

Somatické kmeňové bunky získané z tukového väziva ako zdroj bioaktívnych molekúl a ich využitie v terapii vybraných patologických stavov

Martin BOHÁČ, Dana IVANIŠOVÁ

Regenmed spol. s r. o., Medená 29, 811 02 Bratislava

Súhrn

Kmeňové bunky získané z tukového tkaniva (ADSCs) sa stali jednými z najvyužívanejších dospelých kmeňových buniek kvôli ich množstvu a relatívne ľahkej a bezpečnej dostupnosti. Nedávne štúdie ukázali, že parakrinné cytokíny, exozómy a ďalšie aktívne látky sú hlavnými faktormi, prostredníctvom ktorých ADSCs uplatňujú svoje biologické účinky. Deriváty ADSCs si v poslednej dobe získavajú pozornosť ako potenciálne terapeutické prostriedky pre rôzne ľudské choroby. Tieto deriváty zahŕňajú ADSC-kondicionované médiá, exozómy a extrakty z ADSCs. V súčasnosti rastie záujem o tieto deriváty a v posledných rokoch stali stredobodom výskumu v oblasti regeneratívnej medicíny. Tento článok sumarizuje účinky ADSCs derivátov vo vyššie uvedenom kontexte.

Kľúčové slová: ADSCs, kondicionované médiá, sekretóm, exozómy, regenerácia

Somatic stem cells obtained from adipose tissue as a source of bioactive molecules and their use in the therapy of selected pathological conditions

Summary

Adipose-derived stem cells (ADSCs) have become one of the most widely used adult stem cells due to their abundance and relatively easy and safe availability. Recent studies have shown that paracrine cytokines, exosomes and other active substances are the main factors through which ADSCs exert their biological effects. Derivatives of ADSCs have recently gained attention as potential therapeutic agents for various human diseases. These derivatives include ADSC-conditioned media, exosomes, and extracts from ADSCs. Interest in these derivatives is currently growing, and in recent years they have become the focus of research in the field of regenerative medicine. This article summarizes the effects of ADSCs derivatives in the above-mentioned context.

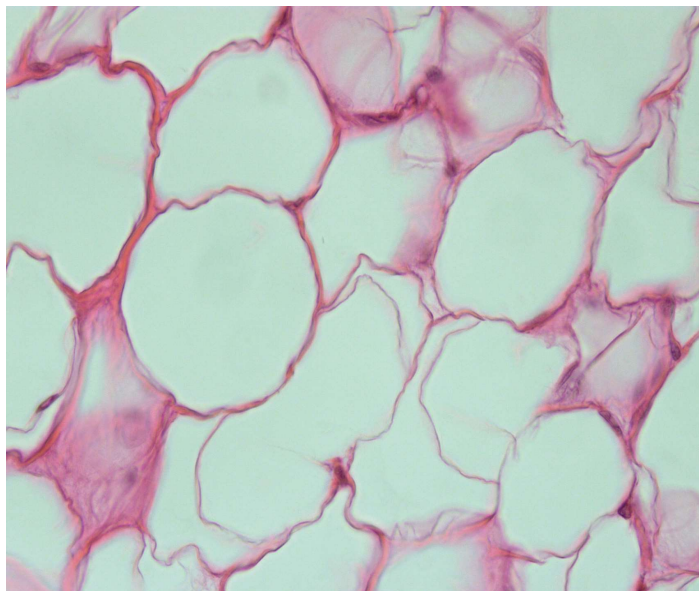
Keywords: ADSCs, conditioned media, secretome, exosomes, regeneration

Úvod

Tukové väzivo (Obr. 1) pozostáva zo stromálnej vaskulárnej frakcie (SVF), zrelých adipocytov a extracelulárnej matrix (ECM). SVF zahŕňa kmeňové bunky odvodené z tukového väziva (ADSCs), tukové prekursorové bunky, endotelové bunky a makrofágy. Autotransplantácia tuku môže nahradiť mäkké tkanivá a ADSCs prítomné v tukovom tkanive zohrávajú regeneračnú úlohu – podporujú migráciu, proliferáciu a sekrečnú aktivitu rezidentských buniek. Okrem toho tukové väzivo moduluje endokrinný systém prostredníctvom rôznych bioaktívnych molekúl, ako je napr. adiponektín a leptín [1,2].

V roku 2005 Medzinárodná spoločnosť pre bunkovú terapiu definovala mezenchymálne kmeňové bunky ako triedu buniek s plasticitou a trjlíniovým diferenciačným

potenciálom. Okrem toho exprimujú špecifické povrchové antigény ako CD73, CD90 a CD105 a zároveň sú negatívne na markery krvotvorných a endotelových buniek [3]. Tieto bunky majú nízku etickú záťaž pri aplikácii a majú protizápalové, imunomodulačné a vysoké regeneračné vlastnosti. Mezenchymálne kmeňové bunky preto vykazujú veľký potenciál v liečbe mnohých ochorení, vrátane imunitných a neimunitných ochorení [4].



Obr. 1. Histologický snímok tukového väziva.

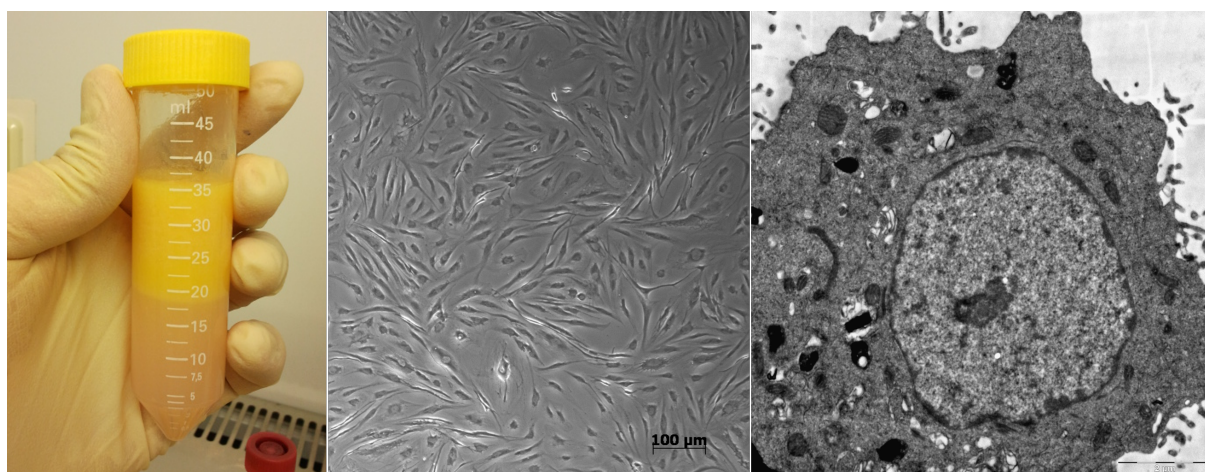
ADSC sú typom MSCs odvodeným z tukových tkanív a majú potenciál pre samoobnovu a viaclíniovú diferenciáciu, ako aj schopnosť vylučovať veľké množstvo bioktívnych molekúl. ADSCs sú považované za jeden z najslubnejších typov dospelých kmeňových buniek na klinické použitie a sú široko používané na výskum tkanivového inžinierstva a regeneratívnej medicíny [5]. Významné je, že ADSC-kondicionované médium (ADSC-CM) a ADSC exozómy (ADSC-Exo) si nedávno získali pozornosť ako alternatívne prístupy ku konvenčnej bunkovej terapii.

Deriváty ADSCs zahŕňajú ADSC-CM, ADSC-Exo a extrakty z ADSCs (ATEs). ADSC-CM – ktoré obsahuje aktívne látky vylučované ADSCs, ako sú cytokíny, exovezikuly, exozómy, DNA a RNA – môže podporovať opravu tkaniva a regulovať imunitu [6]. ADSC-Exo sú extracelulárne vezikuly, ktoré nesú proteíny, RNA, DNA a lipidové molekuly a môžu prenikať cez tkanivové bariéry a podieľať sa na výmene materiálov a informácií medzi bunkami [7]. Keďže deriváty ADSCs neobsahujú bunky, a teda nemôžu aktívne prispievať k vyvolaniu imunitnej odpovede a tumorigenéze, možno ich použiť na alogénnu transplantáciu. Tieto deriváty sa ľahko transportujú a skladujú, majú široký terapeutický potenciál na liečbu rôznych patologických stavov.

Kmeňové bunky získané z tukového tkaniva

ADSCs (obr. 2) sú mezenchymálne kmeňové bunky, ktoré sa získavajú z tukového väziva na princípe adherovania na dno plastových kultivačných fliaš. Ďalej sú charakterizované vysokou proliferáčnou aktivitou (môžu byť expandované *in vitro*) a majú schopnosť diferencovať sa do viacerých bunkových línii. Po morfologickej stránke sú podobné fibroblastom. Exprimujú povrchové antigény typické pre MSCs – CD73, CD90 a CD

105. Naopak vykazujú negatívnosť na markery krvotvorných a endotelových buniek. Veľmi významné sú aj ich imunomodulačné vlastnosti [2,8].



Obr. 2. Zdroj ADSCs – tukové väzivo. Morfológia ADSCs na úrovni svetelnej mikroskopie a TEM.

Deriváty ADSCs a ich využitie v regeneratívnej medicíne

Hoci MSCs dosahujú sľubné výsledky v obnove poškodených tkanív, ich využitie v regeneratívnej medicíne má svoje limity. Limitujúcimi faktormi sú najmä nízka miera prežitia buniek po transplantácii, imunologická odpoveď organizmu, či ich znížený diferenciálny potenciál. Hoci mezenchymálne kmeňové bunky dosahujú sľubné výsledky v obnove poškodených tkanív, ich využitie v regeneratívnej medicíne má svoje limity. Limitujúcimi faktormi sú najmä nízka miera prežitia buniek po transplantácii, imunologická odpoveď organizmu, či ich znížený diferenciálny potenciál. Preto vznikla potreba preskúmať alternatívne prístupy k bunkovej terapii, akým je využitie médií kondicionovaných mezenchymálnymi kmeňovými bunkami [9].

Mnoho štúdií potvrdilo, že mechanizmus účinku MSC na obnovu tkanív nespočíva len v ich schopnosti nahradiť poškodené bunky a diferenciálnym potenciálom, ale najmä v ich parakrinnom pôsobení [10]. MSCs do svojho okolia sekrutujú rastové faktory, cytokíny, chemokíny, zložky ECM a extracelulárne vezikuly (EV) [11]. Jednou zo subpopulácií EV o veľkosti 30-150 nm tvoria exozómy [12]. Ich obal je tvorený lipidovou dvojvrstvou a sú produkované rôznymi typmi buniek [13]. V minulosti boli tieto EV považované pôvodne za bunkový odpad vznikajúci v dôsledku poškodenia buniek alebo za vedľajšie produkty homeostázy, ktoré nemajú významný vplyv na susedné bunky [14]. V posledných rokoch sa však dokázalo, že sú dôležité pre medzibunkovú komunikáciu a signalizáciu [15]. Sú prenášačmi proteínov, lipidov, DNA, mRNA, microRNA, LncRNA, cytokínov a transkripčných faktorov [16,17]. Molekulárny obsah exozómov kopíruje zloženie ich materskej bunky [18]. Keď sa exozómy dostanú k cieľovej bunke, môžu spustiť signalizáciu buď priamou interakciou s extracelulárnymi receptormi, pohltením bunkou a splynutím s plazmatickou membránou, alebo sa internalizáciou [15].

Vďaka exozómom a bioaktívnym molekulám produkovaným MSC predstavuje MSC-CM kompletné regeneračné prostredie [19]. Kmeňové bunky derivované z tuku (ADSC) sa stali vďaka ich množstvu a pomerne ľahkej dostupnosti jednými z najvyužívanejších zdrojov adultných kmeňových buniek. Neustále pribúdajúce štúdie opätovne dokazujú, že parakrinné

cytokíny, exozómy a iné bioaktívne molekuly predstavujú hlavné faktory, prostredníctvom ktorých ADSC sprostredkovávajú svoje biologické funkcie.

Cytokínový profil medií kondicionovaných ADSCs (ADSC-CM) varíruje v závislosti od ich kultivačných podmienok. ADSC-CM získané kultiváciou buniek za hypoxických podmienok (2% O₂) je na cytokíny bohatšie v porovnaní s normoxiou [20]. Obsah cytokínov v CM závisí aj od priestorového usporiadania buniek. 3D kultúry stimulujú tvorbu väčšieho množstva cytokínov v porovnaní s 2D monovrstvovou bunkovou kultúrou [21] a preto kombinácia hypoxie a 3D kultúr by mohla predstavovať vhodné kultivačné podmienky pre získanie ADSC-CM.

ADSC-CM majú pre potreby regeneratívnej medicíny a tkanivového inžinierstva rôzne využitie. Stessul et al. [22] skúmali vplyv ADSC-CM v kombinácii s plazmou bohatou na krvné doštičky (PRP) na proliferáciu a migráciu fibroblastov a keratinocytov v *in vitro* podmienkach. Vďaka výsledkom, ktoré ukázali výrazný nárast proliferácie a podporu migrácie po 48 h, možno tvrdiť, že ADSC-CM majú terapeutický potenciál pre hojenie a reepitelizáciu chronických rán *in vivo*. V ďalšej štúdii sa Kim et al. [23] venovali porovnávaníu ADSC-CM získaných z 3D (ADSC-CM-3D) a 2D (ADSC-CM-2D) kultúr. Proteomická analýza ADSC-CM odhalila, že kolagény a aktíny boli v ADSC-CM-3D vysoko exprimované. Chitináza 3-like protein 1 (CHI3L1), tkanivový inhibitor metaloproteináz (TIMP) a galektín-1 boli špecificky exprimované len v ADSC-CM-3D. Najmä neutralizáciou protilátky sa zistilo, že galektín-1 v ADSC-CM-3D je dôležitým faktorom pre migráciu ľudských keratinocytov. Tieto výsledky preto naznačujú, že ADSC-CM-3D by bolo pri hojení rán účinnejšie v porovnaní s ADSC-CM-2D. Výsledky štúdie, ktorú priniesol Lee et al., dokázali, že ADSC-CM získaného kultiváciou buniek v hypoxických podmienkach (hypoCM), výraznejšie stimulovali syntézu kolagénu a migráciu ľudských dermálnych fibroblastov v porovnaní s ADSC-CM získaných v podmienkach normoxie (norCM). Okrem toho analýza mRNA a proteínov ukázali, že hypoxia zvyšuje reguláciu rastových faktorov, ako je vaskulárny endotelový rastový faktor (VEGF) a základný fibroblastový rastový faktor (bFGF). Sľubným terapeutickým prostriedkom na obnovu a hojenie rán sú taktiež exozómy derivované z ADSCs (ADSC-Exo). ADSC-EXO modulujú imunitné reakcie a zápal, podporujú angiogenézu, urýchľujú proliferáciu a reepitelizáciu kožných buniek a regulujú remodeláciu kolagénu, ktorá inhibuje hyperpláziu jaziev. ADSC-EXO taktiež podporujú hojenie rán u diabetických pacientov [25].

Štúdia Lee et al. [26] naznačuje, že ADSC-EXO zohrávajú kľúčovú úlohu pri neuroprotekcii a neuroregenerácii a môžu byť využité na liečbu neurodegeneratívnych porúch. Ukázalo sa totiž, že liečba prostredníctvom ADSC-EXOS znižuje hladiny amyloidu beta (A β) a pomer A β 42/40, ktorý spôsobuje mitochondriálnu dysfunkciu neurónov v transgénnych myšiach s Alzheimerovou chorobou, čím sa zvýši prežívanie buniek a zníži odumieranie neurónov v hipokampe a mozgovej kôre. V ďalšom experimente dokázali ADSC-EXO znížiť akumuláciu agregátov mHtt, apoptózu buniek a mitochondriálnu dysfunkciu aktiváciou dráhy p-CREB-PGC1 α , čo prináša nádej pre pacientov s Huntingtonovou chorobou [27]. Dôležitou súčasťou sekretómu ADSC je aj lncRNA MALAT1, ktorá reguluje expresiu iných nekódujúcich RNA vrátane snoRNA. Po podaní ADSC-EXO potkanom s traumatickým poranením mozgu bola pozorovaná výrazná obnova motorických funkcií a zároveň došlo k zníženiu poškodenia mozgovej kôry. Dokázalo sa teda, že MALAT1 v ADSC-EXO moduluje zápal a iné terapeutické ciele a má obrovský potenciál v liečbe traumatických poranení mozgu [28].

ADSCs sekretujú väčšie množstvo Angpt1, LIF, TGF- β 1 a rovnaké množstvá VEGF-A a HGF v porovnaní s kmeňovými bunkami izolovanými z kostnej drene (BMSC), a preto

sú vhodnejším kandidátom na liečbu kardiovaskulárnych ochorení [29]. Rehman et al. [30] vo svojom výskume sledovali efekt HypoCM na angiogénu a antiapoptický potenciál *in vitro*. Ukázalo sa, že v prípade HypoCM došlo k výraznému nárastu počtu endotelových buniek oproti bunkám kultivovaných v nekondicionovanom bazálnom médiu. Zároveň bol zaznamenaný aj výrazný pokles apoptózy endotelových buniek kultivovaných v HypoCM. ADSC-EXO môžu nájsť svoje využitie v liečbe ischemickej cievnej mozgovej príhody [31,32]. V štúdiu vedenej Chen et al. [32] sa ukázalo, že ADSC-EXO dokážu podporiť regeneráciu neurónov a zmenšiť ložisko infarktu po ischemickej cievnej mozgovej príhode u laboratórnych potkanov. Po treťom dni od mozgovej príhody dokázala podaná dávka ADSC-EXO znížiť edém mozgu.

Mitchel et al. sa vo svojom výskume zamerali na schopnosť sekretómu ADSC podporiť tri základné znaky regenerácie tkanív a to proliferáciu, diferenciáciu a migráciu buniek. Ukázalo sa, že po 48h kultivácie v médiu obsahujúcom sekretóm ADSC došlo k výraznému nárastu počtu myších myoblastov C2C12. Navyše, sekretóm dokázal stimulovať diferenciáciu buniek C2C12 smerom k myotubom. Avšak zmena v migrácii buniek nebola štatisticky významná v porovnaní s kontrolou [33]. ADSC-EXO majú taktiež schopnosť podnecovať MSC k osteogénnej diferenciácii [34]. V štúdiu Zhao et al. [35] skúmali imunomodulačné vlastnosti ADSC-EXO. Ukázalo sa, že pri kokultivácii spolu s aktivovanými synoviálnymi fibroblastmi došlo k zníženiu exprese prozápalových markerov IL-6, NF- κ B a TNF- α a na druhú stranu došlo k zvýšeniu exprese protizápalového cytokínu IL-10. Navyše ADSC-EXO dokázali ochrániť chondrocyty pred H₂O₂ navodenou apoptózou, podporili chondrogenézu periostálnych buniek a expresiu chondrogénnych markerov vrátane kolagénu typu II a β -katenínu. Periostálne bunky ošetrované exozómami vykazovali vyššie hladiny miR-145 a miR-221. Štúdia tak poskytla dôkazy na podporu využitia patientskych ADSC-EXO pri liečbe osteoartrózy.

Záver

Použitie ADSCs derivátov prekonáva obmedzenia klinických aplikácií ADSCs a vykazuje množstvo výhod. Tieto deriváty sa ľahko sa prenášajú, prepravujú a skladujú; vykazujú nízku imunogenicitu a žiadnu potenciálnu tumorigenicitu a môžu sa teda použiť na alogénnu transplantáciu. Lokálna aplikácia môže podporovať bunkovú proliferáciu, migráciu a angiogénu, potlačiť apoptózu buniek a zápal a znižuje oxidačný stres a reguláciu imunity. Preto majú široké vyhliadky na klinické použitie.

Podakovanie

Publikácia je výsledkom implementácie projektu CEMBAM - Centrum medicínskeho bioaditívneho výskumu a výroby z operačného programu Integrovaná infraštruktúra, ktorý je spolufinancovaný z Európskeho fondu regionálneho rozvoja (ITMS2014+: 313011V358).

Zoznam použitej literatúry

1. Poulos, S.P.; Hausman, D.B.; Hausman, G.J. The Development and Endocrine Functions of Adipose Tissue. *Molecular and Cellular Endocrinology* **2010**, *323*, 20–34.
2. Karastergiou, K.; Mohamed-Ali, V. The Autocrine and Paracrine Roles of Adipokines. *Molecular and Cellular Endocrinology* **2010**, *318*, 69–78.
3. Dominici, M.; Le Blanc, K.; Mueller, I.; Slaper-Cortenbach, I.; Marini, F.C.; Krause, D.S.; Deans, R.J.; Keating, A.; Prockop, D.J.; Horwitz, E.M. Minimal Criteria for Defining Multipotent Mesenchymal Stromal Cells. The International Society for Cellular Therapy Position Statement. *Cytotherapy* **2006**, *8*, 315–317.

4. Squillaro, T.; Peluso, G.; Galderisi, U. Clinical Trials with Mesenchymal Stem Cells: An Update. *Cell Transplant* **2016**, *25*, 829–848.
5. Zarei F, Abbaszadeh A. Stem cell and skin rejuvenation. *Journal of Cosmetic and Laser Therapy*. **2018** Apr 3;20(3):193–7.
6. L. PK, Kandoi S, Misra R, S. V, K. R, Verma RS. The mesenchymal stem cell secretome: A new paradigm towards cell-free therapeutic mode in regenerative medicine. *Cytokine & Growth Factor Reviews*. **2019** Apr;46:1–9.
7. Xu R, Greening DW, Zhu HJ, Takahashi N, Simpson RJ. Extracellular vesicle isolation and characterization: toward clinical application. *Journal of Clinical Investigation*. **2016** Apr 1;126(4):1152–62.
8. Zuk, P.A.; Zhi, M.; Mizuno, H. et al. Multilineage cells from human adipose tissue: implications for cell-based therapies. *Tissue Eng*. **2001**, *7*, 211–28.
9. Jayaraman, P.; Nathan, P.; Vasanthan, P.; Musa, S.; Govindasamy, V. Stem Cells Conditioned Medium: A New Approach to Skin Wound Healing Management. *Cell Biology International* **2013**, *37*, 1122–1128, doi:10.1002/cbin.10138.
10. Gunawardena, T.N.A.; Rahman, M.T.; Abdullah, B.J.J.; Abu Kasim, N.H. Conditioned Media Derived from Mesenchymal Stem Cell Cultures: The next Generation for Regenerative Medicine. *Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine* **2019**, *13*, 569–586, doi:10.1002/term.2806.
11. Jayaraman, P.; Nathan, P.; Vasanthan, P.; Musa, S.; Govindasamy, V. Stem Cells Conditioned Medium: A New Approach to Skin Wound Healing Management. *Cell Biology International* **2013**, *37*, 1122–1128, doi:10.1002/cbin.10138.
12. Xi, J.; Yan, X.; Zhou, J.; Yue, W.; Pei, X. Mesenchymal Stem Cells in Tissue Repairing and Regeneration: Progress and Future. *Burns Trauma* **2015**, *1*, 13–20, doi:10.4103/2321-3868.113330.
13. Han, Y.; Yang, J.; Fang, J.; Zhou, Y.; Candi, E.; Wang, J.; Hua, D.; Shao, C.; Shi, Y. The Secretion Profile of Mesenchymal Stem Cells and Potential Applications in Treating Human Diseases. *Sig Transduct Target Ther* **2022**, *7*, 1–19, doi:10.1038/s41392-022-00932-0.
14. Nikfarjam, S.; Rezaie, J.; Zolbanin, N.M.; Jafari, R. Mesenchymal Stem Cell Derived-Exosomes: A Modern Approach in Translational Medicine. *Journal of Translational Medicine* **2020**, *18*, 449, doi:10.1186/s12967-020-02622-3.
15. Tenchov, R.; Sasso, J.M.; Wang, X.; Liaw, W.-S.; Chen, C.-A.; Zhou, Q.A. Exosomes—Nature’s Lipid Nanoparticles, a Rising Star in Drug Delivery and Diagnostics. *ACS Nano* **2022**, *16*, 17802–17846, doi:10.1021/acsnano.2c08774.
16. Zhang, Y.; Liu, Y.; Liu, H.; Tang, W.H. Exosomes: Biogenesis, Biologic Function and Clinical Potential. *Cell & Bioscience* **2019**, *9*, 19, doi:10.1186/s13578-019-0282-2.
17. Gurung, S.; Perocheau, D.; Touramanidou, L.; Baruteau, J. The Exosome Journey: From Biogenesis to Uptake and Intracellular Signalling. *Cell Communication and Signaling* **2021**, *19*, 47, doi:10.1186/s12964-021-00730-1.
18. Rech, J.; Getinger-Panek, A.; Galka, S.; Bednarek, I. Origin and Composition of Exosomes as Crucial Factors in Designing Drug Delivery Systems. *Applied Sciences* **2022**, *12*, 12259, doi:10.3390/app122312259.
19. Wang, X.; Tian, L.; Lu, J.; Ng, I.O.-L. Exosomes and Cancer - Diagnostic and Prognostic Biomarkers and Therapeutic Vehicle. *Oncogenesis* **2022**, *11*, 1–12, doi:10.1038/s41389-022-00431-5.
20. Vizoso, F.J.; Eiro, N.; Cid, S.; Schneider, J.; Perez-Fernandez, R. Mesenchymal Stem Cell Secretome: Toward Cell-Free Therapeutic Strategies in Regenerative Medicine. *Int J Mol Sci* **2017**, *18*, 1852, doi:10.3390/ijms18091852.
21. Cai, Y.; Li, J.; Jia, C.; He, Y.; Deng, C. Therapeutic Applications of Adipose Cell-Free Derivatives: A Review. *Stem Cell Res Ther* **2020**, *11*, 312, doi:10.1186/s13287-020-01831-3.

22. Ylostalo, J.H.; Bartosh, T.J.; Tiblow, A.; Prockop, D.J. Unique Characteristics of Human Mesenchymal Stem/Progenitor Cells (MSC) Pre-Activated in 3D Cultures under Different Conditions. *Cytotherapy* **2014**, *16*, 1486–1500, doi:10.1016/j.jcyt.2014.07.010.
23. Stessuk, T.; Puzzi, M.B.; Chaim, E.A.; Alves, P.C.M.; de Paula, E.V.; Forte, A.; Izumizawa, J.M.; Oliveira, C.C.; Frei, F.; Ribeiro-Paes, J.T. Platelet-Rich Plasma (PRP) and Adipose-Derived Mesenchymal Stem Cells: Stimulatory Effects on Proliferation and Migration of Fibroblasts and Keratinocytes in Vitro. *Arch Dermatol Res* **2016**, *308*, 511–520, doi:10.1007/s00403-016-1676-1.
24. Kim, M.H.; Wu, W.H.; Choi, J.H.; Kim, J.; Jun, J.H.; Ko, Y.; Lee, J.H. Galectin-1 from Conditioned Medium of Three-Dimensional Culture of Adipose-Derived Stem Cells Accelerates Migration and Proliferation of Human Keratinocytes and Fibroblasts. *Wound Repair Regen* **2018**, *26 Suppl 1*, S9–S18, doi:10.1111/wrr.12579.
25. An, Y.; Lin, S.; Tan, X.; Zhu, S.; Nie, F.; Zhen, Y.; Gu, L.; Zhang, C.; Wang, B.; Wei, W.; et al. Exosomes from Adipose-derived Stem Cells and Application to Skin Wound Healing. *Cell Prolif* **2021**, *54*, e12993, doi:10.1111/cpr.12993.
26. Lee, M.; Ban, J.-J.; Yang, S.; Im, W.; Kim, M. The Exosome of Adipose-Derived Stem Cells Reduces β -Amyloid Pathology and Apoptosis of Neuronal Cells Derived from the Transgenic Mouse Model of Alzheimer's Disease. *Brain Res* **2018**, *1691*, 87–93, doi:10.1016/j.brainres.2018.03.034.
27. Lee, M.; Liu, T.; Im, W.; Kim, M. Exosomes from Adipose-Derived Stem Cells Ameliorate Phenotype of Huntington's Disease in Vitro Model. *Eur J Neurosci* **2016**, *44*, 2114–2119, doi:10.1111/ejn.13275.
28. Patel, N.A.; Moss, L.D.; Lee, J.-Y.; Tajiri, N.; Acosta, S.; Hudson, C.; Parag, S.; Cooper, D.R.; Borlongan, C.V.; Bickford, P.C. Long Noncoding RNA MALAT1 in Exosomes Drives Regenerative Function and Modulates Inflammation-Linked Networks Following Traumatic Brain Injury. *J Neuroinflammation* **2018**, *15*, 204, doi:10.1186/s12974-018-1240-3.
29. Adolfsson, E.; Helenius, G.; Friberg, Ö.; Samano, N.; Frøbert, O.; Johansson, K. Bone Marrow- and Adipose Tissue-Derived Mesenchymal Stem Cells from Donors with Coronary Artery Disease; Growth, Yield, Gene Expression and the Effect of Oxygen Concentration. *Scand J Clin Lab Invest* **2020**, *80*, 318–326, doi:10.1080/00365513.2020.1741023.
30. Rehman, J.; Traktuev, D.; Li, J.; Merfeld-Clauss, S.; Temm-Grove, C.J.; Bovenkerk, J.E.; Pell, C.L.; Johnstone, B.H.; Considine, R.V.; March, K.L. Secretion of Angiogenic and Antiapoptotic Factors by Human Adipose Stromal Cells. *Circulation* **2004**, *109*, 1292–1298, doi:10.1161/01.CIR.0000121425.42966.F1.
31. Cho, Y.J.; Song, H.S.; Bhang, S.; Lee, S.; Kang, B.G.; Lee, J.C.; An, J.; Cha, C.I.; Nam, D.-H.; Kim, B.S.; et al. Therapeutic Effects of Human Adipose Stem Cell-Conditioned Medium on Stroke. *Journal of Neuroscience Research* **2012**, *90*, 1794–1802, doi:10.1002/jnr.23063.
32. Chen, K.-H.; Chen, C.-H.; Wallace, C.G.; Yuen, C.-M.; Kao, G.-S.; Chen, Y.-L.; Shao, P.-L.; Chen, Y.-L.; Chai, H.-T.; Lin, K.-C.; et al. Intravenous Administration of Xenogenic Adipose-Derived Mesenchymal Stem Cells (ADMSC) and ADMSC-Derived Exosomes Markedly Reduced Brain Infarct Volume and Preserved Neurological Function in Rat after Acute Ischemic Stroke. *Oncotarget* **2016**, *7*, 74537–74556, doi:10.18632/oncotarget.12902.
33. Mitchell, R.; Mellows, B.; Sheard, J.; Antonioli, M.; Kretz, O.; Chambers, D.; Zeuner, M.-T.; Tomkins, J.E.; Denecke, B.; Musante, L.; et al. Secretome of Adipose-Derived Mesenchymal Stem Cells Promotes Skeletal Muscle Regeneration through Synergistic Action of Extracellular Vesicle Cargo and Soluble Proteins. *Stem Cell Res Ther* **2019**, *10*, 116, doi:10.1186/s13287-019-1213-1.
34. Zhu, M.; Liu, Y.; Qin, H.; Tong, S.; Sun, Q.; Wang, T.; Zhang, H.; Cui, M.; Guo, S. Osteogenically-Induced Exosomes Stimulate Osteogenesis of Human Adipose-Derived Stem Cells. *Cell Tissue Bank* **2021**, *22*, 77–91, doi:10.1007/s10561-020-09867-8.
35. Zhao, C.; Chen, J.-Y.; Peng, W.-M.; Yuan, B.; Bi, Q.; Xu, Y.-J. Exosomes from Adipose-Derived Stem Cells Promote Chondrogenesis and Suppress Inflammation by Upregulating MiR-145 and MiR-221. *Mol Med Rep* **2020**, *21*, 1881–1889, doi:10.3892/mmr.2020.10982.