

论著·基础研究

人根尖乳头干细胞来源外泌体的提取及鉴定

晋巧巧, 林文珍, 苑克勇, 牛晨光, 黄正蔚

上海交通大学医学院附属第九人民医院·口腔医学院牙体牙髓科, 国家口腔疾病临床医学研究中心, 上海市口腔医学重点实验室, 上海市口腔医学研究所, 上海 200011

[摘要] **目的**·从人根尖乳头干细胞 (human stem cells from the apical papilla, hSCAPs) 中提取外泌体并进行鉴定。**方法**·使用改良组织块法培养 hSCAPs 并检测干细胞表面标志物 CD105、CD45、CD44、CD31、CD34、CD29 的表达情况。体外诱导 hSCAPs 向成骨细胞和脂肪细胞分化以检测其多向分化能力。使用梯度离心方法从 hSCAPs 培养上清中分离出外泌体。通过粒径分析确定外泌体粒径大小, 透射电镜观察外泌体形态特征, Western blotting 进行外泌体特异性抗原分子 CD81、CD9、CD63 和 TSG101 的鉴定。**结果**·在 hSCAPs 中检测到间充质干细胞表面抗原标志物 CD105、CD44 和 CD29 表达呈强阳性, 而造血干细胞标志物 CD45、CD31 和 CD34 呈阴性。hSCAPs 能够向成骨细胞和脂肪细胞分化。从 hSCAPs 的上清中分离出来的囊泡样物质, 其外形为圆形囊泡并且具有完整的膜结构, 粒径为 30 ~ 100 nm, 而且表达外泌体特性蛋白 CD81、CD9、CD63 和 TSG101。**结论**·成功地从 hSCAPs 中分离出囊泡样物质, 并鉴定其为外泌体。

[关键词] 人根尖乳头干细胞; 外泌体; 梯度离心; 鉴定

[DOI] 10.3969/j.issn.1674-8115.2019.02.004 **[中图分类号]** R-331 **[文献标志码]** A

Extraction and identification of human stem cells from the apical papilla derived-exosomes

JIN Qiao-qiao, LIN Wen-zhen, YUAN Ke-yong, NIU Chen-guang, HUANG Zheng-wei

Department of Endodontics, Shanghai Ninth People's Hospital, College of Stomatology, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine; National Clinical Research Center for Oral Diseases; Shanghai Key Laboratory of Stomatology & Shanghai Research Institute of Stomatology, Shanghai 200011, China

[Abstract] **Objective**·To obtain and identify the exosomes derived from human stem cells from the apical papilla (hSCAPs). **Methods**·hSCAPs were cultured by modified tissue adherence method and the phenotypes were analyzed with stem cell surface markers CD105, CD45, CD44, CD31, CD34 and CD29. The capability of multi-differentiation in hSCAPs was identified by osteogenic and adipogenic differentiation *in vitro*. Exosomes were isolated from hSCAPs culture supernatants using gradient centrifugation methods. The size of vesicle was assessed by nanoparticle size analyzer. The morphology of exosomes was observed by transmission electronic microscope (TEM), and the expression of exosome molecular markers CD81, CD9, CD63 and TSG101 was analyzed by Western blotting. **Results**·hSCAPs were positive for the mesenchyme stem cell markers, including CD105, CD44 and CD29 and negative for the hematopoietic markers CD45, CD31 and CD34. hSCAPs could differentiate into osteoblasts and adipocytes. hSCAPs secreted microvesicles which exhibited round vesicle structure with an intact membrane observed by the TEM. The results of nanoparticle size analyzer measurement showed that the diameters of vesicles were ranged from 30 to 100 nm, which were consistent with the results by TEM. Microvesicles could express the molecular markers for exosomes, i.e. CD81, CD9, CD63 and TSG101. **Conclusion**·The microvesicles were successfully isolated from hSCAPs and identified as exosomes.

[Key words] human stem cell from the apical papilla; exosome; gradient centrifugation; identification

随着组织工程的迅速发展, 干细胞由于其具有的多向分化能力而备受关注。在牙根未发育成熟的年轻恒牙根尖部含有间充质来源的根尖乳头干细胞 (human stem cells from the apical papilla, hSCAPs), 2006 年由 Sonoyama 等^[1]首次发现并命名。hSCAPs 具备自我更新能力和高度的多向分化能力^[2]。近年来越来越多的研究发现由细胞分泌的外泌体 (exosomes) 在组织损伤修复、器官发育、机体的免疫调节中发挥重要作用^[3-5]。外泌体是一类直径

30 ~ 100 nm 的小分子囊泡, 各种细胞均可分泌^[6-8], 其内含有众多蛋白、脂质和 RNA, 主要参与细胞间的信号传导^[9-10]。近来研究发现外泌体可以参与血管的发生, 神经组织、骨组织以及软骨组织的再生等^[11-14], 有望在组织工程修复缺损中发挥重要作用。本研究通过梯度离心技术, 成功提取并鉴定了 hSCAPs 来源的外泌体, 以期为后续研究外泌体在组织再生领域的应用和相关机制的揭示提供实验依据。

[基金项目] 国家自然科学基金 (81570964, 81371143); 上海市科学技术委员会基金 (16430723500) (National Natural Science Foundation of China, 81570964, 81371143; Shanghai Municipal Commission of Science and Technology Foundation, 16430723500)。

[作者简介] 晋巧巧 (1993—), 女, 硕士生; 电子信箱: ersan61243578@sjtu.edu.cn。

[通信作者] 黄正蔚, 电子信箱: huangzhengwei@shsmu.edu.cn。



1 材料和方法

1.1 主要试剂和仪器

健康、完整、无龋的成人第三恒磨牙(来自上海交通大学医学院附属第九人民医院口腔外科), DMEM 培养基、胰蛋白酶、胎牛血清、青霉素、链霉素(Gibco, 美国), β -甘油磷酸钠、地塞米松、维生素 C (Sigma, 美国), 茜素红染液、油红 O 染液(Cyagen Biosciences, 美国), Beckman CytoFlex S 流式细胞仪(Beckman Coulter, 美国), CD29、CD90、CD105 抗体(BD biosciences, 美国), CD34、CD45 抗体(Biolegend, 美国), CD44 抗体(eBioscience, 美国), CD63、CD81、CD9、TSG101 (Abcam, 英国), 辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔抗体(威奥, 中国), 普通倒置荧光显微镜(Olympus, 日本), CO₂ 培养箱、GeneChip® Scanner 3000 7G 扫描仪(Thermo, 美国), OPTUMAL-80XP 超速离心机(Hitachi, 日本), Tecnai G2 Spirit Twin 透射电镜(FEI, 美国), ZETASIZER Nano series-Nano-ZS 粒径分析仪(OTSUKA, 日本), 凝胶成像分析系统(Tanon, 中国)。

1.2 实验方法

1.2.1 hSCAPs 的分离和培养 经上海交通大学医学院附属第九人民医院伦理委员会审查批准和患者知情同意后, 选取 12 ~ 18 岁患者因正畸需要拔除的健康、完整、根尖部未发育完成的第三恒磨牙。将牙齿消毒后取根尖部牙乳头组织, 用含 100 U/mL 青霉素、100 μ g/mL 链霉素的磷酸盐缓冲液(phosphate buffered saline, PBS) 浸洗 3 次, 剪碎至 0.5 ~ 1 mm³/块, 用盖玻片将组织块均匀接种于 10 cm 培养皿中。向培养皿中加入 10 mL 完全培养基(含 20% 胎牛血清、100 U/mL 青霉素、100 μ g/mL 链霉素), 置于 37℃、5% CO₂ 恒温培养箱中培养。组织块未爬出细胞前, 每周换液 1 次; 细胞爬出后, 每 3 日换液 1 次。倒置相差显微镜下观察细胞生长、增殖情况。待原代细胞长至 80% 汇合状态时, 按 1:1 传代。接下来每代细胞按 1:3 传代。

1.2.2 hSCAPs 的鉴定

(1) 细胞表面标志物的表达 取第 2 代 hSCAPs, 0.25% 胰酶消化, PBS 清洗 2 次, 重悬并计数。准备 9 支流式管, 在每支流式管内加入 0.5 mL PBS 重悬的 1×10^5 个细胞后, 分别加入 5 μ L CD29-PE、CD31-FITC、CD34-FITC、CD44-FITC、CD45-FITC、CD105-PE 抗体; 留 3 支流式管, 一支加入 PE 同型对照抗体, 一支加入 FITC 的同型对照(ISO) 作为对照管, 另外一支试管只有细胞不加任何染料, 室温避光孵育 45 min。PBS 洗涤重悬后, 采用

Beckman CytoFlex S 流式细胞仪进行细胞表面标志物分析。采用 Flowjo 软件分析作图。

(2) 成骨诱导 取第 2 代 hSCAPs, 制成细胞悬液, 以 5×10^4 个细胞/孔的密度接种到 24 孔板中。实验组细胞 24 h 后换成骨诱导液(完全培养基中含 0.1 μ mol/L 地塞米松、10 mmol/L β -甘油磷酸钠、50 μ mol/L 维生素 C) 培养, 每 3 日换液。对照组细胞仅用完全培养基培养。培养 3 周后, 吸弃培养液, PBS 清洗 3 次, 4% 多聚甲醛固定 30 min, PBS 清洗 3 次, 每孔加入 40 mmol/L 的茜素红染色液, 室温孵育 20 min 后, PBS 清洗 4 次, 倒置显微镜下观察钙化结节是否形成。诱导组和对照组每组 3 个重复, 独立重复 3 次实验。

(3) 成脂诱导 取第 2 代 hSCAPs, 制成细胞悬液, 以 5×10^4 个细胞/孔的密度接种到 24 孔板中。每 3 日换液直至细胞汇合至 100% 时, 实验组细胞换成脂诱导液 A 液(完全培养基中含 10 mg/L 胰岛素、0.5 mmol/L 3-异丁基-L-甲基黄嘌呤、罗格列酮、1 μ mol/L 地塞米松) 培养; 3 d 后换成脂诱导液 B 液(完全培养基中含 10 mg/L 胰岛素), 次日换成脂诱导液 A 液, 如此循环, 重复 3 ~ 5 个周期。对照组细胞仅用完全培养基培养。诱导完成后, 吸弃成脂诱导液和培养基, PBS 清洗 3 次, 4% 多聚甲醛固定 30 min 后, PBS 清洗 3 次, 每孔加 1 mL 油红 O 染色 15 min, 用 PBS 漂洗 3 次后倒置显微镜下观察并拍照。诱导组和对照组每组 3 个复孔, 独立重复 3 次实验。

1.2.3 hSCAPs 来源的外泌体的提取 选择状态好的第 3 ~ 5 代 hSCAPs, 无血清培养 72 h 后, 收集培养上清液; $500 \times g$ 离心 10 min, 除去细胞碎片, 再将上清转移到干净的离心管中, 留 5 mL 下层细胞沉淀不转移; 4℃ 条件下 $2\,000 \times g$ 离心 10 min, 进一步去除上清液中的细胞碎片, 将上清液移至离心管中, 留 5 mL 细胞沉淀不吸; 4℃ 条件下 $10\,000 \times g$ 离心 30 min, 将上层浓缩液转移至超速离心管, 下层细胞碎片留 5 mL 不转移。4℃ 条件下 $110\,000 \times g$ 离心 70 min, 小心倒尽上清液, 用 1 mL PBS 反复吹打重悬沉淀, 用 PBS 补足体积, 吹打混匀后 0.22 μ m 滤膜过滤除菌; 再次 $110\,000 \times g$ 离心 70 min, 洗涤 1 次, 最后用 100 μ L PBS 收集外泌体沉淀, 于 -80℃ 长期保存。

1.2.4 hSCAPs 来源的外泌体的鉴定

(1) 透射电镜检测外泌体形态及大小 将 40 mL 的上清液梯度离心后的沉淀用 100 μ L PBS 重悬, 取 20 μ L 的外泌体悬液滴加到载样铜网中, 反应 5 min 后, 用滤纸片沿边缘小心吸干, 向铜网滴加 3% 磷钨酸溶液 20 μ L 复染 5 min, 用滤纸片沿边缘小心吸干。在透射电镜拍照前用白炽灯 65℃ 烘烤约 15 min, 拍摄电镜照片。独立重复 3 次实验。

(2) 粒径分析 取上述外泌体悬液 100 μ L, 用 PBS 补



足至 1 mL, 混匀后冰上放置, 用无尘纸对光擦拭一次性样品池, 确保样品池干净, 无颗粒物附着光路外管壁; 适度倾斜样品池并缓慢注入外泌体悬液, 避免产生气泡, 注射完毕后用盖子将样品池封住放入仪器, 按照标准操作规程操作仪器, 检测外泌体粒径大小。独立重复 3 次实验。

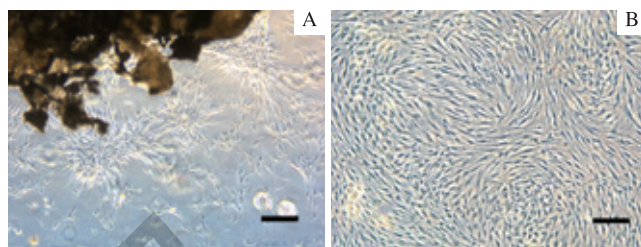
(3) 外泌体标志性蛋白表达 取分离得到的外泌体 100 μ L, 加入等体积的 RIPA 细胞裂解液, 冰上裂解 30 min, 13 000 $\times g$ 离心 10 min, 取上清液加入适量 5 \times 上样缓冲液, 100 $^{\circ}$ C 煮沸 10 min; 外泌体样品与细胞各取 20 μ L 于 10% SDS 聚丙烯酰胺凝胶中进行电泳, 结束后将蛋白转印至 PVDF 膜上, 5% 脱脂牛奶进行封闭, 加入兔抗人 CD63 (1:1 000)、兔抗人 CD81 (1:1 000)、兔抗人 TSG101 (1:1 000)、兔抗人 CD9 (1:1 000) 等单克隆抗体, 4 $^{\circ}$ C 摇床上放置过夜。Tris-HCl 缓冲液 (TBST) 洗涤 3 次, 每次 10 min, 之后加入辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔二抗 (1:2 000), 室温下孵育 2 h, TBST 洗涤 3 次, 每次 10 min, ECL 化学发光法显色, 凝胶成像系统分析。独立重复 3 次实验。

2 结果

2.1 hSCAPs 生长情况及形态学观察

采用改良组织块法培养 hSCAPs, 培养 1 周左右时组

织块周围陆续有细胞爬出, 2 周左右细胞可以形成细胞簇 (图 1A)。细胞传代后在倒置相差显微镜下可见细胞多呈梭形, 胞质均匀, 核圆。细胞状态良好, 增殖速度较快, 呈旋涡状排列 (图 1B), 平均 2 ~ 3 d 传代 1 次。



注: A. 改良组织块法培养 10 d 后倒置相差显微镜下 ($\times 5$) 细胞密集生长, 形成细胞簇样; B. 第 4 代 hSCAPs 在倒置相差显微镜下 ($\times 5$) 细胞成梭形, 状态佳。标尺为 100 μ m。

图 1 原代培养人根尖乳头干细胞的形态特征

Fig 1 Characterization of primary hSCAPs

2.2 流式细胞仪检测细胞表面标志物

流式细胞仪检测结果 (图 2) 显示, 第 2 代 hSCAPs 的造血干细胞表面抗原标志物 CD34、CD45 和 CD31 表达呈阴性, 比例分别为 0.09%、0.04%、0.08%; 间充质干细胞表面抗原标志物 CD29、CD44 和 CD105 表达呈强阳性, 比例分别为 99.99%、99.96%、99.81%。

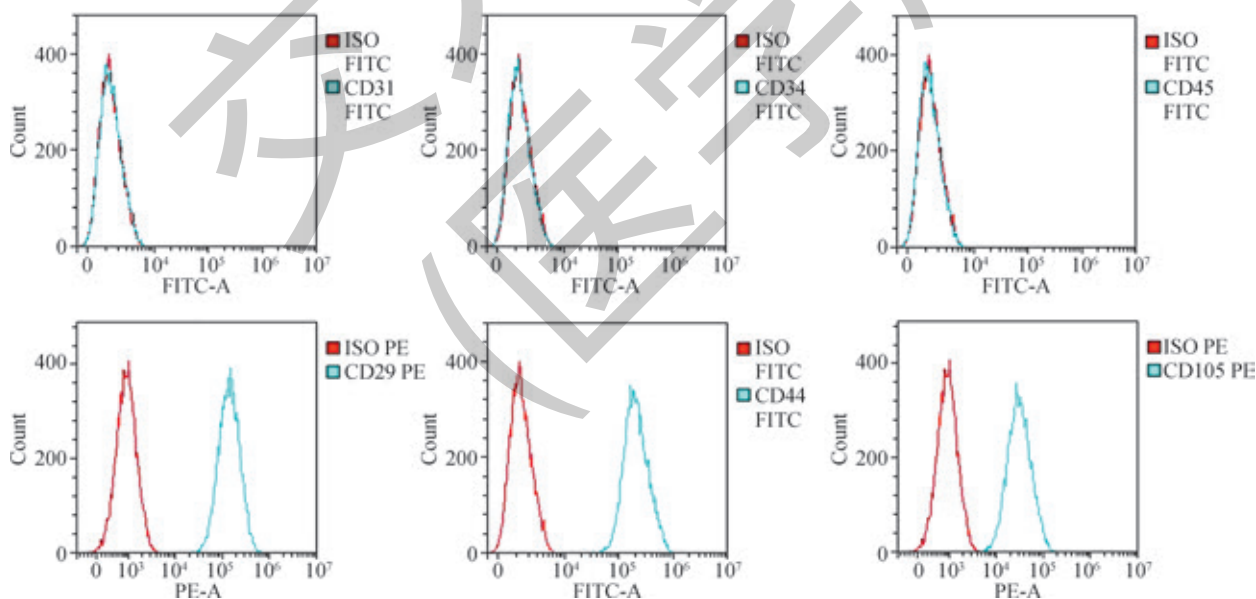


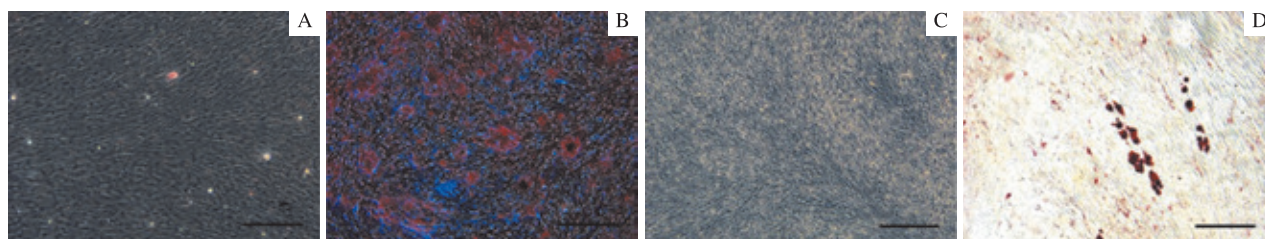
图 2 流式细胞术鉴定 hSCAPs 表面抗原标志物

Fig 2 Flow cytometry analysis of surface antigen markers of hSCAPs

2.3 成骨诱导和成脂诱导

经成骨诱导 21 d 后 hSCAPs 呈复层生长, 茜素红染色阳性, 可见大量红色矿化结节形成 (图 3B), 对照组未见矿化结节的产生 (图 3A)。成脂诱导液处理 14 d 后, 可见

细胞形态较培养初期变得更为饱满, 诱导 21 d 后油红 O 染色阳性, 可见细胞胞质内有大量脂滴 (图 3D), 对照组细胞没有形成明显脂滴 (图 3C)。



注: A、C. 分别为成骨和成脂对照组; B. hSCAPs 具有成骨分化能力, 茜素红染色可见形成的钙结节; D. hSCAPs 在成脂诱导后能形成脂肪细胞, 油红 O 染色可见明显脂滴。标尺为 50 μm 。

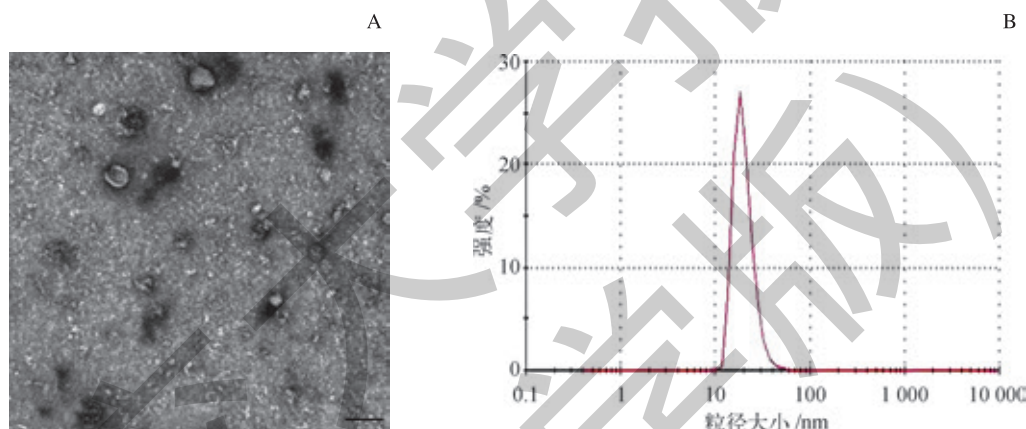
图 3 hSCAPs 成骨和成脂分化能力

Fig 3 Osteogenic and adipogenic differentiation capability of hSCAPs

2.4 hSCAPs 来源的外泌体的形态特征

梯度超速离心后对 hSCAPs 来源的外泌体进行了鉴定, 透射电镜 (图 4A) 可见其大小在 100 nm 左右, 具有明显的膜结构, 且呈圆盘形。

hSCAPs 来源的外泌体粒径大小经纳米粒径测量仪检测粒径主峰为 56.34 nm, 粒径大小范围为 10 ~ 100 nm (图 4B)。粒径主峰和粒径大小范围符合相关的文献报道^[15-16], 而且呈相对的正态分布, 检测结果置信度高。



注: A. 透射电镜观察外泌体形态呈直径为 100 nm 左右的囊泡状结构; B. 外泌体粒径测量结果。标尺为 100 nm。

图 4 外泌体透射电镜观察和粒径检测

Fig 4 Transmission electron microscope observation and particle size identification of exosomes

2.5 hSCAPs 来源的外泌体表面标志物的表达

Western blotting 结果 (图 5) 验证了外泌体内特异性标志蛋白的表达, 可见此外泌体内明显表达 CD9、CD63、CD81、TSG101 等蛋白。

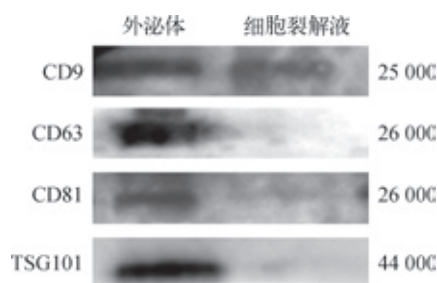


图 5 Western blotting 检测外泌体特异性标志物 CD9、CD63、CD81、TSG101 的表达

Fig 5 Western blotting analysis of CD9, CD63, CD81 and TSG101 in exosomes

3 讨论

干细胞是一类具有自我复制能力和一定分化潜能的细胞, 在一定条件下, 可分化成多种不同组织来源的细胞。因此, 干细胞在组织工程、再生医学中有着重要的应用价值。人牙髓干细胞 (human dental pulp stem cells, hDPSCs) 是来源于牙髓组织中的间充质干细胞, 是第一种被发现的牙源性间充质干细胞。随着组织工程的发展, 越来越多的牙源性干细胞被应用到组织再生工程中。2006 年有学者从未发育完成的年轻恒牙根尖部发现了 hSCAPs。与 hDPSCs 相似, hSCAPs 表达间充质干细胞表面标志物, 但是 hSCAPs 比 hDPSCs 在体外研究中表现出更高的增殖能力、迁移能力和矿化能力^[17]; 而且 hSCAPs 来源于发育中的组织, 可能比 hDPSCs 具有更大的可塑性。hSCAPs

是牙髓组织中的间充质干细胞,取材方便,医学伦理压力小,是口腔医学研究领域中的重要组织工程干细胞之一。流式细胞术鉴定结果显示, hSCAPs 细胞表面间充质干细胞标志物 CD29、CD44、CD105 呈强阳性,而造血干细胞标志物 CD34、CD45 和 CD31 呈阴性,表明 hSCAPs 符合间充质干细胞的特征。在 hSCAPs 向成骨细胞诱导实验中,茜素红染色可见明显的钙化结节,说明 hSCAPs 有向成骨细胞分化的能力。在 hSCAPs 向成脂肪细胞诱导实验中,油红 O 染色可见大量脂滴,说明 hSCAPs 有向脂肪细胞分化的能力。这些实验结果说明 hSCAPs 具有干细胞的多向分化能力。

近年来细胞外泌体被认为是细胞与细胞之间交流的作用方式,主要通过传递蛋白质、脂质、DNA 和 RNA 等来调控细胞的生物学功能^[18]。有研究表明脂肪干细胞可以通过分泌外泌体来促进角膜成纤维细胞的活力及其细胞外基质的合成^[19];间充质干细胞也可以通过分泌外泌体来调节软骨的发育和组织的修复^[20];脐静脉血内皮细胞通过分泌外泌体促进神经组织修复^[7]。有学者将间充质干细胞分泌的外泌体视作与生长因子发挥相似促进组织再生作用的活性物质^[20]。本研究成功分离培养了 hSCAPs,并对

其进行了流式细胞术鉴定和多向分化能力的鉴定。随后在细胞培养上清中提取其可能分泌的外泌体,并通过透射电镜、粒径分析和 Western blotting 从外泌体的形态、大小及其特异性标志蛋白多方验证了 hSCAPs 分泌的外泌体。通过探讨 hSCAPs 的培养及其所分泌外泌体的基本特征,试图揭示 hSCAPs 外泌体的潜在功能。虽然目前已有研究证实了人牙髓干细胞来源外泌体具有促进牙髓干细胞本身成骨分化的特点^[21],但是目前还没有关于 hSCAPs 来源的外泌体相关的体内外研究,本研究为后续的研究奠定了重要的实验基础。外泌体作为一种细胞间交流调控的物质可应用于组织再生领域。可将间充质干细胞来源的外泌体开发成既具有间充质干细胞作用特点,又能规避其在体内不良分化、成瘤以及免疫排斥反应的新型组织工程材料。

综上所述,本研究成功提取的 hSCAPs 外泌体可能成为未来组织再生的一种新型活性物质。本研究对 hSCAPs 来源外泌体的基本特征进行了初步探索,为后续外泌体在组织再生领域深入的功能研究奠定了基础。间充质干细胞来源的外泌体促进组织损伤修复将是今后具有重要探讨价值的研究方向。

参 · 考 · 文 · 献

- [1] Sonoyama W, Liu Y, Fang D, et al. Mesenchymal stem cell-mediated functional tooth regeneration in swine[J]. PLoS One, 2006, 1: e79.
- [2] Huang GT, Yamaza T, Shea LD, et al. Stem/progenitor cell-mediated *de novo* regeneration of dental pulp with newly deposited continuous layer of dentin in an *in vivo* model[J]. Tissue Engineering Part A, 2010, 16(2): 605-615.
- [3] Record M, Subra C, Silvente-Poirot S, et al. Exosomes as intercellular signalosomes and pharmacological effectors[J]. Biochem Pharmacol, 2011, 81(10): 1171-1182.
- [4] Corrado C, Raimondo S, Chiesi A, et al. Exosomes as intercellular signaling organelles involved in health and disease: basic science and clinical applications[J]. Int J Mol Sci, 2013, 14(3): 5338-5366.
- [5] Keller S, Sanderson MP, Stoeck A, et al. Exosomes: from biogenesis and secretion to biological function[J]. Immunol Lett, 2006, 107(2): 102-108.
- [6] Rodríguez JM, Wolfrum S, Robblee M, et al. Altered expression of Raet1e, a major histocompatibility complex class I-like molecule, underlies the atherosclerosis modifier locus Ath11 10b[J]. Circ Res, 2013, 113(9): 1054-1064.
- [7] Zhang YZ, Liu F, Song CG, et al. Exosomes derived from human umbilical vein endothelial cells promote neural stem cell expansion while maintain their stemness in culture[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2018, 495(1): 892-898.
- [8] Liu X, Yang Y, Li Y, et al. Integration of stem cell-derived exosomes with in situ hydrogel glue as a promising tissue patch for articular cartilage regeneration[J]. Nanoscale, 2017, 9(13): 4430-4438.
- [9] Sun D, Zhuang X, Zhang S, et al. Exosomes are endogenous nanoparticles that can deliver biological information between cells[J]. Adv Drug Deliv Rev, 2013, 65(3): 342-347.
- [10] Lee Y, El Andaloussi S, Wood MJ. Exosomes and microvesicles: extracellular vesicles for genetic information transfer and gene therapy[J]. Hum Mol Genet, 2012, 21(R1): R125-R134.
- [11] Zhang ZG, Chopp M. Exosomes in stroke pathogenesis and therapy[J]. J Clin Invest, 2016, 126(4): 1190-1197.
- [12] Bucan V, Vaslatis D, Peck CT, et al. Effect of exosomes from rat adipose-derived mesenchymal stem cells on neurite outgrowth and sciatic nerve regeneration after crush injury[J]. Mol Neurobiol, 2018. DOI: 10.1007/s12035-018-1172-z.
- [13] Li Y, Jin D, Xie W, et al. Mesenchymal stem cells-derived exosomes: a possible therapeutic strategy for osteoporosis[J]. Curr Stem Cell Res Ther, 2018, 13(5): 362-368.
- [14] Liu X, Yang Y, Li Y, et al. Integration of stem cell-derived exosomes with in situ hydrogel glue as a promising tissue patch for articular cartilage regeneration[J]. Nanoscale, 2017, 9(13): 4430-4438.
- [15] Hu Y, Rao SS, Wang ZX, et al. Exosomes from human umbilical cord blood accelerate cutaneous wound healing through miR-21-3p-mediated promotion of angiogenesis and fibroblast function[J]. Theranostics, 2018, 8(1): 169-184.
- [16] Jiang N, Xiang L, He L, et al. Exosomes mediate epithelium-mesenchyme crosstalk in organ development[J]. ACS Nano, 2017, 11(8): 7736-7746.
- [17] Zhang S, Chuah SJ, Lai RC, et al. MSC exosomes mediate cartilage repair by enhancing proliferation, attenuating apoptosis and modulating immune reactivity[J]. Biomaterials, 2018, 156: 16-27.
- [18] Alenquer M, Amorim MJ. Exosome biogenesis, regulation, and function in viral infection[J]. Viruses, 2015, 7(9): 5066-5083.
- [19] Shen T, Zheng QQ, Shen J, et al. Effects of adipose-derived mesenchymal stem cell exosomes on corneal stromal fibroblast viability and extracellular matrix synthesis[J]. Chin Med J (Engl), 2018, 131(6): 704-712.
- [20] Isola AL, Eddy K, Zembrzusi K, et al. Exosomes released by metabotropic glutamate receptor 1 (GRM1) expressing melanoma cells increase cell migration and invasiveness[J]. Oncotarget, 2017, 9(1): 1187-1199.
- [21] Huang CC, Narayanan R, Alapati S, et al. Exosomes as biomimetic tools for stem cell differentiation: applications in dental pulp tissue regeneration[J]. Biomaterials, 2016, 111: 103-115.

[收稿日期] 2018-10-07

[本文编辑] 邵碧云

