medicine*, 2017, 40(2): 378-788. DOI:10.3892/ijmm.2017.3037.
- [27] MARTINO J S D, AKHTER T, BRAVO-CORDERO J J. Remodeling the ECM: Implications for metastasis and tumor dormancy [J]. *Cancers (Basel)*, 2021, 13(19): 4916. DOI:10.3390/cancers13194916.
- [28] BERGAMASCHI A, TAGLIABUE E, SORLIE T, *et al.* Extracellular matrix signature identifies breast cancer subgroups with different clinical outcome [J]. *The Journal of Pathology*, 2008, 214(3): 357-367. DOI:10.1002/path.2278.
- [29] ZHANG Yongtao, WANG Fang, WANG Lina, *et al.* MiR-363 suppresses cell migration, invasion, and epithelial-mesenchymal transition of osteosarcoma by binding to NOB1 [J]. *World Journal of Surgical Oncology*, 2020, 18(1): 83. DOI:10.1186/s12957-020-01859-y.
- [30] SUMAIYA K, LANGFORD D, NATARAJASEENIVASAN K, *et al.* Macrophage migration inhibitory factor (MIF): A multifaceted cytokine regulated by genetic and physiological strategies [J]. *Pharmacology & Therapeutics*, 2022, 233: 108024. DOI:10.1016/j.pharmthera.2021.108024.
- [31] CENTOMO M L, VITIELLO M, POLISENO L, *et al.* An immunocompetent environment unravels the proto-oncogenic role of miR-22 [J]. *Cancers (Basel)*, 2022, 14(24): 6255. DOI:10.3390/cancers14246255.
- [32] LIAN Hongyu, ZHOU Yang, SUN Zhang, *et al.* MicroRNA34a is associated with chemotherapy resistance, metastasis, recurrence, survival, and prognosis in patient with osteosarcoma [J]. *Medicine*, 2022, 101(38): e30722. DOI:10.1097/md.00000000000030722.
- [33] FANG Xiaoguang, HUANG Zhi, ZHAI Kui, *et al.* Inhibiting DNA-PK induces glioma stem cell differentiation and sensitizes glioblastoma to radiation in mice [J]. *Science Translational Medicine*, 2021, 13(600): eabc7275. DOI:10.1126/scitranslmed.abc7275.
- [34] GU Qingguo, LUO Yibin, CHEN Cheng, *et al.* GREM1 overexpression inhibits proliferation, migration and angiogenesis of osteosarcoma [J]. *Experimental Cell Research*, 2019, 384(1): 111619. DOI:10.1016/j.yexcr.2019.111619.

- [35] SUN Yao,LIU Guoliang,ZHANG Kai,*et al.* Stem cell-derived exosomes: Emerging therapeutic opportunities for wound healing[J]. *Stem Cell Research & Therapy*,2023,14(1):107. DOI:10.1186/s13287-023-03345-0.
- [36] ZHOU Chuchao,ZHANG Boyu,YANG Yanqing,*et al.* Mesenchymal stem cells-derived exosomes for drug delivery [J]. *Stem Cell Research & Therapy*,2021,12(1):561. DOI:10.1186/s13287-021-02629-7.
- [37] ABDELMONEIM M,EL-NAENAEY E Y,ABD-ALLAH S H,*et al.* Anti-inflammatory and immunomodulatory role of bone marrow-derived MSCs in mice with acute lung injury[J]. *Journal of Interferon & Cytokine Research*, 2021,41(1):29-36. DOI:10.1089/jir.2020.0073.
- [38] QIAO Ling,XU Zhili,ZHAO Tiejun,*et al.* Dkk-1 secreted by mesenchymal stem cells inhibits growth of breast cancer cells *via* depression of Wnt signalling[J]. *Cancer Letters*,2008,269(1):67-77. DOI:10.1016/j.canlet.2008.04.032.
- [39] KARNOUB A E,DASH A B,VO A P,*et al.* Mesenchymal stem cells within tumour stroma promote breast cancer metastasis[J]. *Nature*,2007,449(7162):557-563. DOI:10.1038/nature06188.
- [40] JOHNSTONE R M,ADAM M,HAMMOND J R,*et al.* Vesicle formation during reticulocyte maturation. Association of plasma membrane activities with released vesicles (exosomes)[J]. *Journal of Biological Chemistry*,1987,262(19):9412-9420. DOI:10.1016/s0021-9258(18)48095-7.
- [41] ZHANG Yi,BI Jiayao,HUANG Jiayi,*et al.* Exosome: A review of its classification, isolation techniques, storage, diagnostic and targeted therapy applications[J]. *International Journal of Nanomedicine*,2020,15(69):17-34. DOI:10.2147/IJN.S264498.
- [42] KOGURE A,YOSHIOKA Y,OCHIYA T. Extracellular vesicles in cancer metastasis: Potential as therapeutic targets and materials[J]. *International Journal of Molecular Sciences*,2020,21(12):4463. DOI:10.3390/ijms21124463.
- [43] GIMONA M,BRIZZI M F,CHOO A B H,*et al.* Critical considerations for the development of potency tests for therapeutic applications of mesenchymal stromal cell-derived small extracellular vesicles[J]. *Cytotherapy*,2021,23(5):373-380. DOI:10.1016/j.jcyt.2021.01.001.
- [44] BAGNO L,HATZISTERGOS K E,BALKAN W,*et al.* Mesenchymal stem cell-based therapy for cardiovascular disease: Progress and challenges[J]. *Molecular Therapy*,2018,26(7):1610-1623. DOI:10.1016/j.ymthe.2018.05.009.
- [45] YAGHOUBI Y,MOVASSAGHPUR A,ZAMANI M,*et al.* Human umbilical cord mesenchymal stem cells derived-exosomes in diseases treatment[J]. *Life Sciences*,2019,233:116733. DOI:10.1016/j.lfs.2019.116733.
- [46] HASSANZADEH A,RAHMAN H S,MARKOV A,*et al.* Mesenchymal stem/stromal cell-derived exosomes in regenerative medicine and cancer: overview of development, challenges, and opportunities[J]. *Stem Cell Research & Therapy*,2021,12(1):297. DOI:10.1186/s13287-021-02378-7.
- [47] BÖRGER V,BREMER M,FERRER-TUR R,*et al.* Mesenchymal stem/stromal cell-derived extracellular vesicles and their potential as novel immunomodulatory therapeutic agents[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2017,18(7):1450. DOI:10.3390/ijms18071450.
- [48] WANG Jingjing,SUN Zhen,GOU Wenyu,*et al.* Alpha-1 antitrypsin enhances islet engraftment by suppression of instant blood-mediated inflammatory reaction[J]. *Diabetes*,2017,66(4):970-980. DOI:10.2337/db16-1036.
- [49] KANG I S,SUH J,LEE M N,*et al.* Characterization of human cardiac mesenchymal stromal cells and their extracellular vesicles comparing with human bone marrow derived mesenchymal stem cells[J]. *BMB Reports*,2020,53(2):118-123. DOI:10.5483/BMBRep.2020.53.2.235.
- [50] VAKHSHITEH F,ATYABI F,OSTAD S N. Mesenchymal stem cell exosomes: A two-edged sword in cancer therapy[J]. *International Journal of Nanomedicine*,2019,14:2847-2859. DOI:10.2147/IJN.S200036.
- [51] YANG Xucheng,YANG Junxiao,LEI Pengfei,*et al.* LncRNA MALAT1 shuttled by bone marrow-derived mesenchymal stem cells-secreted exosomes alleviates osteoporosis through mediating microRNA-34c/SATB2 axis[J]. *Aging*,2019,11(20):8777-8791. DOI:10.18632/aging.102264.
- [52] ZUO Rui,LIU Minghan,WANG Yanqiu,*et al.* BM-MSC-derived exosomes alleviate radiation-induced bone loss by restoring the function of recipient BM-MSCs and activating Wnt/beta-catenin signaling[J]. *Stem Cell Research & Therapy*,2019,10(1):30. DOI:10.1186/s13287-018-1121-9.
- [53] ZHANG Lu,JIAO Guangjun,REN Shanwu,*et al.* Exosomes from bone marrow mesenchymal stem cells enhance

- fracture healing through the promotion of osteogenesis and angiogenesis in a rat model of nonunion[J]. *Stem Cell Research & Therapy*, 2020, 11(1): 38. DOI: 10.1186/s13287-020-1562-9.
- [54] ZHA Yao, LI Yawu, LIN Tianyi, *et al.* Progenitor cell-derived exosomes endowed with VEGF plasmids enhance osteogenic induction and vascular remodeling in large segmental bone defects[J]. *Theranostics*, 2021, 11(1): 397-409. DOI: 10.7150/thno.50741.
- [55] ZHANG Bin, LAI R C, SIM W K, *et al.* Topical application of mesenchymal stem cell exosomes alleviates the imiquimod induced psoriasis-like inflammation[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2021, 22(2): 720. DOI: 10.3390/ijms22020720.
- [56] ZHAO Yangmin, GAN Yunxiao, XU Gewei, *et al.* MSCs-derived exosomes attenuate acute brain injury and inhibit microglial inflammation by reversing CysLT2R-ERK1/2 mediated microglia M1 polarization[J]. *Neurochemical Research*, 2020, 45(5): 1180-1190. DOI: 10.1007/s11064-020-02998-0.
- [57] LIU Kai, CAI Guoliang, ZHUANG Zhe, *et al.* Interleukin-1 β -treated mesenchymal stem cells inhibit inflammation in hippocampal astrocytes through exosome-activated nrf-2 signaling[J]. *International Journal of Nanomedicine*, 2021, 16: 1423-1434. DOI: 10.2147/IJN.S289914.
- [58] YOSHIDA A, FUJIWARA T, UOTANI K, *et al.* Clinical and functional significance of intracellular and extracellular microRNA-25-3p in osteosarcoma[J]. *Acta Med Okayama*, 2018, 72(2): 165-174. DOI: 10.18926/AMO/55857.
- [59] SHIMBO K, MIYAKI S, ISHITOBI H, *et al.* Exosome-formed synthetic microRNA-143 is transferred to osteosarcoma cells and inhibits their migration[J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2014, 445(2): 381-387. DOI: 10.1016/j.bbrc.2014.02.007.
- [60] QIN Fa, TANG Haoyu, ZHANG Yong, *et al.* Bone marrow-derived mesenchymal stem cell-derived exosomal microRNA-208a promotes osteosarcoma cell proliferation, migration, and invasion[J]. *Journal of Cellular Physiology*, 2020, 235(5): 4734-4745. DOI: 10.1002/jcp.29351.
- [61] ZHANG Hongliang, WANG Jun, REN Tingting, *et al.* Bone marrow mesenchymal stem cell-derived exosomal miR-206 inhibits osteosarcoma progression by targeting TRA2B[J]. *Cancer Letters*, 2020, 490: 54-65. DOI: 10.1016/j.canlet.2020.07.008.
- [62] GONG Liangzhi, BAO Qiyuan, HU Chuazhen, *et al.* Exosomal miR-675 from metastatic osteosarcoma promotes cell migration and invasion by targeting CALN1[J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2018, 500(2): 170-176. DOI: 10.1016/j.bbrc.2018.04.016.
- [63] RUAN Qing, WANG Cuijie, WU Yuntao, *et al.* Exosome microRNA-22 inhibiting proliferation, migration and invasion through regulating Twist1/CADM1 axis in osteosarcoma[J]. *Scientific Reports*, 2024, 14(1): 761. DOI: 10.1038/s41598-023-50612-4.
- [64] YUN Chao, ZHANG Jincai, MORIGELE. MiR-488-3p represses malignant behaviors and facilitates autophagy of osteosarcoma cells by targeting neurensin-2[J]. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, 2024, 25(10): 1264-1275. DOI: 10.2174/1389201024666230626102837.
- [65] XU Zhengfeng, ZHOU Xiaoxiao, WU Jiajun, *et al.* Mesenchymal stem cell-derived exosomes carrying microRNA-150 suppresses the proliferation and migration of osteosarcoma cells *via* targeting IGF2BP1[J]. *Translational Cancer Research*, 2020, 9(9): 5323-5335. DOI: 10.21037/tcr-20-83.
- [66] ZHAO Wei, QIN Pan, ZHANG Da, *et al.* Long non-coding RNA PVT1 encapsulated in bone marrow mesenchymal stem cell-derived exosomes promotes osteosarcoma growth and metastasis by stabilizing ERG and sponging miR-183-5p[J]. *Aging*, 2019, 11(21): 9581-9596. DOI: 10.18632/aging.102406.
- [67] LI Fujiang, CHEN Xin, SHANG Cong, *et al.* Bone marrow mesenchymal stem cells-derived extracellular vesicles promote proliferation, invasion and migration of osteosarcoma cells *via* the lncRNA MALAT1/miR-143/NRSN2/Wnt/beta-catenin axis[J]. *OncoTargets and Therapy*, 2021, 14: 737-749. DOI: 10.2147/OTT.S283459.
- [68] ENDO-MUNOZ L, CAI N, CUMMING A, *et al.* Progression of osteosarcoma from a non-metastatic to a metastatic phenotype is causally associated with activation of an autocrine and paracrine uPA axis[J]. *PLoS One*, 2015, 10(8): e0133592. DOI: 10.1371/journal.pone.0133592.
- [69] GE Xuhui, LIU Wei, ZHAO Wene, *et al.* Exosomal transfer of LCP1 promotes osteosarcoma cell tumorigenesis and metastasis by activating the JAK2/STAT3 signaling pathway[J]. *Molecular Therapy-Nucleic Acids*, 2020, 21: 900-915. DOI: 10.1016/j.omtn.2020.07.025.

- [70] TANG Zhaopeng, LU Yubao, CHEN Yutong, *et al.* Research progress of microRNA in chemotherapy resistance of osteosarcoma[J]. *Technology in Cancer Research & Treatment*, 2021, 20: 15330338211034262. DOI: 10.1177/15330338211034262.
- [71] ZHU Kunpeng, MA Xiaolong, ZHANG Chunlin. Overexpressed circPVT1, a potential new circular RNA biomarker, contributes to doxorubicin and cisplatin resistance of osteosarcoma cells by regulating ABCB1[J]. *International Journal of Biological Sciences*, 2018, 14(3): 321-330. DOI: 10.7150/ijbs.24360.
- [72] PU Youguang, ZHAO Fangfang, LI Yinpeng, *et al.* The miR-34a-5p promotes the multi-chemoresistance of osteosarcoma *via* repression of the AGTR1 gene[J]. *BMC Cancer*, 2017, 17(1): 45. DOI: 10.1186/s12885-016-3002-x.
- [73] WANG Lei, CHEN Yan, JIANG Ya, *et al.* MiR-199a-3p affects the multi-chemoresistance of osteosarcoma through targeting AK4[J]. *BMC Cancer*, 2018, 18(1): 631. DOI: 10.1186/s12885-018-4460-0.
- [74] WANG Lin, TANG Bing, HAN Heng, *et al.* miR-155 affects osteosarcoma MG-63 cell autophagy induced by adriamycin through regulating PTEN-PI3K/AKT/mTOR signaling pathway[J]. *Cancer Biotherapy & Radiopharmaceuticals*, 2018, 33(1): 32-38. DOI: 10.1089/cbr.2017.2306.
- [75] LI Yi, SONG Xinmao, LIU Zegang, *et al.* Upregulation of miR-214 induced radioresistance of osteosarcoma by targeting PHLDA2 *via* PI3K/Akt signaling[J]. *Frontiers in Oncology*, 2019, 9: 298. DOI: 10.3389/fonc.2019.00298.
- [76] ABELLO J, NGUYEN T D T, MARASINI R, *et al.* Biodistribution of gadolinium- and near infrared-labeled human umbilical cord mesenchymal stromal cell-derived exosomes in tumor bearing mice[J]. *Theranostics*, 2019, 9(8): 2325-2345. DOI: 10.7150/thno.30030.
- [77] CHEN Lan, WANG Li, ZHU Lingling, *et al.* Exosomes as drug carriers in anti-cancer therapy[J]. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 2022, 10: 728616. DOI: 10.3389/fcell.2022.728616.
- [78] WEI Hongxiang, CHEN Fei, CHEN Jinyuan, *et al.* Mesenchymal stem cell derived exosomes as nanodrug carrier of doxorubicin for targeted osteosarcoma therapy *via* SDF1-CXCR4 Axis[J]. *International Journal of Nanomedicine*, 2022, 17: 3483-3495. DOI: 10.2147/IJN.S372851.
- [79] BENJAMIN R S. Adjuvant and neoadjuvant chemotherapy for osteosarcoma: A historical perspective[J]. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 2020, 1257: 1-10. DOI: 10.1007/978-3-030-43032-0_1.
- [80] WEI Hongxiang, CHEN Fei, CHEN Jinyuan, *et al.* A nanodrug consisting of doxorubicin and exosome derived from mesenchymal stem cells for osteosarcoma treatment *in vitro* [J]. *International Journal of Nanomedicine*, 2019, 14: 8603-8610. DOI: 10.2147/IJN.S218988.
- [81] WANG Jinkui, LI Mujie, JIN Liming, *et al.* Exosome mimetics derived from bone marrow mesenchymal stem cells deliver doxorubicin to osteosarcoma *in vitro* and *in vivo* [J]. *Drug Delivery*, 2022, 29(1): 3291-3303. DOI: 10.1080/10717544.2022.2141921.
- [82] KANCHANAPALLY R, KHAN M A, DESHMUKH S K, *et al.* Exosomal formulation escalates cellular uptake of honokiol leading to the enhancement of its antitumor efficacy[J]. *ACS Omega*, 2020, 5(36): 23299-23307. DOI: 10.1021/acsomega.0c03136.
- [83] NOOSHABADI V T, KHANMOHAMMADI M, SHAFEI S, *et al.* Impact of atorvastatin loaded exosome as an anti-glioblastoma carrier to induce apoptosis of U87 cancer cells in 3D culture model[J]. *Biochemistry and Biophysics Reports*, 2020, 23: 100792. DOI: 10.1016/j.bbrep.2020.100792.
- [84] ABAS B I, DEMIRBOLAT G M, CEVIK O. Wharton jelly-derived mesenchymal stem cell exosomes induce apoptosis and suppress EMT signaling in cervical cancer cells as an effective drug carrier system of paclitaxel[J]. *PLoS One*, 2022, 17(9): e0274607. DOI: 10.1371/journal.pone.0274607.

(责任编辑: 钱筠 英文审校: 刘源岗)