

论著·基础研究

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2023.15.003

网络首发 [https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20230424.1757.012.html\(2023-04-25\)](https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20230424.1757.012.html(2023-04-25))

脐带间充质干细胞源外泌体通过自噬对肾小管 上皮细胞凋亡的抑制作用研究^{*}

雷 艳^{1,2}, 詹世淮³, 杨 兰^{1,2}, 王佳伟^{1,2}, 王水良^{1,2}, 赵 猛^{1,2}, 张胜行^{1,2△}(中国人民解放军联勤保障部队第九〇〇医院;1. 福建省干细胞临床应用中心;2. 福建省适配体技术
重点实验室;3. 基础医学实验室,福州 351100)

[摘要] **目的** 研究间充质干细胞源外泌体(Exo)对衣霉素(TM)诱导肾小管上皮细胞(HKC)的凋亡作用。**方法** 以不同浓度(0、1、2、4 $\mu\text{g/mL}$)TM诱导HKC产生凋亡。采用CCK-8法检测细胞增殖活性。采用蛋白印迹法及流式细胞术检测细胞凋亡情况;检测自噬蛋白LC3B、Atg5和Beclin1的基因及蛋白表达水平。分离脐带间充质干细胞Exo,并进行流式细胞术表面标志物鉴定,研究不同浓度Exo(0、50、75、100、150、200 $\mu\text{g/mL}$)与TM共处理对细胞活性的影响。通过流式细胞术及细胞免疫荧光检测LC3B的表达情况。分析Exo与TM共处理对细胞凋亡水平的影响。**结果** 1、2、4 $\mu\text{g/mL}$ TM均能抑制HKC增殖活性并呈浓度依赖性;不同浓度TM均能诱导HKC凋亡,并激活细胞自噬信号通路。与TM组(1 $\mu\text{g/mL}$ TM处理)比较,TM处理中分别加入75、100、150、200 $\mu\text{g/mL}$ Exo后细胞增殖活性明显增强;免疫荧光和流式检测发现,TM+Exo组自噬标志性蛋白LC3B表达水平上调。TM组细胞凋亡率为(13.36 $\pm$ 1.47)%,TM+Exo组细胞凋亡率为(7.75 $\pm$ 0.62)%,差异有统计学意义($P<0.05$)。**结论** 间充质干细胞源Exo能通过上调细胞自噬,减缓TM诱导的HKC凋亡。

[关键词] 肾小管上皮细胞;间充质干细胞源外泌体;细胞自噬;细胞凋亡;衣霉素**[中图分类号]** R329 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2023)15-2255-06

Inhibitory effect of exosomes derived from umbilical cord mesenchymal stem cells on apoptosis of renal tubular epithelial cells through autophagy^{*}

LEI Yan^{1,2}, ZHAN Shihuai³, YANG Lan^{1,2}, WANG Jiawei^{1,2},
WANG Shuiliang^{1,2}, ZHAO Meng^{1,2}, ZHANG Shengxing^{1,2△}

(1. Fujian Stem Cell Clinical Application Center; 2. Fujian Provincial Key Laboratory of Aptamer Technology; 3. Basic Medical Laboratory, The 900th Hospital of the Joint Logistics Support Force of the People's Liberation Army of China, Fuzhou, Fujian 351100, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the impact of exosomes (Exo) derived from mesenchymal stem cells on tunicamycin (TM)-induced apoptosis in human renal tubular epithelial cells (HKC). **Methods** Different concentrations (0, 1, 2, 4 $\mu\text{g/mL}$) of TM induced apoptosis in HKC cells. The cell proliferation activity was detected using the CCK-8 method. Western blotting and flow cytometry were used to detect cell apoptosis. The gene and protein expression levels of autophagy proteins LC3B, Atg5, and Beclin1 were also assessed. Isolate Exo from umbilical cord mesenchymal stem cells, identify surface markers using flow cytometry, and investigate the impact of co-treatment with various concentrations of Exo (0, 50, 75, 100, 150, 200 $\mu\text{g/mL}$) and TM on cell viability. The expression of LC3B was detected using flow cytometry and immunofluorescence. The effect of co-treatment of Exo and TM on the level of apoptosis was analyzed. **Results** 1, 2, and 4 $\mu\text{g/mL}$ of TM could all inhibit HKC proliferation in a concentration-dependent manner. Different concentrations of TM can induce apoptosis in HKC and activate the autophagy signaling pathway. Compared to the TM group (treated with 1 $\mu\text{g/mL}$ TM), the cell proliferation activity was significantly enhanced after adding 75, 100, 150, and 200 $\mu\text{g/mL}$ of Exo to the TM treatment. Immunofluorescence and flow cytometry analyses showed that the

^{*} 基金项目:福建省自然科学基金项目(2022J011085);联勤保障部队第900医院院内杰出青年培育专项(2020Q07)。 作者简介:雷艳(1987—),主管技师,硕士,主要从事临床病原学项目的分子诊断。 [△] 通信作者, E-mail: fzyzyzsh@126.com。

expression level of the autophagy marker protein LC3B was upregulated in the TM+Exo group. The apoptosis rate of the TM group was $(13.36 \pm 1.47)\%$, while that of the TM+exosome group was $(7.75 \pm 0.62)\%$, showing a statistically significant difference ($P < 0.05$). **Conclusion** Mesenchymal stem cell-derived Exo can slow down thioacetamide-induced HKC apoptosis by up-regulating autophagy.

[Key words] renal tubular epithelial cells;mesenchymal stem cell-derived exosomes;cell autophagy;cell apoptosis;tunicamycin

人脐带间充质干细胞来源的外泌体(human umbilical cord mesenchymal stem cells derived exosomes,hUC-MSCs-Exo)可以转运核酸、脂质和蛋白质,参与细胞间的信息交流,具有与 MSCs 相似的组织损伤修复和再生功能^[1-2]。急性肾损伤(acute kidney injury,AKI)是一种以肾功能减退为特征的症候群,缺氧、肾缺血再灌注损伤(renal ischemia reperfusion injury,IRI)、肾毒性和炎症等均可导致 AKI^[3-4]。已有研究表明,MSCs-Exo 种携带的 miRNA 和蛋白能减轻肾脏缺血再灌注损伤,减少细胞凋亡,促进细胞增殖,从而修复肾损伤^[5];Exo 中含有与血管生成(血管内皮生长因子、促血管新生蛋白因子)和转化生长因子- β (transforming growth factor- β ,TGF- β)信号相关的营养蛋白分子而促进肾脏再生^[6-7]。MSCs-Exo 可以通过调节 ATL16L 增强细胞自噬,预防顺铂药物所致的 AKI^[8]。尽管 MSCs-Exo 显示出肾脏保护作用,但 MSCs-Exo 对肾小管上皮细胞(human renal tubular epithelial cells,HKC)的作用机制仍不清楚。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 试剂

衣霉素(tunicamycin, TM)购于瑞士 Enzo Life Sciences 公司。DMEM DF12、DMEM 低糖培养基均购于美国 Hyclone 公司。胎牛血清(fetal bovine serum,FBS)、抗体 PARP、LC3B、Atg5、Beclin1、 β -actin、兔免疫球蛋白 G(IgG)、鼠 IgG 均购于美国 Cell Signaling Technology 公司。流式抗体 CD63、CD9、CD81,碘化丙啶(Propidium Iodide, PI)染料, FITC Annexin V 凋亡检测试剂盒购于美国 Biolenged 公司;PierceTM BCA 蛋白定量试剂盒购于美国 Thermo 公司。增强化学发光(enhanced chemiluminescence, ECL)蛋白显色液购于德国 Advansta 公司。CCK-8 细胞增殖检测试剂盒购于印度 MedChem 公司。ExoQuick-TC 试剂盒购于美国 SBI 公司。

1.1.2 细胞

293T 细胞和 HKC 购于中国科学院上海细胞生物学研究所;hUC-MSC 由福建省干细胞应用工程技术研究中心提供,取 P3 代细胞。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养

HKC 培养于 10% FBS 的高糖培养基中,细胞均置于含体积分数为 5% CO₂、饱和湿度的 37℃ 培养箱中。hUC-MSCs 培养于含 10% FBS 的低糖培养基中。

1.2.2 CCK-8 检测细胞增殖活性

HKC 胰酶消化后镜下计数细胞,5 000 个/孔接种于 96 孔板,次日含 0.5% FBS DMEM 高糖培养基将 TM 稀释成不同浓度(0、1、2、4 μ g/mL)100 μ L 每孔,24 h 后每孔加入 10 μ L 的 CCK-8 溶液,将培养板置于培养箱内温育 2 h,将 96 孔板置于酶标仪上,测定 450 nm 处吸光度值,以 Con 组为 100%,则细胞存活率=(试验组吸光度值/Con 组吸光度值) $\times$ 100%。

1.2.3 Exo 的鉴定

提取的 40 μ L Exo 与 5 μ L 硫酸盐微珠室温共孵育 15 min,加入 100 μ mol/L 的牛血清清蛋白(bovine serum albumin,BSA)溶液 5 μ L,室温孵育 15 min。加入 1 mL 磷酸缓冲盐溶液(phosphate buffered saline,PBS)孵育 75 min,580 r/min 离心 5 min,去上清液。将 Exo 微珠的结合体中加入 1 mL 100 mmol/L 的甘氨酸溶液室温孵育 30 min,经离心 PBS 洗涤 2 次后,重悬在 350 μ L PBS 中,每管 50 μ L 分装于流式管中,加入 CD9、CD63、CD81 的一抗(1:200)避光孵育 45 min,离心重悬后立即通过流式细胞术检测。

1.2.4 实时荧光定量聚合酶链反应(real-time quantitative polymerase chain reaction,qRT-PCR)检测 mRNA 的表达

收集 TM 处理的细胞,TRIzol 法提取细胞总 RNA,取各样本 1 μ g 逆转录为 cDNA。以 β -actin 为内参,检测 LC3B、Atg5、Beclin1 基因 mRNA 的表达,各基因的引物序列见表 1。qPCR 体系为:SYBR 5 μ L,引物 5 μ mol/L 0.5 μ L,cDNA 2 μ L,ddH₂O 3.5 μ L,PCR 扩增程序为:94℃ 预变性 10 min,94℃ 变性 15 s,58℃ 退火 30 s,72℃ 延伸 30 s,30 次循环。mRNA 的表达以 2^{- $\Delta\Delta$ CT} 方式计算。

表 1 qRT-PCR 扩增引物序列

基因	引物序列(5'~3')	预期扩增长度(bp)
Atg5	F:5'-CAGTTTGGGCCATCAACCG-3'	210
	R:5'-AAGTGTGTGCAGCTGTCCAT-3'	

续表 1 qRT-PCR 扩增引物序列

基因	引物序列(5'~3')	预期扩增长度(bp)
Beclin1	F:5'-TGCCGTTATACTGTCTG GGG-3'	208
	R:5'-TTGATGGAATAGGAGCCGCC-3'	
LC3B	F:5'-AAGCTGCTTCTCACCCTTGT-3'	202
	R:5'-GAGAAGACCTTCAAGCAGCG-3'	
β -actin	F:5'-AGAGCTACGAGCTGCCTGAC-3'	212
	R:5'-AGCACTGTGTTGGCGTACAG-3	

1.2.5 蛋白质印迹法(Western blotting)检测蛋白表达

收集不同处理组的蛋白样品,经 BCA 法蛋白定量后,取 30 μ g 蛋白样品进行聚丙烯酰胺凝胶电泳,并转移至聚偏二氟乙烯膜上。室温下 4% BSA 摇床上封闭 1 h 后,与 1:1 000 稀释的一抗 4 $^{\circ}$ C 孵育过夜。TBST 洗膜 5 min/3 次,加入不同比例稀释的辣根过氧化物酶(HRP)标记的二抗,室温孵育 1 h,经 TBST、PBS 各洗膜 5 min/3 次后,加入 ECL 发光液暗室曝光,最后使用 Bio-Rad 公司的 Quantity One 软件测得各条带的灰度值(3 次结果的平均值)与内参 β -actin 进行校正和结果分析。

1.2.6 流式细胞分选技术(fluorescence-activated cell sorting,FACS)检测细胞凋亡

HKC 经胰酶消化后收集细胞沉淀,预冷的 PBS 洗涤两次,加入试剂盒中的结合液 100 μ L 重悬,每管

各加入 5 μ L FITC Annexin V 避光染色 15 min 后,再加入 5 μ L PI 染色 5 min,最后每管加入 400 μ L 结合液重悬后即可上机检测。

1.2.7 细胞免疫荧光检测

HKC 经各组处理,4% 多聚甲醛室温固定 30 min,PBS 洗涤 3 次,加入抗体稀释液封闭 2 h,按 1:200 比例加 LC3B 的一抗 4 $^{\circ}$ C 孵育过夜,含 0.1% Triton X-100 的 PBS 洗涤 3 次后加入二抗,避光孵育 1 h,PBS 洗涤后,1 mg/mL DAPI 染色 5 min,荧光显微镜拍照观察。

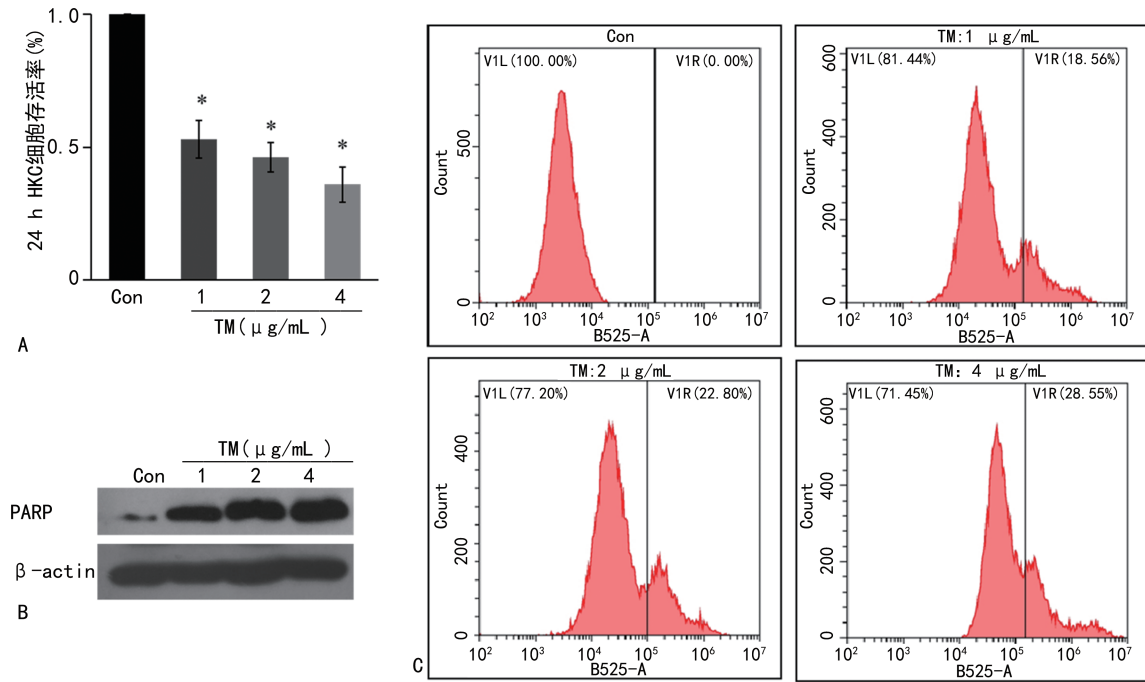
1.3 统计学处理

采用 SPSS 16.0 统计学软件进行数据处理。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 t 检验;计数资料以频数或百分比表示,组间比较采用 χ^2 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 TM 诱导 HKC 凋亡情况

1、2、4 μ g/mL TM 处理的细胞存活率分别为 52.9%、46.2%、35.9%,且与 Con 组比较,差异均有统计学意义($P < 0.05$),TM 能明显抑制细胞增殖(图 1A)。凋亡蛋白 PARP 的表达呈浓度依赖性的上调(图 1B)。流式细胞术检测细胞凋亡结果显示,1、2、4 μ g/mL TM 处理的细胞凋亡率分别为(18.56 $\pm$ 1.88)%、(22.80 $\pm$ 1.37)%和(28.55 $\pm$ 2.71)%,与 Con 组比较差异均有统计学意义($P < 0.05$),见图 1C。



A:不同浓度 TM 对细胞增殖活性的影响;B:Western blotting 检测细胞凋亡蛋白 PARP;C:PI 单染检测细胞凋亡;* : $P < 0.05$,与 Con 组比较。

图 1 TM 诱导 HKC 凋亡情况

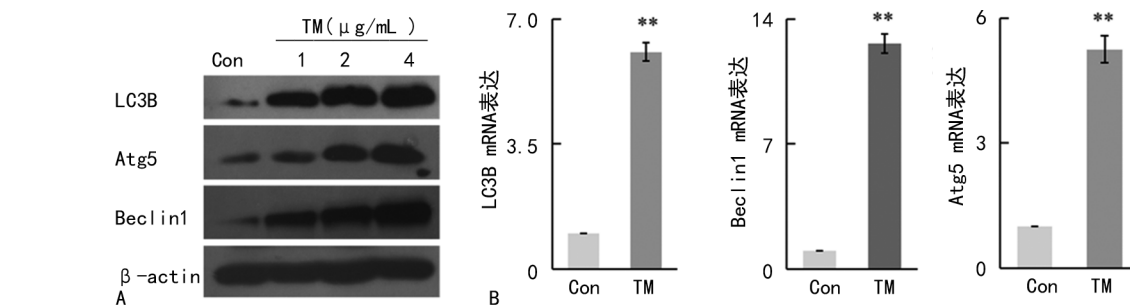
2.2 TM 诱导 HKC 自噬情况

1、2、4 $\mu\text{g/mL}$ TM 处理后均会促进自噬标志性蛋白 LC3B 表达,且自噬相关蛋白 Atg5 和 Beclin1 的表达也明显上调(图 2A)。与 Con 组比较,1 $\mu\text{g/mL}$ TM 处理(TM 组)自噬基因 LC3B 的表达上调 6.08 倍,Atg5 的表达上调 5.25 倍,Beclin1 的表达上调 12.62 倍(图 2B),TM 诱导 HKC 自噬信号通路被

激活。

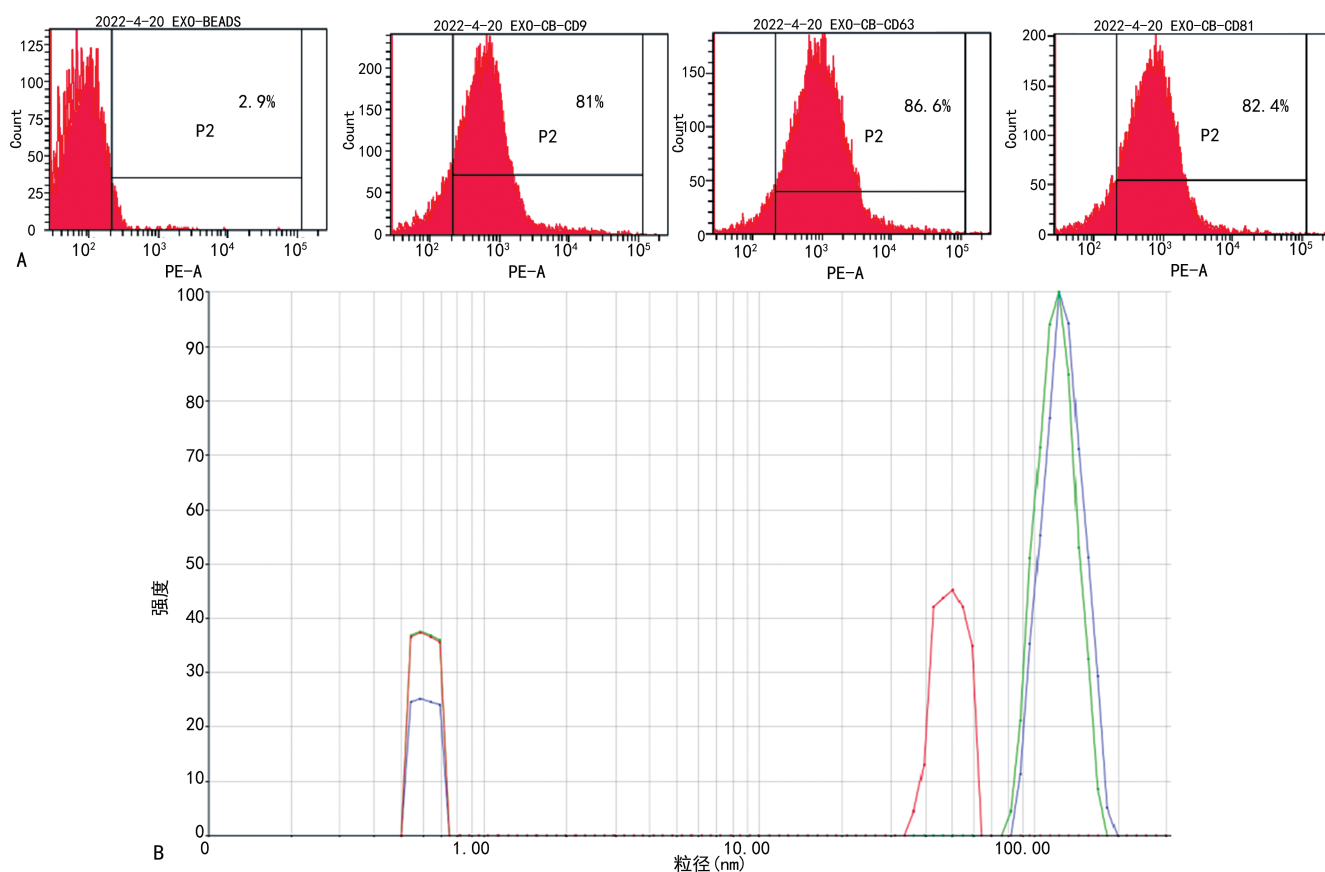
2.3 hUC-MSCs-Exo 的分离与鉴定情况

流式细胞术检测结果显示,hUC-MSCs-Exo 中 CD9(81.0%)、CD63(86.6%)和 CD81(82.4%)阳性标志物均阳性表达,阳性表达率为 81.0%、86.6%、82.4%(图 3A)。hUC-MSCs-Exo 经 NTA 粒径分析,大小约为 100 nm(图 3B)。



A: TM 诱导 HKC 发生自噬; B: 自噬基因 LC3B、Beclin1 和 Atg5 表达水平; **: $P < 0.05$, 与 Con 组比较。

图 2 TM 诱导 HKC 自噬



A: FACS 鉴定 Exo 标志分子 CD63、CD9、CD81 结果; B: hUC-MSCs-Exo NTA 粒径分析。

图 3 hUC-MSCs-Exo 的分离与鉴定情况

2.4 hUC-MSCs-Exo 促进 HKC 自噬情况

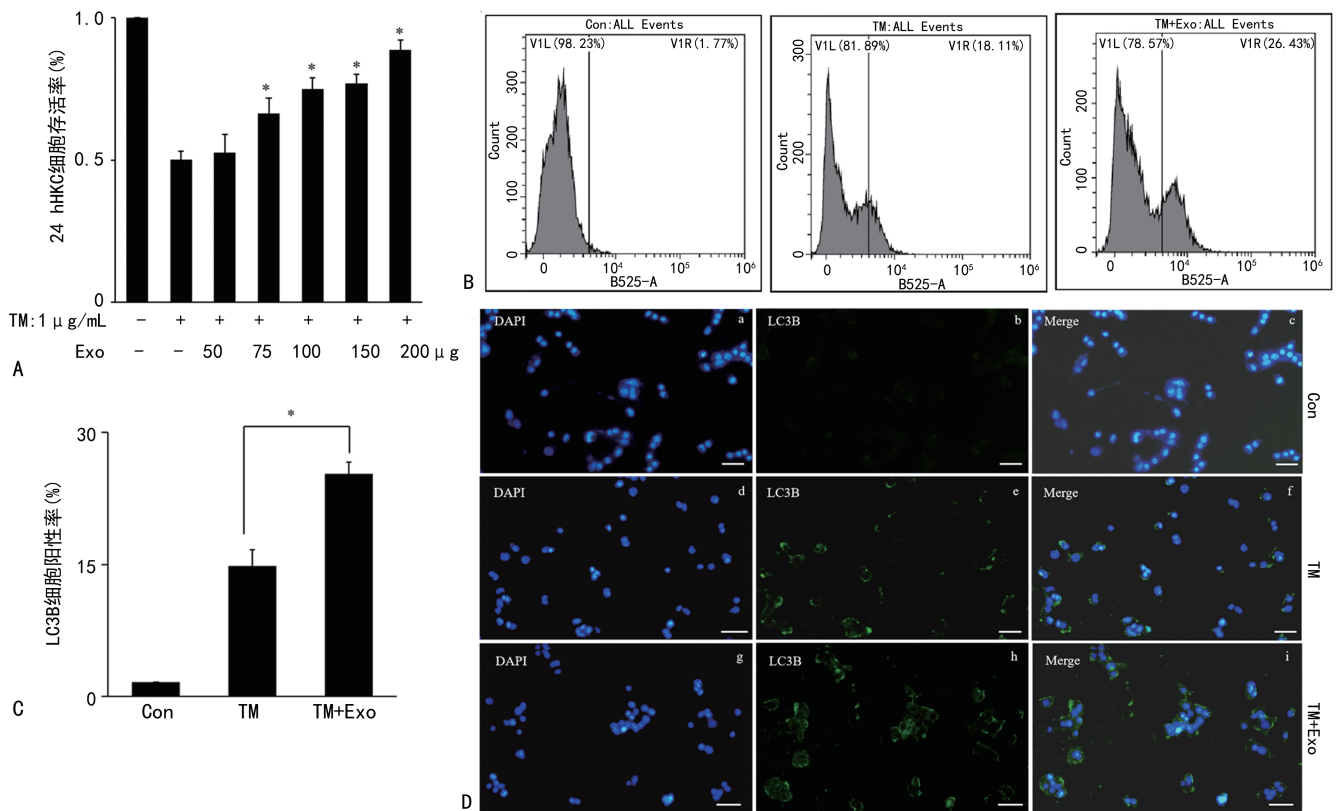
与 TM 组(1 $\mu\text{g/mL}$ TM 处理)比较,该过程中加入 75、100、150、200 $\mu\text{g/mL}$ Exo 能促进细胞增殖活性,差异均有统计学意义($P < 0.05$),见图 4A。FACS 检测 TM 组 LC3B 细胞阳性的表达率为 $(14.83 \pm 2.87)\%$,TM+Exo 组(150 $\mu\text{g/mL}$ Exo 处

理)LC3B 细胞阳性的表达率为 $(25.28 \pm 1.03)\%$,两组比较差异有统计学意义($P < 0.05$),见图 4B、4C。细胞免疫荧光分析的结果显示,与 TM 组比较,TM+Exo 组 LC3B 的荧光阳性细胞明显增多,差异有统计学意义($P < 0.05$),见图 4D。

2.5 hUC-MSCs-Exo 抑制 TM 诱导的细胞凋亡

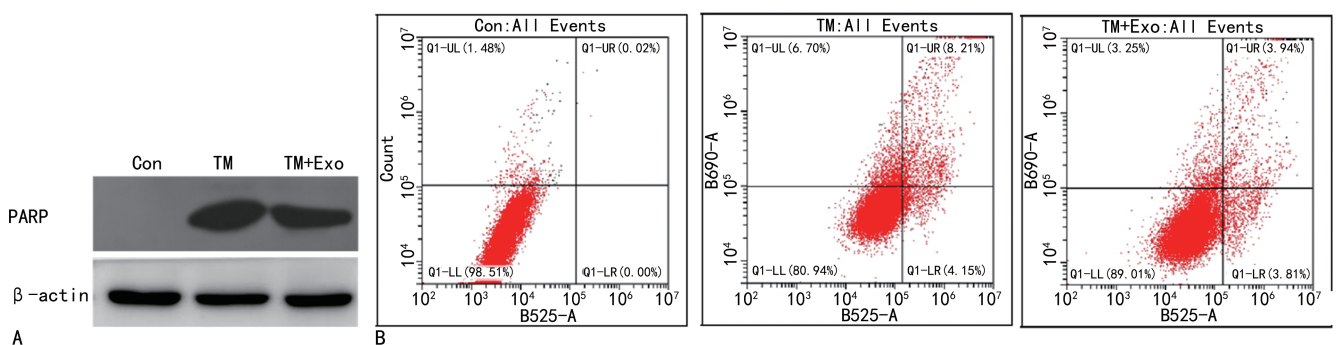
与 TM 组比较, TM+Exo 组凋亡蛋白 PARP 的表达下调, 见图 5A。流式细胞术分析结果显示, TM 组的细胞凋亡率为 $(11.37 \pm 1.70)\%$, 高于 TM+Exo

组的 $(7.72 \pm 0.38)\%$, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 见图 5B。



A: CCK-8 检测 Exo 对细胞增殖活性的影响; B、C: FACS 检测 LC3B 的表达; D: 荧光显微镜检测细胞自噬分子 LC3B 的荧光强度 (200 $\times$)。D 中, a: Con 组 DAPI 细胞核染色; b: Con 组 LC3B 免疫荧光染色; c: a、b 图的叠加; d: TM 组 DAPI 细胞核染色; e: TM 组 LC3B 免疫荧光染色; f: d、e 图的叠加; g: TM+Exo 组 DAPI 细胞核染色; h: TM+Exo 组 LC3B 免疫荧光染色; i: g、h 图的叠加。* : $P < 0.05$, 与 TM 组比较。

图 4 hUC-MSCs-Exo 对细胞自噬的影响



A: Western blotting 检测凋亡蛋白 PARP; B: 流式细胞术检测细胞凋亡。

图 5 hUC-MSCs-Exo 对细胞凋亡的影响

3 讨论

目前, 研究人员已经提出了多种 AKI 的发病机制, 包括肾单位数量减少、血流量减少和缺氧引起的内皮损伤、表观遗传学改变、肾脏毒性、肾小管细胞周期阻滞或炎症等^[9]。虽然 AKI 的发病机制不尽相同, 但最终都以肾小管细胞损伤(凋亡、坏死)造成不可逆转的肾功能损伤为主要病变特征, 尤其是肾小管细胞凋亡在 AKI 的发生、发展中起重要作用^[10]。本研究

中, 1、2、4 $\mu\text{g/mL}$ TM 处理 HKC 24 h 后均能抑制细胞增殖活性, 并呈水平依赖性; 流式细胞术检测结果也表明 TM 能诱导 HKC 凋亡。

研究报道, MSCs-细胞外囊泡通过传递 miRNAs 分子诱导 ERK1/2 表达增强, 促进近端 HKC 的存活^[11]。hUC-MSCs-Exo 通过传递营养因子 14-3-3 ζ , 与自噬诱导所必需的蛋白质 ATG-16L 相互作用, 促进 HKC 自噬, 诱导细胞存活, 从而介导抗顺铂诱导的

AKI,导致细胞凋亡并减少炎症反应,能促进肾功能恢复^[12]。本研究表明,hUC-MSCs-Exo 与 TM 共处理能明显增强细胞增殖活性,诱导 HKC 自噬标志分子 LC3B、Atg5、Beclin1 的表达上调;细胞免疫荧光和流式细胞术的检测结果表明,hUC-MSCs-Exo 促进了自噬标志蛋白 LC3B 的表达明显上调,表明 hUC-MSCs-Exo 能激活自噬信号通路。

MSCs-Exo 在治疗 AKI 方面起重要作用,促进了“无细胞疗法”的发展^[13]。MSCs-细胞外囊可以通过抑制氧化、凋亡和炎症及调节血管生成、细胞周期、再生、自噬和增殖来缓解 AKI^[14-15]。研究表明,hUC-MSCs-Exo 通过抑制 MAPK/ERK 信号通路的激活,从而抑制 HKC 凋亡^[16]。hUC-MSCs-Exo 通过上调 miR-146b 水平,从而抑制核因子 κ B 活性和减轻炎症反应,明显降低脓毒症相关 AKI 小鼠的血清肌酐和血尿素氮,抑制肾小管细胞凋亡,提示 hUC-MSCs-Exo 可能是减少脓毒症相关 AKI 的一种全新治疗药物^[17]。干细胞分泌的胞外小泡携带 miRNA 并输送到肾细胞中,对 AKI 模型发挥抗炎、抗凋亡和抗纤维化作用^[18]。研究发现,hUC-MSCs-Exo 通过携带 miR-21,抑制 p38 MAPK 信号通路,减轻胰岛内皮细胞内质网应激,从而保护胰岛内皮细胞免受缺氧诱导的细胞凋亡^[19]。本研究中,hUC-MSCs-Exo 处理 HKC 后凋亡率由 $(11.37 \pm 1.70)\%$ 下降到 $(7.72 \pm 0.38)\%$,表明 hUC-MSCs-Exo 能通过增强细胞自噬而减缓 TM 诱导的细胞凋亡。干细胞释放的 Exo 中包含与自噬调控密切相关的多种 miRNA,如 miR-181-5p、miR-29、miR-30d-5p、miR-221/222 等^[20-21]。

综上所述,MSCs-Exo 通过诱导 HKC 自噬上调而抑制细胞凋亡,但目前关于自噬与 AKI 的研究尚属起步阶段,Exo 中诱导和调节自噬的关键信号通路尚未阐明,探究 Exo 中的分子对自噬的靶向调控将是接下来的研究重点。

参考文献

- [1] HUANG Y L, YANG L N. Mesenchymal stem cells and extracellular vesicles in therapy against kidney diseases[J]. Stem Cell Res Ther, 2021,12(1):219.
- [2] ZHOU X N, RAGHU K. Biology and therapeutic potential of mesenchymal stem cell-derived exosomes[J]. Cancer Sci, 2020,111(9):3100-3110.
- [3] THONGPRAYOON C, HANSRIVIJIT P, KO-VVURU K, et al. Diagnostics, risk factors, treatment and outcomes of acute kidney injury in a new paradigm[J]. J Clin Med, 2020,9(4):1104.
- [4] YAN M J, SHU S Q, GUO C Y, et al. Endoplasmic reticulum stress in ischemic and nephrotoxic acute kidney injury[J]. Ann Med, 2018,50(5):380-390.
- [5] CAO J Y, WANG B, TANG T T, et al. Exosomal miR-125b-5p deriving from mesenchymal stem cells promotes tubular repair by suppression of p53 in ischemic acute kidney injury[J]. Theranostics, 2021,11(11):5248-5266.
- [6] BIRTWISTLE L, CHEN X M, POLLOCK C. Mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles to the rescue of renal injury[J]. Int J Mol Sci, 2021,22(12):6596.
- [7] NIKFARJAM S, REZAIE J, ZOLBANIN N M, et al. Mesenchymal stem cell derived-exosomes: a modern approach in translational medicine[J]. J Transl Med, 2020,18(1):449.
- [8] ULLAH M, LIU D D, RAI S, et al. A novel approach to deliver therapeutic extracellular vesicles directly into the mouse kidney via its arterial blood supply[J]. Cells, 2020,9(4):937.
- [9] AGARWAL A, DONG Z, HARRIS R, et al. Cellular and molecular mechanisms of AKI[J]. Am Soc Nephrol, 2016,27(5):1288-1299.
- [10] MAEKAWA H, INAGI R. Pathophysiological role of organelle stress/crosstalk in AKI-to-CKD Transition[J]. Semin Nephrol, 2019,39(6):581-588.
- [11] TSUJI K, KITAMURA S, WADA J. Secretomes from mesenchymal stem cells against acute kidney injury: possible heterogeneity[J]. Stem Cells Int, 2018,2018:1-14.
- [12] JIA X H, LIU W Z, ZHANG B, et al. HucMSC exosomes delivered 14-3-3 zeta enhanced autophagy via modulation of ATG16L in preventing cisplatin-induced acute kidney injury[J]. Am J Transl Res, 2018,10(1):101-113.
- [13] PHINNEY D G. Concise review: MSC-derived exosomes for cell-free therapy[J]. Stem Cells, 2017,35(4):851-858.
- [14] HUANG Y L, YANG L N. Mesenchymal stem cells and extracellular vesicles in therapy against kidney diseases[J]. Stem Cell Res Ther, 2021,12:219.
- [15] ZHAO T, SUN F, LIU J W, et al. Emerging role of mesenchymal stem cell-derived exosomes in regenerative medicine[J]. Curr Stem Cell Res Ther, 2019,14(6):482-494.

(下转第 2266 页)

- treatments[J]. *Diabetes Care*, 2010, 33(10): 2285-2293.
- [4] HOLLISTER A M, SIMONCINI A, SCIUK A, et al. High frequency ultrasound evaluation of traumatic peripheral nerve injuries[J]. *Neurol Res*, 2012, 34(1): 98-103.
- [5] HUANG H, WU S. Application of high-resolution ultrasound on diagnosing diabetic peripheral neuropathy[J]. *Diabetes Metab Syndr Obes*, 2021, 14: 139-152.
- [6] 魏荣锐, 苗明三. 糖尿病动物模型及特点分析[J]. *中医研究*, 2010, 23(2): 6-11.
- [7] 王璇, 徐斌. 2 型糖尿病周围神经病变动物模型的建立及检测指标分析[J]. *中国医学科学院学报*, 2020, 42(5): 658-666.
- [8] 张帆, 詹聃婷, 苟诗然, 等. 四氧嘧啶诱导 1 型糖尿病兔模型最佳剂量的实验研究[J]. *西南医科大学学报*, 2017, 40(1): 51-55.
- [9] 赵钺沁, 杨丽芬, 周怡昆. 糖尿病小鼠的周围神经病变检测[J]. *实验动物科学*, 2020, 37(3): 6.
- [10] 董建中, 杜斌. 四氧嘧啶诱导兔妊娠期糖尿病模型的建立及相关研究[J]. *吉林医学*, 2021, 42(4): 776-779.
- [11] 王铁铮, 亓恒涛, 陈超, 等. 兔坐骨神经挤压伤模型的超声弹性成像研究[J]. *中国中西医结合影像学杂志*, 2020, 18(5): 516-518.
- [12] 王倩, 许岚, 熊帆, 等. 基于超声的 2 型糖尿病患者迷走神经病变分析[J]. *中国辐射卫生*, 2021, 30(6): 776-781.
- [13] KARA M, ÖZÇAKAR L, DE MUYNCK M, et al. Musculoskeletal ultrasound for peripheral nerve lesions[J]. *Eur J Phys Rehabil Med*, 2012, 48(4): 665-674.
- [14] ZHENG Y, WANG L, KRUPKA T M, et al. The feasibility of using high frequency ultrasound to assess nerve ending neuropathy in patients with diabetic foot[J]. *Eur J Radiol*, 2013, 82(3): 512-517.
- [15] SHEVALYE H, WATCHO P, STAVNIICHUK R, et al. Metanx alleviates multiple manifestations of peripheral neuropathy and increases intraepidermal nerve fiber density in zucker diabetic fatty rats[J]. *Diabetes*, 2012, 61(8): 2126-2133.
- [16] TAGLIAFICO A, TAGLIAFICO G, MARTINO-LI C. Nerve density: a new parameter to evaluate peripheral nerve pathology on ultrasound. Preliminary study[J]. *Ultrasound Med Biol*, 2010, 36(10): 1588-1593.
- [17] PADUA L, LIOTTA G, DI PASQUALE A, et al. Contribution of ultrasound in the assessment of nerve diseases[J]. *Eur J Neurol*, 2012, 19(1): 47-54.
- (收稿日期: 2022-12-20 修回日期: 2023-05-10)
(编辑: 成卓)
- (上接第 2260 页)
- [16] LIU B, HU D, ZHOU Y, et al. Exosomes released by human umbilical cord mesenchymal stem cells protect against renal interstitial fibrosis through ROS-mediated p38MAPK/ERK signaling pathway[J]. *Am J Transl Res*, 2020, 12(9): 4998-5014.
- [17] ZHANG R X, ZHU Y, LI YANG, et al. Human umbilical cord mesenchymal stem cell exosomes alleviate sepsis-associated acute kidney injury via regulating microRNA-146b expression[J]. *Biotechnol Lett*, 2020, 42(4): 669-679.
- [18] WANG S Y, HONG Q, ZHANG C Y, et al. miRNAs in stem cell-derived extracellular vesicles for acute kidney injury treatment: comprehensive review of preclinical studies[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2019, 10(1): 281.
- [19] CHEN J, CHEN J Q, CHENG Y H, et al. Mesenchymal stem cell-derived exosomes protect beta cells against hypoxia-induced apoptosis via miR-21 by alleviating ER stress and inhibiting p38MAPK phosphorylation[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2020, 11: 97.
- [20] 胡明智, 杨国安, 孙晓林. 外泌体调控细胞自噬相关信号通路的研究进展[J]. *天津医药*, 2020, 48(10): 1015-1019.
- [21] XU J X, YANG Y, LUAN X P. Micro-RNA29b enhances the sensitivity of glioblastoma multi-forme cells to temozolomide by promoting autophagy[J]. *Anat Rec*, 2021, 304(2): 342-352.
- (收稿日期: 2022-11-18 修回日期: 2023-04-14)
(编辑: 张芃捷)