

外泌体在组织工程中的研究进展

刘纪娜, 梁云云, 杨宇民, 赵亚红*

南通大学, 教育部/江苏省神经再生重点实验室/神经再生协同创新中心, 江苏 南通

收稿日期: 2021年9月16日; 录用日期: 2021年10月18日; 发布日期: 2021年10月25日

摘要

从细胞释放的外泌体, 以膜包围的细胞外囊泡的形式, 传递蛋白质和核酸, 在细胞间通讯中起着至关重要的作用。外泌体的治疗潜力几乎是无限的, 特别是从各种组织细胞中收获的外泌体不会引起宿主自身免疫反应, 使得外泌体在组织工程移植手术和移植物抗宿主疾病的治疗中, 提供了希望。然而, 在移植后, 维持外泌体随时间的保留和稳定性是外泌体应用的主要挑战。将基于外泌体的递送与多种组织工程材料相结合, 不仅可以将外泌体有效负载, 而且能有效的将外泌体持久保留在组织缺损部位, 满足外泌体高效的停留和持续释放, 并为组织再生提供理想的微环境。开发外泌体与各种形式的组织工程支架为组合的无细胞系统, 有望用作生物实体, 潜在地促进新的生物功能支架的开发, 为组织再生提供了有希望的策略。

关键词

外泌体, 组织工程, 生物材料

The Research Progress of Exosomes in Tissue Engineering

Jina Liu, Yunyun Liang, Yumin Yang, Yahong Zhao*

Key Laboratory of Neuroregeneration of Jiangsu and Ministry of Education; Co-Innovation Center of Neuroregeneration; Nantong University, Nantong Jiangsu

Received: Sep. 16th, 2021; accepted: Oct. 18th, 2021; published: Oct. 25th, 2021

Abstract

Exosomes are extracellular vesicles surrounded by membrane released by nearly all cell types. It has been demonstrated that exosomes transfer proteins and nucleic acids via their cargo and play

*通讯作者。

文章引用: 刘纪娜, 梁云云, 杨宇民, 赵亚红. 外泌体在组织工程中的研究进展[J]. 生物过程, 2021, 11(4): 85-91.

DOI: 10.12677/bp.2021.114010

a critical role in intracellular communication. Exosomes are almost universal and exosomes harvested from all tissues and cells do not induce autoimmune responses, offering a promising therapeutic option in tissue engineering transplant surgery and the treatment of graft-versus-host disease. However, the main challenge for exosomes application is the maintenance of efficiency and stability of exosomes after transplantation *in vivo*. The combination of exosomes delivery and tissue engineering based materials can not only carry exosomes, but also effectively retain exosomes in the defect sites of tissue and release for a long time, which provide an ideal microenvironment for tissue regeneration. The development of cell-free systems combining exosomes with various forms of tissue-engineered scaffolds is expected to be used as biological entities, promoting the development of new biofunctional scaffolds and providing promising strategies for tissue regeneration.

Keywords

Exosomes, Tissue Engineering, Biomaterials

Copyright © 2021 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

组织工程学是根据细胞生物学和工程学的原理,将正常具有特定生物学活性的组织细胞与生物材料相结合,在体外或体内构建组织和器官,以维持、修复、再生或改善损伤组织和器官功能的一门科学。组织工程主要致力于组织和器官的形成和再生,它的提出、建立和发展被誉为医学领域中组织、器官缺损和功能障碍传统治疗方法和模式的一次革命,标志着医学将走出组织器官移植的范畴,步入制造组织和器官的新时代[1][2]。组织工程在人体组织修复的多个领域都有着重要应用,组织工程技术促使传统移植的医疗模式革命到一种制造和再生的新时代。

几十年来,组织工程学一直是再生医学的重要领域,但其仍然存在一定的局限性。通过将外泌体与组织工程结合在一起能有效地解决此类问题。研究表明,包括所有真核生物和原核生物在内的细胞均可以将外泌体释放到细胞外环境中,识别各种靶细胞调控不同的生物发生[3]。外泌体起源于细胞的多囊泡分裂,既不自我复制也不会引起宿主自身免疫反应,具有很高的治疗前景,近年来其研究已经取得了很大进展。

2. 外泌体的定义

2.1. 定义

由细胞产生的囊泡被称为细胞外囊泡(EV),其具有膜结构,可以介导远距离的细胞间通讯。根据细胞间起源,主要有三种主要类型的细胞外囊泡:第一种细胞外囊泡是大小在 50 nm 到 5 μ m 之间的凋亡小体。第二种细胞外囊泡被称为微泡或质膜衍生的囊泡,大小范围为 50 nm 到 1 μ m。最后也是最重要的一种分泌型细胞外囊泡,大小范围 30~150 nm,称作外泌体[4]。

外泌体是由 P. Stahl 和 R. Johnstone 首次发现的,他们观察到成熟大鼠和绵羊红细胞中有小球排出到细胞外基质,这种“小球”被称为外泌体。一般来说,外泌体实际上由所有类型的真核细胞释放,并广泛存在于大多数体液中,如母乳、脑脊液、唾液、外周血、腹水、尿液和几乎所有其他体液中[5]。外泌

体的膜成分允许它们与受体细胞融合并释放其内容物，从而将内容物输送到靶器官。大量研究证明了外泌体不仅参与细胞间通讯，而且参与许多重要的生物学过程。

2.2. 结构和组成

外泌体是双膜囊泡，并且根据细胞来源的不同而具有不同的性质。外泌体的磷脂双层膜中嵌入了许多蛋白质和脂质，这些蛋白质和脂质被认为是由亲代细胞进化而来的。四跨膜蛋白 CD9、CD63 和 CD81 以及肿瘤易感基因 101 蛋白(TSG101)在外泌体膜上高度富集，因此被视为外泌体的管家标记[6]。

外泌体由不同的生物分子组成，例如蛋白质，脂质，mRNA 和 miRNA 等，这些分子可以传递给细胞进行组织修复和再生。外泌体内不仅存在膜转运蛋白，还存在融合蛋白(GTPases, flotilin, Annexins)，热休克蛋白(Hsc70, Hsc90)以及脂质相关蛋白和磷脂酶[7]。此外还发现，外泌体中存在高水平的鞘磷脂和磷脂酰肌醇，确保了它们在许多不同 pH 值的生物流体中具有更好的稳定性，从而避免被分解或降解。外泌体还包含许多参与信号转导的分子，如 β -连环蛋白 ADP-核糖基化因子(ARF) 1、表皮生长因子受体(EGFR)、粘蛋白 1 (MUC1)、磷脂酰肌醇 3-激酶(P13K)、鸟嘌呤核苷酸结合 G 蛋白(G 蛋白)和细胞分裂控制蛋白 42 (CDC42) [8]。这些生物分子的结构和组成成分都与外泌体的功能息息相关。

2.3. 分离和鉴定

外泌体可通过多种方法从细胞上清培养液和体液中分离出来，例如差速离心法，超速离心法，密度梯度离心法，免疫磁珠法和色谱法等。分离外泌体的新方法还包括纳米级横向位移阵列，纳米级确定性横向位移和 ExtraPEG (一种基于聚乙二醇(PEG)的方法) [9]。

外泌体的鉴定可以从形态，粒径和标记蛋白等方面进行，不同的鉴定方法具有各自不同的特点[10]。用电子显微镜进行鉴定是最常见的方法，可以用来确定外泌体的大小和形状；其他方法作为外泌体鉴定的辅助方法。具体的鉴定方法包括扫描电子显微镜，原子力显微镜，冷冻断裂电子显微镜，纳米颗粒追踪技术，透射电子显微镜，动态光散射(Dynamic Light Scattering, DLS)，流式细胞仪，蛋白质印迹和酶联免疫吸附测定。

3. 外泌体的功能

外泌体的治疗可能性似乎是无限的，包括 RNA 干扰(RNAi)治疗，药物传递系统，以及作为疾病的生物标志物[6]。在癌症治疗中，外泌体经常被用作药物输送载体或用作筛查工具，外泌体是递送抗肿瘤剂，miRNA, siRNA 和各种其他生物分子的理想候选者[11]。除了用于治疗癌症，外泌体还可以用于治疗其他几种炎症性疾病，例如神经退行性疾病、关节炎、动脉粥样硬化和糖尿病等。除此之外，通过运输和交换信号分子，外泌体在治疗心血管疾病和中枢神经疾病中发挥着至关重要的作用。

4. 外泌体与组织工程

外泌体已被认为是各种疾病的无细胞治疗的新候选人，然而，在移植后，维持外泌体在体内随时间的保留和稳定性是外泌体应用的主要挑战。目前，有很多研究应用了水凝胶，纳米粒子，支架和导管等不同形式的组织工程材料与外泌体相结合，用以进行不同组织的修复与再生，包括骨组织再生，皮肤伤口愈合，血管生成和周围神经再生等。

4.1. 外泌体与骨组织工程

有研究开发了一种光诱导亚胺交联水凝胶作为外泌体支架，将来自多能干细胞系的外泌体封装在其中，制备用于软骨再生的脱细胞组织补片(脱细胞组织补片, EHG)，该水凝胶具有良好的操作能力、生

物相容性和最重要的软骨整合性。结果发现, EHG 水凝胶有效地保留了水凝胶中的外泌体, 并在软骨缺损部位有效地传递了 EHG 外泌体, 对软骨细胞和 hBMSCs 均有正向调节作用。EHG 能与软骨基质结合, 促进软骨缺损部位细胞沉积, 促进软骨缺损修复, 证明了该组织补片在再生医学中的治疗效果[12]。

从人脂肪干细胞(hASCs)中提取出外泌体, 将其固定在涂有聚多巴胺的 PLGA 支架(PLGA/pDA)上, 构建一种新型的无细胞组织工程骨支架[13]。试验表明外泌体可以缓慢而均匀地从 PLGA/pDA 支架中释放出来, 通过其骨诱导作用和促进间充质干细胞在新形成的骨组织中迁移和归巢的能力, 从而增强骨再生能力。体外和体内研究表明, 结合外泌体和 PLGA/pDA 支架组成的新型无细胞系统, 是一种很有前途的骨组织工程无细胞系统。

开发 BMSCs 来源的外泌体通过单宁酸(TA)修饰的磺化聚醚醚酮(SPEEK)与生物大分子的强相互作用可逆地结合在一起形成功能化种植体, 通过免疫调节加速骨整合。SPEEK 缓慢释放的外泌体可被共培养细胞吞噬, 从而有效提高 SPEEK 的生物相容性。体外实验结果显示, 负载 SPEEK 的外泌体通过 NF- κ B 途径促进巨噬细胞向 M2 型极化, 增强 BMSCs 成骨分化。进一步对体内大鼠气囊模型和大鼠股骨钻孔模型评估, 外泌体负载 SPEEK 后, 结果显示巨噬细胞向 M2 型有效极化, 并形成理想的新骨和令人满意的骨整合效果。因此, 骨髓间充质干细胞衍生的外显骨功能化种植体具有骨免疫调节, 促进成骨作用[14]。

4.2. 外泌体与皮肤组织工程

Shi 等人采用冷冻干燥法制备了壳聚糖/丝基水凝胶海绵, 并从牙龈间充质干细胞(GMSCs)中分离出外泌体, 然后将它们装载到壳聚糖/蚕丝水凝胶海绵中, 以评估这种新型无创方法对糖尿病大鼠皮肤缺损的影响。制备的壳聚糖/蚕丝水凝胶具有良好的溶胀和保湿性能, 牙龈间充质干细胞来源的外泌体联合水凝胶可通过促进胶原蛋白的再上皮化、沉积和重塑、促进血管生成和神经元长入, 有效促进糖尿病大鼠皮肤创面愈合。这些发现不仅为外泌体在创伤愈合中的作用提供了新的信息, 而且为外泌体在皮肤修复中的应用提供了一种新的无创方法, 具有实用价值[15]。

有研究将人脐带间充质干细胞(hUCMSCs)来源的外泌体包裹在双敏感水凝胶中, 双敏水凝胶由泊洛沙姆(P407)和壳聚糖衍生物羧甲基壳聚糖(CMCS)组成, 与天然无毒交联剂京尼平(GP)进行交联反应形成温度、PH 双敏水凝胶。双敏水凝胶对人脐带间充质干细胞来源的外泌体有很好的装载性能, 可以持续释放外泌体。同时水凝胶良好的流动性和快速原位凝胶功能, 提高了创面形状的适应性; 适当的水凝胶粘度特性保证了其对创面组织的粘附能力和长期形成保护层的能力; 水凝胶内部精细的网状微结构促进了吸水性、透气性, 保持了创面湿润; 水凝胶还具有降解性, 覆盖材料残留量少, 换药方便, 无二次损伤等特点。将包裹 hUCMSCs 来源外泌体的双敏水凝胶应用于皮肤的伤口, 探索皮肤组织再生的效果, 组织学方法包括 HE 染色和马森三色染色观察伤口关闭率、组织愈合、胶原沉积, 免疫组化方法检测 TNF- α 和 IL-16 的抗炎作用。结果发现负载外泌体的水凝胶显著改善了伤口的闭合、组织愈合率、创面胶原沉积等情况, 并且在负载外泌体的水凝胶治疗的创伤中发现了更多的皮肤附属物。所有数据表明, 与其他治疗方法相比, 负载外泌体的双敏感水凝胶能够促进伤口愈合过程, 减少炎症反应, 为皮肤伤口的完全再生提供了新的途径[16]。

4.3. 外泌体与血管组织工程

将人胎盘来源的间充质干细胞(MSC)来源的外泌体与壳聚糖水凝胶结合, 研究发现壳聚糖水凝胶显著提高了外泌体中蛋白质和 miRNA 的稳定性, 并增强了外泌体在体内的保留。此外, 评估了内皮保护和体外水凝胶外泌体促进血管生成的能力。同时, 评估了水凝胶结合的外泌体在小鼠后肢缺血模型中的治疗功能。研究数据表明, 在热敏壳聚糖水凝胶中对外泌体进行封装可以强化分离出的外泌体在体内稳定

性,在体外和体内(小鼠后肢缺血模型)条件下,水凝胶中递送的外泌体可以更好地诱导血管生成,进一步增强后肢缺血的治疗效果[17]。

从人脐带间充质干细胞上清液中分离出的含有 miRNA-675 的外泌体与超声处理的丝素蛋白溶液混合,可以形成外泌体丝素蛋白水凝胶[18]。丝素蛋白水凝胶以持续的方式释放外泌体,并观察到在功能障碍血管有血液灌注增加的现象。

4.4. 外泌体与神经组织工程

干细胞可以通过外泌体向其他细胞或神经元传递神经营养因子或微小核糖核酸,以促进周围神经修复。从分化的脂肪源性干细胞(ADSCs)中分离出的外泌体具有减少施万细胞凋亡的作用[19],而未分化的ADSCs 外泌体则可促进 NG108-15 细胞神经突的生长[20]。移植的干细胞在周围神经修复中的关键作用是神经营养因子的释放。所以,尽管没有活细胞连续释放神经营养因子,基于外泌体的疗法也可以释放神经营养因子,但仅限于短期作用。

有研究将人 MSC 来源的外泌体附着于粘性水凝胶递送到局部脊髓组织。为了使外泌体能够粘附在多孔水凝胶的三维表面,采用基于层粘连蛋白的粘附肽 PPFLMLLKSTR 对水凝胶进行修饰(pGel),然后粘附 MSC 来源的外泌体(Exo-pGel)。随后,采用损伤间隙为 4 ± 0.5 mm 的大跨度脊髓横断损伤模型评价 Exo-pGel 对 SCI 大鼠功能恢复及泌尿系统的保护作用,并对损伤脊髓组织不同区域的神经再生进行了研究。研究表明,pGel 在体外具有三维模拟细胞外基质保留和持续递送 MSC 外泌体的超群能力。植入的外泌体在宿主神经组织中表现出高效的停留和持续释放。Exo-pGel 植入可对微环境产生抗氧化、抗炎作用,并有效促进大鼠脊髓再生和运动功能恢复,进一步保护脊髓损伤后的泌尿组织免受神经源性损伤[21]。

Rao 等评估了来自牙龈间充质干细胞(GMSCs)的外泌体联合可生物降解甲壳素导管对周围神经再生的影响。从人牙龈组织中分离出 GMSCs,经表面抗原分析和体外多能分化鉴定,收集细胞上清分离外泌体。通过与施万细胞和背根神经节(DRG)共培养,评价外泌体对外周神经再生的影响。用可生物降解的甲壳素导管修复大鼠坐骨神经 10 mm 的缺损,利用组织学、电生理学和步态分析来评价外泌体对坐骨神经功能恢复的影响。研究结果显示外泌体能显著促进施万细胞增殖和 DRG 轴突延伸生长。体内研究表明,甲壳素导管与外泌体联合可显著增加神经纤维的数量和直径($p < 0.01$),促进髓鞘的形成,外泌体治疗组在 12 周显示出与自体移植组相当的神经纤维髓鞘形成和靶肌重量恢复。此外,肌肉功能、神经传导功能和运动功能也明显恢复。综上所述,该研究提示 GMSCs 来源的外泌体联合可生物降解甲壳素导管是一种有用的、新颖的外泌体治疗外周神经的方法[22]。

有研究将神经营养因子-3 (Neurotrophin-3, NT-3)的 mRNA 包裹于脂肪来源的干细胞(ADSC)来源的外泌体(ExoNT-3)中,后将 ExoNT-3 装入海藻酸盐凝胶中构建神经导管 (ExoNT-3-NGC),以桥接大鼠坐骨神经 10 mm 缺损。术后测定 NT-3 的表达,检测坐骨神经功能指数(SFI),通过形态学检测、再生神经免疫荧光染色、腓肠肌功能评价治疗效果。结果显示设计的外泌体能将 NT-3 mRNA 高效地传递给受体细胞,并转化为功能蛋白。构建的导管能够实现外泌体稳定持续释放 2 周以上,能显著促进神经再生,改善腓肠肌功能恢复。该研究方法可作为 NT-3 内源供应的有效途径,以 NT-3 包被外泌体作为腔内填充物的神经导管可促进神经再生,桥接大鼠坐骨神经缺损,为周围神经再生提供理想的微环境,为神经移植物的构建提供了一种新的策略[23]。

4.5. 外泌体与其他组织工程

Li 等构建了一个聚多巴胺纳米颗粒(PDNPs),由聚(乙二醇)-聚(ϵ -己内酯-丙交酯)(PELA)温度敏感水凝胶组成,并用它封装干细胞来源的外泌体。选择 PDNPs 作为生物相容性光声造影剂,而使用 PELA

水凝胶控制外泌体的释放。在这项研究中,聚多巴胺纳米颗粒(PDNPs)结合了聚(乙二醇)-聚(e-己内酯-丙交酯)(PDNPs-pela)热敏水凝胶,通过简单的原位聚合制备用于脂肪干细胞来源的外泌体(EXO)的腔内给药。水凝胶在体温下表现为溶胶-凝胶转变。此外,以聚乙二醇-聚己内酯-丙交酯(PELA)嵌段共聚物为模板的PDNPs原位聚合在凝胶体系中分散更稳定。将EXO封装到水凝胶中后,在两周内表现出缓释行为。体内动物实验表明,水凝胶释放的外泌体可促进内皮细胞和神经元的愈合,增加腔内压力,从而恢复勃起功能。特别是由于热敏凝胶中的PDNPs具有优异的光声性能,因此在实时光声成像的引导下,水凝胶可以准确地输送到白膜中。研究表明,制备的PDNPS-PELA作为ED治疗的可注射外泌体载体具有广阔的前景[24]。

5. 总结与展望

外泌体是包含有miRNA以及其他生物分子(如蛋白质、脂质、mRNA)的混合物,在细胞/组织通讯中具有重要作用。外泌体包含的生物分子的转移调节着受体细胞的生物学功能,最终影响组织再生。由于组织再生需要在不同时间介入多种生物分子,而单次使用外泌体很难使其再生潜力最大化,因此利用工程化生物材料控制外泌体释放能力可以协助组织再生过程。

将外泌体与各种形式的组织工程支架结合,不仅可以使外泌体有效负载,而且能有效的将外泌体持久保留在组织缺损部位,满足外泌体高效的停留和持续释放,提高了外泌体中蛋白质和核酸等内容物的稳定性,并为组织再生提供理想的微环境,有效发挥其修复作用,进一步提高其治疗效果,为组织工程领域组织损伤的修复提供了一种新的策略。

基金项目

国家自然科学基金重点研发计划项目(2017YFA0701300);国家自然科学基金面上项目(81701835、81671823);南通大学大学生创新创业训练计划(202010304031Z)。

参考文献

- [1] Sharma, P., Kumar, P., Sharma, R., Bhatt, V.D. and Dhot, P.S. (2019) Tissue Engineering; Current Status & Futuristic Scope. *Journal of Medicine and Life*, **12**, 225-229. <https://doi.org/10.25122/jml-2019-0032>
- [2] Bakhshandeh, B., Zarrintaj, P., Oftadeh, M.O., Keramati, F., Fouladiha, H., Sohrabi-Jahromi, S. and Ziraksaz, Z. (2017) Tissue Engineering; Strategies, Tissues, and Biomaterials. *Biotechnology & Genetic Engineering Reviews*, **33**, 144-172. <https://doi.org/10.1080/02648725.2018.1430464>
- [3] Kalluri, R. and LeBleu, V.S. (2020) The Biology, Function, and Biomedical Applications of Exosomes. *Science*, **367**, eaau6977. <https://doi.org/10.1126/science.aau6977>
- [4] Haraszti, R.A., Didiot, M.C., Sapp, E., Leszyk, J., Shaffer, S.A., Rockwell, H.E., Gao, F., Narain, N.R., DiFiglia, M., Kiebish, M.A., Aronin, N. and Khvorova, A. (2016) High-Resolution Proteomic and Lipidomic Analysis of Exosomes and Microvesicles from Different Cell Sources. *Journal of Extracellular Vesicles*, **5**, 32570. <https://doi.org/10.3402/jev.v5.32570>
- [5] Xu, R., Greening, D.W., Zhu, H.J., Takahashi, N. and Simpson, R.J. (2016) Extracellular Vesicle Isolation and Characterization: Toward Clinical Application. *The Journal of Clinical Investigation*, **126**, 1152-1162. <https://doi.org/10.1172/JCI81129>
- [6] Thery, C., Zitvogel, L. and Amigorena, S. (2002) Exosomes: Composition, Biogenesis and Function. *Nature Reviews. Immunology*, **2**, 569-579. <https://doi.org/10.1038/nri855>
- [7] Colombo, M., Raposo, G. and Thery, C. (2014) Biogenesis, Secretion, and Intercellular Interactions of Exosomes and Other Extracellular Vesicles. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*, **30**, 255-289. <https://doi.org/10.1146/annurev-cellbio-101512-122326>
- [8] Vlassov, A.V., Magdaleno, S., Setterquist, R. and Conrad, R. (2012) Exosomes: Current Knowledge of Their Composition, Biological Functions, and Diagnostic and Therapeutic Potentials. *Biochimica et Biophysica Acta*, **1820**, 940-948. <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2012.03.017>

- [9] Rider, M.A., Hurwitz, S.N. and Meckes, D.G. (2016) ExtraPEG: A Polyethylene Glycol-Based Method for Enrichment of Extracellular Vesicles. *Scientific Reports*, **6**, Article No. 23978. <https://doi.org/10.1038/srep23978>
- [10] Gurunathan, S., Kang, M.H., Jeyaraj, M., Qasim, M. and Kim, J.H. (2019) Review of the Isolation, Characterization, Biological Function, and Multifarious Therapeutic Approaches of Exosomes. *Cells*, **8**, 307. <https://doi.org/10.3390/cells8040307>
- [11] Azmi, A.S., Bao, B. and Sarkar, F.H. (2013) Exosomes in Cancer Development, Metastasis, and Drug Resistance: A Comprehensive Review. *Cancer and Metastasis Reviews*, **32**, 623-642. <https://doi.org/10.1007/s10555-013-9441-9>
- [12] Liu, X.L., Yang, Y.L., Li, Y., Niu, X., Zhao, B.Z., Wang, Y., Bao, C.Y., Xie, Z.P., Lin, Q.N. and Zhu, L.Y. (2017) Integration of Stem Cell-Derived Exosomes with *in Situ* Hydrogel Glue as a Promising Tissue Patch for Articular Cartilage Regeneration. *Nanoscale*, **9**, 4430-4438. <https://doi.org/10.1039/C7NR00352H>
- [13] Li, W.Y., Liu, Y.S., Zhang, P., Tang, Y.M., Zhou, M., Jiang, W.R., Zhang, X., Wu, G. and Zhou, Y.S. (2018) Tissue-Engineered Bone Immobilized with Human Adipose Stem Cells-Derived Exosomes Promotes Bone Regeneration. *ACS Applied Materials & Interfaces*, **10**, 5240-5254. <https://doi.org/10.1021/acsami.7b17620>
- [14] Fan, L., Guan, P.F., Xiao, C.R., Wen, H.Q., Wang, Q.Y., Liu, C., Luo, Y.A., Ma, L.M., Tan, G.X., Yu, P., Zhou, L. and Ning, C.Y. (2021) Exosome-Functionalized Polyetheretherketone-Based Implant with Immunomodulatory Property for Enhancing Osseointegration. *Bioactive Materials*, **6**, 2754-2766. <https://doi.org/10.1016/j.bioactmat.2021.02.005>
- [15] Shi, Q., Qian, Z.Y., Liu, D.H., Sun, J., Wang, X., Liu, H.C., Xu, J. and Guo, X.M. (2017) GMSC-Derived Exosomes Combined with a Chitosan/Silk Hydrogel Sponge Accelerates Wound Healing in a Diabetic Rat Skin Defect Model. *Frontiers in Physiology*, **8**, 904. <https://doi.org/10.3389/fphys.2017.00904>
- [16] Li, Q.J., Gong, S.Q., Yao, W.F., Yang, Z.T., Wang, R.J., Yu, Z.J. and Wei, M.J. (2021) Exosome Loaded Genipin Crosslinked Hydrogel Facilitates Full Thickness Cutaneous Wound Healing in Rat Animal Model. *Drug Delivery*, **28**, 884-893. <https://doi.org/10.1080/10717544.2021.1912210>
- [17] Zhang, K.Y., Zhao, X.N., Chen, X.N., Wei, Y.Z., Du, W., Wang, Y.B., Liu, L.A., Zhao, W.A., Han, Z.B., Kong, D.L., Zhao, Q., Guo, Z.K., Han, Z.C., Liu, N., Ma, F.X. and Li, Z.J. (2018) Enhanced Therapeutic Effects of Mesenchymal Stem Cell-Derived Exosomes with an Injectable Hydrogel for Hindlimb Ischemia Treatment. *ACS Applied Materials & Interfaces*, **10**, 30081-30091. <https://doi.org/10.1021/acsami.8b08449>
- [18] Han, C.S., Zhou, J., Liu, B., Liang, C., Pan, X.B., Zhang, Y., Zhang, Y.Q., Wang, Y.L., Shao, L.B., Zhu, B., Wang, J.J., Yin, Q., Yu, X.Y. and Li, Y.X. (2019) Delivery of miR-675 by Stem Cell-Derived Exosomes Encapsulated in Silk Fibroin Hydrogel Prevents Aging-Induced Vascular Dysfunction in Mouse Hindlimb. *Materials Science and Engineering: C*, **99**, 322-332. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2019.01.122>
- [19] Liu, C.Y., Yin, G., Sun, Y.D., Lin, Y.F., Xie, Z., English, A.W., Li, Q.F. and Lin, H.D. (2020) Effect of Exosomes from Adipose-Derived Stem Cells on the Apoptosis of Schwann Cells in Peripheral Nerve Injury. *CNS Neuroscience & Therapeutics*, **26**, 189-196. <https://doi.org/10.1111/cns.13187>
- [20] Ching, R.C., Wiberg, M. and Kingham, P.J. (2018) Schwann Cell-Like Differentiated Adipose Stem Cells Promote Neurite Outgrowth via Secreted Exosomes and RNA Transfer. *Stem Cell Research & Therapy*, **9**, 266. <https://doi.org/10.1186/s13287-018-1017-8>
- [21] Li, L.M., Zhang, Y., Mu, J.F., Chen, J.C., Zhang, C.Y., Cao, H.C. and Gao, J.Q. (2020) Transplantation of Human Mesenchymal Stem-Cell-Derived Exosomes Immobilized in an Adhesive Hydrogel for Effective Treatment of Spinal Cord Injury. *Nano Letters*, **20**, 4298-4305. <https://doi.org/10.1021/acs.nanolett.0c00929>
- [22] Rao, F., Zhang, D.Y., Fang, T.J.Z., Lu, C.F., Wang, B., Ding, X., Wei, S., Zhang, Y.R., Pi, W., Xu, H.L., Wang, Y.H., Jiang, B.G. and Zhang, P.X. (2019) Exosomes from Human Gingiva-Derived Mesenchymal Stem Cells Combined with Biodegradable Chitin Conduits Promote Rat Sciatic Nerve Regeneration. *Stem Cells International*, **2019**, Article ID: 2546367. <https://doi.org/10.1155/2019/2546367>
- [23] Yang, Z., Yang, Y., Xu, Y.C., Jiang, W.Q., Shao, Y., Xing, J.H., Chen, Y.B. and Han, Y. (2021) Biomimetic Nerve Guidance Conduit Containing Engineered Exosomes of Adipose-Derived Stem Cells Promotes Peripheral Nerve Regeneration. *Stem Cell Research & Therapy*, **12**, 442. <https://doi.org/10.1186/s13287-021-02528-x>
- [24] Liang, L., Shen, Y., Dong, Z.F. and Gu, X. (2021) Photoacoustic Image-Guided Corpus Cavernosum Intratumoral Injection of Adipose Stem Cell-Derived Exosomes Loaded Polydopamine Thermosensitive Hydrogel for Erectile Dysfunction Treatment. *Bioactive Materials*. <https://doi.org/10.1016/j.bioactmat.2021.07.024>