DOI：10.12287/j.issn.2096-8965.20220205

细胞外囊泡在肾脏病诊疗中的作用研究进展

张奕琳，汤涛涛，刘必成*

（东南大学肾脏病研究所，东南大学附属中大医院，江苏 南京 210009）

【摘要】细胞外囊泡（Extracellular Vesicles，EVs）是由细胞分泌的脂质双分子层结构，是介导细胞间通讯的重要媒介，参与了多种肾脏病的发生发展。近年来，越来越多的研究显示，尿液EVs携带有肾脏固有细胞来源的蛋白质和核酸，可成为肾脏病诊断标志物的重要来源。此外，EVs作为机体内天然的递送载体，具有良好的生物相容性和低免疫原性，为肾脏病治疗提供了新的策略。本文综述EVs在肾脏病诊断和治疗中的作用研究进展。

【关键词】细胞外囊泡；肾脏疾病；生物标志物；干细胞；药物递送

中图分类号：R692，R459.9　　**文献标识码**：A　　**文章编号**：2096-8965(2022)02-0032-07

Research progress of extracellular vesicles in the theranostics of kidney diseases

Zhang Yilin, Tang Taotao, Liu Bicheng*

(Institute of Nephrology, Zhongda Hospital, Southeast University School of Medicine, Nanjing 210009, Jiangsu, China)

【**Abstract**】Extracellular vesicles (EVs) are lipid bilayer-enclosed structures released by cells and encapsulate bioactive cargoes that act as an emerging messenger of intercellular communication in the development of kidney diseases. Currently, an increasing number of studies documented that, urinary EVs are packed with proteins and RNAs derived from renal resident cells, which could be served as a source of diagnostic biomarker. Furthermore, EVs are natural nanocarriers in the body with intrinsic characteristics, including great biocompatibility, low immunogenicity and low toxicity, which makes them great potential to apply for the treatment of kidney diseases. This review will focus on the current studies on EVs-based theranostics of kidney diseases.

【**Keywords**】Extracellular vesicles; Kidney disease; Biomarker; Stem cell; Drug delivery

前言

急性肾损伤（Acute Kidney Injury，AKI）和慢性肾脏病（Chronic Kidney Disease，CKD）是全球性重大公共卫生问题，影响着全球超过8.5亿人，早期诊断和治疗对患者预后及肾病防治具有重要意义[1-3]。然而，由于肾脏病起病隐匿，目前临床上早期发现肾损伤仍然比较困难。与此同时，尽管肾脏病治疗取得一定进展，但绝大多数疾病仍无法有效逆转或得到根治，最终不可避免地进展为终末期肾脏疾病（End-Stage Renal Disease，ESRD）。特别是常用于肾脏病治疗的激素和免疫抑制剂因其副作用大，临床应用受到很大限制。因此，积极寻找肾脏病早期诊断标志物和精准治疗新策略是肾脏病临

收稿日期：2022-05-23；**修回日期**：2022-06-08

基金项目：国家自然科学基金（82030024；81720108007）；国家重点研发计划（2018YFC1314000）

通讯作者：刘必成（1964-），男，江苏涟水人，博士生导师，主要从事糖尿病肾病诊断标志物及慢性肾脏病诊治新技术研究。

E-mail: liubc64@163.com

床亟待解决的问题。

各种原因引起的急慢性肾脏病进行性发展，其关键病理生理过程是肾组织受损后出现的炎症反应以及异常损伤修复导致的肾纤维化[4,5]。理解炎症反应形成和放大机制，可以为肾脏病防治提供新颖的策略和途径。细胞外囊泡（Extracellular Vesicles，EVs）是由细胞释放的纳米级磷脂双分子层结构，主要包括外泌体、微囊泡和凋亡小体[6]。早在上世纪80年代，EVs首先通过电子显微镜被观察到并被视为细胞的垃圾袋，用于清除胞内废物。直到本世纪初，一系列研究开始关注EVs在细胞间转移遗传信息并介导细胞间通讯的功能[7,8]。现有证据表明，EVs在肾脏炎症和纤维化的形成中发挥重要作用。损伤后的细胞分泌EVs增多并且其内容物也发生了改变[9]。更为有趣的是，EVs能够诱导细胞因子或趋化因子释放从而促进炎性细胞的募集。除了炎症介质外，受损细胞能够释放含有损伤相关分子模式（Damage Associated Molecular Patterns，DAMPs）的EVs启动炎症反应的发生[10]。进一步研究发现，EVs可通过其携带的TGF-β1 mRNA、CCL2 mRNA、miRNA-19b等，介导小管上皮细胞与巨噬细胞及成纤维细胞之间对话，进而促进其活化和增殖，导致肾脏炎症和纤维化的进展[11-14]。

在疾病状态下，体液如尿液中的EVs会携带特定的生物学信息，并能反映其亲代细胞表型和功能，使得EVs可能成为肾脏病“液体活检”的重要手段[15]。此外，EVs如“集装箱”一样的特性使得它们还可作为新一代药物递送载体，凭借其低免疫原性、无细胞毒性、天然的生物相容性等优点，为肾脏病精准治疗提供新策略[6,16]。本文我们将重点讨论EVs在肾脏病诊断及治疗中的应用进展。

1 EVs在肾脏病诊断中的应用

2004年，Pisitkun等[17]首次在尿液中采用超速离心法分离出EVs，并对其表面膜蛋白进行了鉴定。从那时起，越来越多的研究证实尿液EVs可能从肾单位的不同种类细胞中释放出来，其含有的特异性标记蛋白能够追溯尿液EVs的细胞来源。此外，尿液EVs的蛋白谱变化可以部分反映肾脏病变情况[18]。因此，尿液EVs在肾脏病诊断中具有潜在价值。

1.1 肾小管间质损伤

尿液EVs中携带的一些生物分子和肾小管间质炎症纤维化程度密切相关，对EVs中这些标记物的检测可以反映肾脏炎症纤维化进展的程度。通过对CKD患者尿液EVs进行基因筛查后发现，miR-29c及CD2AP mRNA与肾脏纤维化程度和肾脏功能呈正相关，可能对肾脏纤维化进展具有重要诊断价值[19,20]。基于前期发现肾小管上皮细胞（Tubular Epithelial Cells，TECs）释放的EVs CCL2 mRNA可直接转移至巨噬细胞、促进肾小管间质炎症，最近我们发现，IgA肾病（IgA Nephropathy，IgAN）患者尿液EVs中CCL2 mRNA表达与eGFR水平相关并能够预测肾功能的进展，可能成为IgAN预后监测的新型标志物[21]。

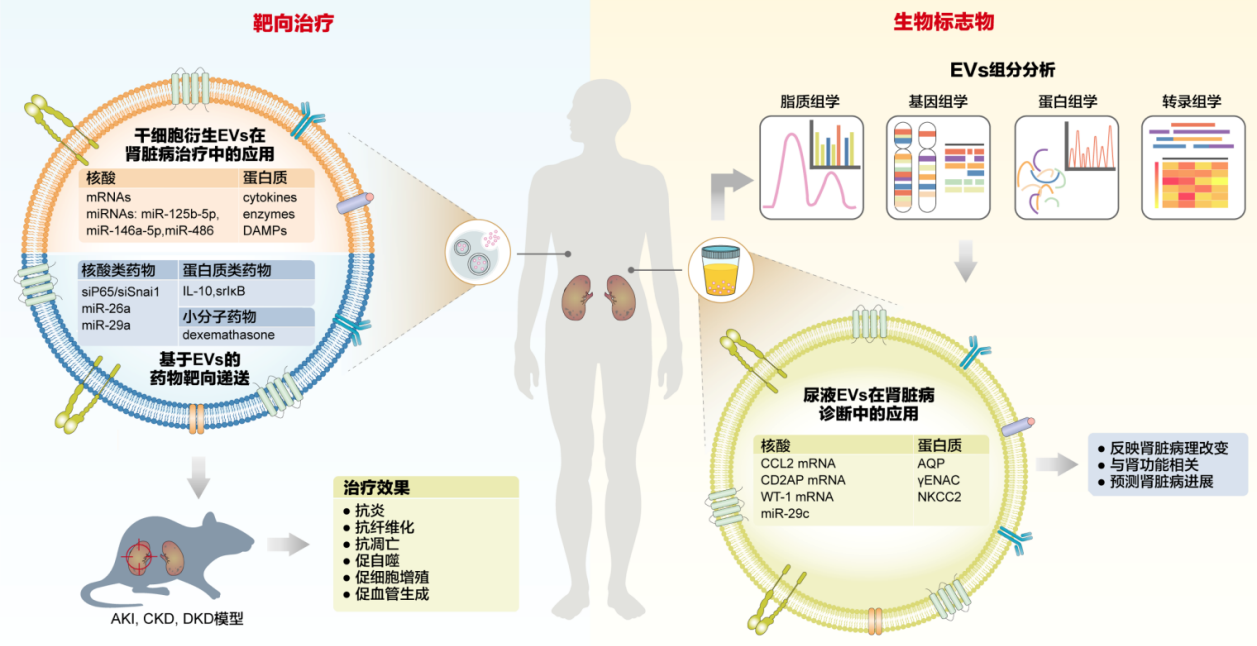
肾脏是调节机体水盐代谢的重要脏器。离子和水通道蛋白分布于不同节段的TECs中，在TECs损伤过程中，尿液EVs中这些离子和水转运蛋白也发生了相应的改变。例如，在顺铂和缺血/再灌注诱导的AKI大鼠模型中观察到尿液EVs中水通道蛋白（Aquaporin，AQP）表达下降，提示其对肾脏浓缩功能改变潜在的影响[22]。尿液EVs Na^+转运蛋白的水平也可能提示肾脏某些病理状况。对高血压患者进行饮食钠限制或急性醛固酮输注后肾素-血管紧张素-醛固酮系统（Renin-Angiotensin-Aldosterone System，RAAS）激活，使尿液EVs中上皮Na^+通道蛋白（Epithelial Sodium Channel，ENaC）含量增加近20倍，提示其可能成为监测RAAS激活的新颖手段[23]。此外，尿液EVs氯化钠协同转运蛋白（Na^+-Cl-Cotransporter，NCC）和呋塞米敏感的氯化钠钾协同转运蛋白（Na^+-K^+-2Cl-Cotransporter，NKCC2）显著降低已被用于区分遗传性失盐性肾小管病变的不同表型[24,25]。这些研究表明，尿液EVs中离子和水转运蛋白的改变可能反映肾小管的损伤。

1.2 肾小球损伤

除了反映肾小管间质损伤，尿液EVs还可反映肾小球损伤程度。早期研究中Wilms肿瘤蛋白1（Wilms Tumor Protein1，WT1）已被确定为足细胞表达的关键调节因子，而WT1靶基因对于维持肾小球滤过屏障至关重要[26]。与微小病变肾病患者对比，糖尿病肾病患者尿液EVs检测到显著增高的WT1 mRNA表达并且与eGFR下降相关，高表达的尿液EVs WT1 mRNA将糖尿病肾病患者与微小病变肾病患者区分开来[27]。此外，高血糖可以刺激WT1从足细胞释放至尿液EVs中，因此在尿液EVs检出WT1可以提示糖尿病患者足细胞早期损伤。与这些结果相一致，尿液EVs WT1被证实在局灶

性节段性肾小球硬化患者中可检测到，并且在动物模型中证实尿液EVs WT1的出现早于蛋白尿及肾小球组织学损伤，提示其可能成为早期诊断足细胞损伤的生物标志物[28]。最近有研究发现，尿液EVs中上皮特异性转录因子ELF3蛋白在糖尿病肾病患者中表达，而在微小病变型肾病患者中没有，尿液EVs ELF3可以预测糖尿病肾病患者未来几年eGFR的下降[29]。

综上所述，目前基于EVs的“液体活检”在肾脏病诊断中展现出良好的应用前景（见图1）。未来研究中，需要进一步探讨尿液样本分离、储存和处理的标准化[30]，加强EVs生物标志物在不同肾脏疾病中的诊断、预后和预测价值的大型队列研究，促进尿液EVs肾脏细胞溯源的技术研究。



基于EVs的靶向治疗策略：间充质干细胞来源的EVs携带生物分子如核酸、生长因子、细胞因子等可直接作为治疗药物；另一方面EVs可作为核酸类药物、蛋白质类药物及小分子药物的靶向递送载体。从尿液中分离的EVs携带来自亲代细胞的生物活性分子，这些分子与肾功能密切相关，有可能成为预测肾脏病理改变和疾病进展的重要“液体活检”手段。

图1　EVs在肾脏病诊断和治疗中的应用

2　EVs在肾脏病治疗中的应用

目前基于EVs的肾脏病疗法可分为两类：一是某些特定细胞如干细胞衍生的EVs因其携带的生物活性分子，可直接作为治疗药物；二是EVs可作为多种类型药物的递送载体用于肾脏病治疗[31,32]。

2.1　间充质干细胞衍生EVs在肾脏病治疗中的应用

2007年，Timmers等[33]首次证实人间充质干细胞的条件培养基对心肌具有保护作用，并通过尺寸分析证实其中起作用的主要是100~220 nm生物活性物质。该团队进一步在2010年对该物质进行分离鉴定，确定其为外泌体。此后，越来越多的研究证实了间充质干细胞来源的EVs（Mesenchymal Stem Cell-Derived Extracellular Vesicles，MSC-EVs）在组织损伤修复及免疫调节等方面发挥的重要作用，并开发了其在再生医学领域的治疗潜力。

2.1.1　急性肾损伤

AKI是一种常见的临床病症，尚无明确有效的治疗方法。近年来，干细胞EVs已被证实在AKI中起到抗凋亡、抗炎、抗氧化应激等治疗作用。最近，我们通过对人脐带间充质干细胞衍生的EVs进行测序发现，其中富含miR-125b-5p，并且可以通过靶向p53抑制TECs的G2/M细胞周期阻滞和凋亡，从而促进肾小管修复并改善缺血性AKI[34]。

Li等[35]发现，人尿来源的干细胞EVs可通过携带miR-146a-5p保护缺血再灌注大鼠的肾功能，其能够靶向作用于IL-1受体相关激酶-1（IL-1 Receptor-Associatedkinase，IRAK）的3′非翻译编

码区，进而抑制NF-κB信号通路的激活及炎症细胞浸润。近期有人对顺铂诱导的小鼠模型进行人骨髓来源的MSC-EVs（human Bone Marrow-Derived MSC-EVs，hBMSC-EVs）联合脉冲聚焦超声治疗，发现NLRP3炎性小体及其下游促炎细胞因子IL-1β和IL-18表达水平降低，从而促进了AKI后的肾脏修复[36]。这些研究提示MSC-EVs通过抗炎效应发挥AKI的治疗作用。

研究还发现，MSC-EVs还可以通过各种途径抑制I/R模型中的线粒体损伤，从而缓解AKI。人胎盘来源的MSC-EVs通过激活Keap1-Nrf2信号通路，刺激线粒体抗氧化防御机制以维持TECs线粒体结构稳定和调控线粒体功能，参与TECs损伤修复，从而促进肾脏功能恢复[37]。此外，有报道称MSCs-EVs能够通过线粒体转录因子A（Mitochondrial Transcription Factor A，TFAM）途径减少AKI后的线粒体损伤和炎症发生[38]。

2.1.2 慢性肾脏病

肾小管间质持续纤维化是CKD进展的重要病理表现。有学者发现在CKD大鼠中，hBMSC-EVs可通过其中富含的miR-294/miR-133抑制TGF-β1介导的上皮间质转化，从而缓解肾间质纤维化[39]。此外，在单侧输尿管梗阻小鼠中，肾源性间充质干细胞衍生的微粒能够改善肾脏中管周毛细血管稀疏，并通过抑制肾小管间质纤维化来延缓肾损伤的进展[40]。在最近的一项研究中，研究人员合成了一种生物支架，其集成了MSC-EVs、细胞外基质、聚乳酸-乙醇酸共聚物、聚脱氧核糖核苷酸等。该生物支架在部分肾切除小鼠模型中通过促进细胞增殖、血管生成及抑制纤维化和炎症实现了肾组织再生[41]。Eirin等[42]发现肾内注射脂肪来源的MSC-EVs改善了伴有代谢综合征和肾动脉狭窄疾病猪的肾脏炎症和纤维化，进一步研究证实，这些肾脏保护作用是通过MSC-EVs携带的抗炎细胞因子IL-10的载体介导的。

糖尿病肾病（Diabetic Kidney Disease，DKD）是终末期肾病的主要原因之一[3]。长期以来，没有针对DKD的特效药物，目前的治疗仅限于血糖控制、肾素-血管紧张素醛固酮系统的阻断和生活方式的改变[43]。MSC-EVs能够通过抗凋亡、抗纤维化、促自噬等促再生作用保护高糖诱导下的细胞损伤。Jin等[44]证实在DKD小鼠中，脂肪MSCs来源EVs携带的miR-486可以转移至足细胞，通过抑制足细胞Smad1/mTOR信号通路，导致自噬通量增加及细胞凋亡减少，进而改善DKD小鼠的足细胞损伤。此外，MSC-exos能够降低TGF-β的过表达从而改善糖尿病肾病小鼠的小管间质纤维化，并通过调节粘附分子ICAM-1的表达来抑制炎症细胞浸润，从而减轻糖尿病肾损伤[45]。

最近，在一项单中心、随机、安慰剂对照的Ⅱ/Ⅲ期临床试验中，研究者对CKD Ⅲ期和Ⅳ期患者注射两剂MSC-EVs，结果显示治疗组患者肾脏炎症及肾功能被有效改善，为应用MSC-EVs治疗CKD提供了重要的临床证据，遗憾的是，该研究未对其机制以及相关肾脏病理类型进行研究[46]。显然，进一步对此加强研究具有十分重要的临床意义。

2.2 基于EVs的药物靶向递送在肾脏病治疗中的应用

2010年，Sun等[47]首次将具有抗炎和抗氧化效应的姜黄素包裹在EVs中用于小鼠脓毒症治疗并取得了良好的治疗效果。此后，基于EVs载体的靶向药物研发持续升温。现有研究提示，EVs可成功装载多种类型药物如核酸类药物、蛋白类药物及小分子药物用于肾脏病治疗。

2.2.1 EVs作为核酸类药物载体

各种类型的核酸是EVs中的主要内容物，因此将EVs作为核酸药物的递送载体引起人们广泛的兴趣。已有研究表明，EVs可以装载运送mRNA、miRNA、小干扰RNA（siRNA）等核酸用于疾病治疗[48]。其中siRNA治疗在人类疾病治疗中显示出巨大潜力，然而因其不稳定性和脱靶效应，RNA干扰技术的临床应用受到了限制。新近，我们成功开发了一种基于红细胞衍生EVs的siRNA递送系统，利用肾损伤分子-1靶向多肽LTH修饰REVs，成功将siP65和siSNAI1递送至损伤肾小管，有效改善了缺血再灌注和单侧输尿管梗阻诱导的肾小管间质炎症和纤维化，并阻断AKI的慢性进展[49]。此外，我们还利用肌肉靶向多肽修饰的EVs并装载miR-26a，显著改善了5/6肾切除CKD小鼠的肌肉减少症[50]。将EVs与一种肾脏靶向肽——狂犬病病毒糖蛋白肽（Rabies Virus Glycoprotein，RVG）结合，并对其装载miR-29a，不仅能够减轻单侧输尿管梗阻小鼠的肌少症，还可通过EVs介导的骨骼肌和肾脏器官的通讯来改善肾脏纤维化[51]。因此，基于EVs的核酸药物靶向治疗不仅能够延缓肾脏病进展还能改善其并发症。

2.2.2 EVs作为蛋白类药物载体

蛋白质缺乏和功能障碍是许多疾病的重要原因。因此，提高相应的蛋白质水平是治疗疾病的方法之一。然而，蛋白质类药物本身具有分子量大、稳定性差等缺点，限制了其临床应用，而EVs的装载性能和可修饰性为这一领域带来了曙光。最近，我们以巨噬细胞源性EVs为载体，构建了细胞因子IL-10递送系统（IL-10$^+$ EVs），EVs的装载不仅提高了IL-10的稳定性，同时还显示了独特的靶向损伤肾脏的能力。进一步的机制研究发现，IL-10$^+$ EVs可通过抑制mTOR信号通路活化促进TECs线粒体自噬，显著改善了缺血再灌注诱导的肾损伤及其慢性病变[52]。Kim等[53]利用一种新型的光基因工程技术将NF-κB的抑制蛋白srIκB载入EVs，也有效改善了缺血后肾脏中的炎症反应和细胞凋亡。

2.2.3 EVs作为小分子药物载体

研究发现，EVs的包封和递送能够提高小分子药物的靶向性、细胞的摄取效率，提高药物稳定性并减少毒副作用[54,55]。近期，我们通过构建M2型巨噬细胞衍生的EVs装载地塞米松（Dexamethasone，DEX），发现其不仅可靶向到达损伤肾脏，起到有效的抗炎和抗纤维化作用，同时还显著减轻DEX对小鼠血糖和下丘脑-垂体-肾上腺轴的不良影响[56]。

基于EVs的无细胞疗法良好的生物相容性、低免疫原性、可修饰性等优势，近年来它已经成为下一代靶向给药的重要载体而受到广泛关注（见图1）。目前仍需要解决的问题有：生产可重复、大规模、高通量且符合临床应用级别的EVs；选择合适的亲代细胞，建立细胞工厂、生物反应器、中空纤维管等培养系统，实现大规模扩增生产[57]；建立适合于大规模生产的标准化EVs分离技术，开发高通量检测平台，对EVs的生产过程进行质量控制并能实现单颗粒水平的质量监控，从而进一步实现标准化质控，提高载药效率。

3 总结

过去二十年里，EVs研究取得了快速的发展。越来越多的临床前研究表明，基于EVs的生物标志物及其相关治疗技术在肾脏病诊治中具有巨大潜力，为其临床应用奠定了基础。进一步加强EVs在肾脏病诊疗中作用的基础和临床研究，开发标准化、临床级EVs的分离、提纯以及质量控制，加强临床队列研究，必将为EVs的临床转化应用提供技术支撑。

参 考 文 献

[1] AMERICAN SOCIETY OF NEPHROLOGY. The hidden epidemic: worldwide, over 850 million people suffer from kidney diseases[EB/OL]. (2018-06-27) [2022-05-10]. https://www. asn-online. org/about/press/releases/ASN_PR_20180627_Final6.26.18Press_E.pdf.

[2] RONCO C, BELLOMO R, KELLUM J A. Acute kidney injury[J]. Lancet, 2019, 394(10212): 1949-1964.

[3] GBD CHRONIC KIDNEY DISEASE COLLABORATION. Global, regional, and national burden of chronic kidney disease, 1990-2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017[J]. Lancet, 2020, 395(10225): 709-733.

[4] LIU B C, TANG T T, LV L L, et al. Renal tubule injury: a driving force toward chronic kidney disease[J]. Kidney Int, 2018, 93(3): 568-579.

[5] WEN Y, YAN H R, WANG B, et al. Macrophage heterogeneity in kidney injury and fibrosis[J]. Front Immunol, 2021, 12: 681748.

[6] KALLURI R, LEBLEU V S. The biology, function, and biomedical applications of exosomes[J]. Science, 2020, 367(6478): eaau6977.

[7] PAN B T, JOHNSTONE R M. Fate of the transferrin receptor during maturation of sheep reticulocytes in vitro: selective externalization of the receptor[J]. Cell, 1983, 33 (3): 967-978.

[8] 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]. J Biol Chem, 1987, 262(19): 9412-9420.

[9] NIELSEN C T, OSTERGAARD O, STENER L, et al. Increased IgG on cell-derived plasma microparticles in systemic lupus erythematosus is associated with autoantibodies and complement activation[J]. Arthritis Rheum, 2012, 64(4): 1227-1236.

[10] LV L L. Role of extracellular vesicles in renal inflammation and fibrosis[J]. Adv Exp Med Biol, 2019, 1165: 455-466.

[11] BORGES F T, MELO S A, OZDEMIR B C, et al. TGF-beta1-containing exosomes from injured epithelial cells activate fibroblasts to initiate tissue regenerative responses and fibrosis[J]. J Am Soc Nephrol, 2013, 24(3):

385-392.

[12] LIU X, MIAO J, WANG C, et al. Tubule-derived exosomes play a central role in fibroblast activation and kidney fibrosis[J]. Kidney Int, 2020, 97(6): 1181-1195.

[13] LV L L, FENG Y, WEN Y, et al. Exosomal CCL2 from tubular epithelial cells is critical for Albumin-Induced tubulointerstitial inflammation[J]. J Am Soc Nephrol, 2018, 29(3): 919-935.

[14] LV L L, FENG Y, WU M, et al. Exosomal miRNA-19b-3p of tubular epithelial cells promotes M1 macrophage activation in kidney injury[J]. Cell Death Differ, 2020, 27 (1): 210-226.

[15] MERCHANT M L, ROOD I M, DEEGENS J, et al. Isolation and characterization of urinary extracellular vesicles: implications for biomarker discovery[J]. Nat Rev Nephrol, 2017, 13(12): 731-749.

[16] ELAHI F M, FARWELL D G, NOLTA J A, et al. Preclinical translation of exosomes derived from mesenchymal stem/stromal cells[J]. Stem Cells, 2020, 38 (1): 15-21.

[17] PISITKUN T, SHEN R F, KNEPPER M A. Identification and proteomic profiling of exosomes in human urine[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2004, 101(36): 13368-13373.

[18] ZHOU H, PISITKUN T, APONTE A, et al. Exosomal Fetuin-A identified by proteomics: a novel urinary biomarker for detecting acute kidney injury[J]. Kidney Int, 2006, 70(10): 1847-1857.

[19] LV L L, CAO Y H, NI H F, et al. MicroRNA-29c in urinary exosome/microvesicle as a biomarker of renal fibrosis[J]. Am J Physiol Renal Physiol, 2013, 305(8): F1220-F1227.

[20] LV L L, CAO Y H, PAN M M, et al. CD2AP mRNA in urinary exosome as biomarker of kidney disease[J]. Clin Chim Acta, 2014, 428: 26-31.

[21] FENG Y, LV L L, WU W J, et al. Urinary exosomes and exosomal CCL2 mRNA as biomarkers of active histologic injury in IgA nephropathy[J]. Am J Pathol, 2018, 188(11): 2542-2552.

[22] ASVAPROMTADA S, SONODA H, KINOUCHI M, et al. Characterization of urinary exosomal release of aquaporin-1 and -2 after renal ischemia-reperfusion in rats [J]. Am J Physiol Renal Physiol, 2018, 314(4): F584-F601.

[23] QI Y, WANG X, ROSE K L, et al. Activation of the endogenous Renin-Angiotensin-Aldosterone system or aldosterone administration increases urinary exosomal sodium channel excretion[J]. J Am Soc Nephrol, 2016, 27 (2): 646-656.

[24] GONZALES P A, PISITKUN T, HOFFERT J D, et al. Large-scale proteomics and phosphoproteomics of urinary exosomes[J]. J Am Soc Nephrol, 2009, 20(2): 363-379.

[25] CORBETTA S, RAIMONDO F, TEDESCHI S, et al. Urinary exosomes in the diagnosis of Gitelman and Bartter syndromes[J]. Nephrol Dial Transplant, 2015, 30 (4): 621-630.

[26] DONG L, PIETSCH S, ENGLERT C. Towards an understanding of kidney diseases associated with WT1 mutations[J]. Kidney Int, 2015, 88(4): 684-690.

[27] ABE H, SAKURAI A, ONO H, et al. Urinary exosomal mRNA of WT1 as diagnostic and prognostic biomarker for diabetic nephropathy[J]. J Med Invest, 2018, 65(3.4): 208-215.

[28] ZHOU H, CHERUVANKY A, HU X, et al. Urinary exosomal transcription factors, a new class of biomarkers for renal disease[J]. Kidney Int, 2008, 74(5): 613-621.

[29] SAKURAI A, ONO H, OCHI A, et al. Involvement of Elf3 on Smad3 activation-dependent injuries in podocytes and excretion of urinary exosome in diabetic nephropathy [J]. Plos One, 2019, 14(5): e0216788.

[30] ARMSTRONG D A, DESSAINT J A, RINGELBERG C S, et al. Preanalytical handling conditions and small RNA recovery from urine for miRNA profiling[J]. J Mol Diagn, 2018, 20(5): 565-571.

[31] HERRMANN I K, WOOD M, FUHRMANN G. Extracellular vesicles as a next-generation drug delivery platform[J]. Nat Nanotechnol, 2021, 16(7): 748-759.

[32] VARDERIDOU-MINASIAN S, LORENOWICZ M J. Mesenchymal stromal/stem cell-derived extracellular vesicles in tissue repair: challenges and opportunities[J]. Theranostics, 2020, 10(13): 5979-5997.

[33] TIMMERS L, LIM S K, ARSLAN F, et al. Reduction of myocardial infarct size by human mesenchymal stem cell conditioned medium[J]. Stem Cell Res, 2007, 1(2): 129-137.

[34] 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.

[35] LI X, LIAO J, SU X, et al. Human urine-derived stem cells protect against renal ischemia/reperfusion injury in a rat model via exosomal miR-146a-5p which targets IRAK1[J]. Theranostics, 2020, 10(21): 9561-9578.

[36] ULLAH M, LIU D D, RAI S, et al. HSP70-Mediated

NLRP3 inflammasome suppression underlies reversal of acute kidney injury following extracellular vesicle and focused ultrasound combination therapy[J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(11): 4085.

[37] CAO H, CHENG Y, GAO H, et al. In vivo tracking of mesenchymal stem Cell-Derived extracellular vesicles improving mitochondrial function in renal Ischemia-Reperfusion injury[J]. ACS Nano, 2020, 14(4): 4014-4026.

[38] ZHAO M, LIU S, WANG C, et al. Mesenchymal stem Cell-Derived extracellular vesicles attenuate mitochondrial damage and inflammation by stabilizing mitochondrial DNA[J]. ACS Nano, 2021, 15(1): 1519-1538.

[39] WANG Y, GUO Y F, FU G P, et al. Protective effect of miRNA-containing extracellular vesicles derived from mesenchymal stromal cells of old rats on renal function in chronic kidney disease[J]. Stem Cell Res Ther, 2020, 11 (1): 274.

[40] CHOI H Y, LEE H G, KIM B S, et al. Mesenchymal stem cell-derived microparticles ameliorate peritubular capillary rarefaction via inhibition of endothelial-mesenchymal transition and decrease tubulointerstitial fibrosis in unilateral ureteral obstruction[J]. Stem Cell Res Ther, 2015, 6: 18.

[41] KO K W, PARK S Y, LEE E H, et al. Integrated bioactive scaffold with polydeoxyribonucleotide and Stem-Cell-Derived extracellular vesicles for kidney regeneration[J]. ACS Nano, 2021, 15(4): 7575-7585.

[42] EIRIN A, ZHU X Y, PURANIK A S, et al. Mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles attenuate kidney inflammation[J]. Kidney Int, 2017, 92(1): 114-124.

[43] DECLEVES A E, SHARMA K. New pharmacological treatments for improving renal outcomes in diabetes[J]. Nat Rev Nephrol, 2010, 6(6): 371-380.

[44] JIN J, SHI Y, GONG J, et al. Exosome secreted from adipose-derived stem cells attenuates diabetic nephropathy by promoting autophagy flux and inhibiting apoptosis in podocyte[J]. Stem Cell Res Ther, 2019, 10 (1): 95.

[45] NAGAISHI K, MIZUE Y, CHIKENJI T, et al. Mesenchymal stem cell therapy ameliorates diabetic nephropathy via the paracrine effect of renal trophic factors including exosomes[J]. Sci Rep, 2016, 6: 34842.

[46] NASSAR W, EL-ANSARY M, SABRY D, et al. Umbilical cord mesenchymal stem cells derived extracellular vesicles can safely ameliorate the progression of chronic kidney diseases[J]. Biomater Res, 2016, 20: 21.

[47] SUN D, ZHUANG X, XIANG X, et al. A novel nanoparticle drug delivery system: the anti-inflammatory activity of curcumin is enhanced when encapsulated in exosomes[J]. Mol Ther, 2010, 18(9): 1606-1614.

[48] O'BRIEN K, BREYNE K, UGHETTO S, et al. RNA delivery by extracellular vesicles in mammalian cells and its applications[J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2020, 21(10): 585-606.

[49] TANG T T, WANG B, LI Z L, et al. Kim-1 targeted extracellular vesicles: a new therapeutic platform for RNAi to treat AKI[J]. J Am Soc Nephrol, 2021, 32(10): 2467-2483.

[50] WANG B, ZHANG A, WANG H, et al. MiR-26a limits muscle wasting and cardiac fibrosis through Exosome-Mediated microRNA transfer in chronic kidney disease [J]. Theranostics, 2019, 9(7): 1864-1877.

[51] WANG H, WANG B, ZHANG A, et al. Exosome-Mediated miR-29 transfer reduces muscle atrophy and kidney fibrosis in mice[J]. Mol Ther, 2019, 27(3): 571-583.

[52] TANG T T, WANG B, WU M, et al. Extracellular vesicle-encapsulated IL-10 as novel nanotherapeutics against ischemic AKI[J]. Sci Adv, 2020, 6(33): eaaz0748.

[53] KIM S, LEE S A, YOON H, et al. Exosome-based delivery of super-repressor IkappaBalpha ameliorates kidney ischemia-reperfusion injury[J]. Kidney Int, 2021, 100(3): 570-584

[54] HERRMANN I K, WOOD M, FUHRMANN G. Extracellular vesicles as a next-generation drug delivery platform[J]. Nat Nanotechnol, 2021, 16(7): 748-759.

[55] WITWER K W, WOLFRAM J. Extracellular vesicles versus synthetic nanoparticles for drug delivery[J]. Nat Rev Mater, 2021, 6(2): 103-106.

[56] TANG T T, LV L L, WANG B, et al. Employing Macrophage-Derived microvesicle for Kidney-Targeted delivery of dexamethasone: an efficient therapeutic strategy against renal inflammation and fibrosis[J]. Theranostics, 2019, 9(16): 4740-4755.

[57] GRANGIER A, BRANCHU J, VOLATRON J, et al. Technological advances towards extracellular vesicles mass production[J]. Adv Drug Deliv Rev, 2021, 176: 113843.