

脑源性外泌体助力精准诊断阿尔茨海默病

韩 璎 李陶然



〔作者简介〕 韩璎,首都医科大学宣武医院神经内科主任医师,教授,博士生导师。担任国家老年病临床医学研究中心(首都医科大学宣武医院)-中国 AD 临床前期联盟主席,首都医科大学宣武医院神经精神疾病国际合作研究中心主任,北京认知神经科学学会会长,中华医学会放射学分会磁共振学组委员,中华神经科杂志编委。从事神经内科医疗、教学、科研工作 30 余年,具备扎实的神经内科理论知识和丰富的临床工作经验。2000 年 10 月经中华人民共和国国家教育委员会选派,赴法国里尔大学地区医疗中心 Roger Salengro 医院神经病学系与记忆中心深造,师从阿尔茨海默病研究领域国际著名专家 Florence Pasquier 教授(该教授是 AD 国际诊断标准 NINCDS-ADRD2007 版、2010 版、2014 版及 VASCOG2014 版制定者之一)。2008 年起主要从事 AD 临床诊疗和认知障碍的神经影像学研究工作,目前作为亚洲唯一受邀代表加入主观认知下降概念启动组(subjective cognitive decline initiative,SCD-I),参与制定 SCD 特征临床指南。迄今共发表专业论文近 200 篇,其中 SCI 收录论文 100 篇。主持国家自然科学基金资助重点项目和重点国际合作项目各 1 项。

摘 要 阿尔茨海默病(Alzheimer's disease,AD)是一种持续进展的神经变性病,在过去不到 30 年的时间内一跃成为全球第 5 大死因,然而,目前仍缺乏有效的治疗方法。早期、精准的诊断 AD 是目前研究的重点和难点,开展便捷、有效并且能够反映 AD 内在病理学改变的生物学标志物研究,将有助于进行二级预防和药物研发。脑源性外泌体是一种由神经细胞分泌的外泌体,利用免疫沉淀技术能够通过外周血直接获得,现有的证据表明其特异性的内含物,不仅能够反映 AD 典型的病理特征,而且在 AD 患者的症状期甚至是临床前期就已经出现了表达量的改变。本文将根据 AD 不同的病理机制,围绕脑源性外泌体在 AD 诊断中的最新进展展开综述。

关键词 阿尔茨海默病 生物学标志物 外泌体 脑源性外泌体

中图分类号 R74 **文献标识码** A **DOI** 10.11969/j.issn.1673-548X.2021.04.001

阿尔茨海默病(Alzheimer's disease,AD),作为一种持续进展的中枢神经系统变性病,是造成痴呆的最主要元凶,也是目前唯一造成人类主要死因却又缺乏修饰治疗方法的疾病^[1]。在中国,60 岁以上的老年人约有 5.3% 的痴呆患者,在 2020 年所造成的年度经济损失预计超过 248 亿美元,给国家、社会、家庭均造成了巨大的负担^[2]。早期、精准的诊断 AD 是进行积极有效的二级预防和药物研发的关键。自 1984 年 7 月美国国立神经病、语言交流障碍和卒中研究所-老年性痴呆及相关疾病学会发布了首个国际公认的 AD 诊断标准,近 40 年来研究人员对其进行多

次更新,从仅有的痴呆症状到把 AD 看作一个包含了临床前期和轻度认知功能障碍(mild cognitive impairment,MCI)在内的连续的“疾病谱”,从质朴的、典型的临床表现到各种不典型的 AD 亚型,从临床疑诊、尸检确诊到可以在活体内检测生物学标志物进行确诊,这些演变是医学不断进步的缩影,也体现了人们对 AD 认识的不断深入^[3,4]。如何在患者生前确诊 AD 是困扰研究人员的一大难题,在探索研究中不断有新的生物学标志物被发现,其中脑源性外泌体是非常具有应用前景的一类标志物,本文就其在 AD 诊断中的研究进展进行综述。

一、为什么迫切需要开发新的生物学标志物

迄今为止,仅有 5 种药物通过了美国食品和药品监督管理局(FDA)的批准并上市,上市成功率不到 3%,且这些药物仅能改善症状、延缓痴呆进程,并不能对因治疗^[1]。2019 年,国家药品监督管理局有条件批准了甘露特钠(GV-971)的上市,在业内引起广

基金项目:国家自然科学基金资助项目重点项目(61633018);国家自然科学基金资助项目重点国际合作项目(82020108013)

作者单位:100053 北京,首都医科大学宣武医院神经内科(韩璎、李陶然);570000 海口,海南大学生物医学工程学院(韩璎)

通讯作者:韩璎,电子信箱:hanying@xwh.ccmu.edu.cn;李陶然,电子信箱:litaoran1992@ccmu.edu.cn

泛关注,其远期效果仍有待研究。针对症状性 AD 患者的一系列大型临床试验的失败,已经使研究者认识到未来更应该关注 AD 的临床前期,将治疗前移,才能够使正确的药物在正确的时期发挥应有的作用^[5,6]。此外,进一步的事后分析表明,部分Ⅲ期临床试验中有高达 20% 的参与者并没有 AD 的病理表现,这也是造成试验失败的原因之一^[5]。

根据 2018 年美国国立老化研究院和阿尔茨海默病协会(NIA-AA)最新的 AD 诊断框架, β 淀粉样蛋白(β -amyloid, $A\beta$)的生物学标志物阳性是确定患者进入 AD 连续病程的必要条件,而临床前期指的是那些出现了 AD 特征性的病理表现、但尚未出现客观认知功能损害的患者,这类患者通常没有任何临床表现或仅有主观的认知下降,在实际临床工作中很少被关注或极易被误诊成其他疾病状态^[4]。目前国际上公认的 $A\beta$ 检测方法包括脑脊液 $A\beta$ 含量检测以及 $A\beta$ 正电子发射扫描成像(positron emission tomography, PET),但由于其有创性、辐射性、昂贵性,以及分析技术、阈值等尚未统一,所以很难进行大范围的推广^[7]。上述两种检测手段应用于临床上疑似 AD 症状性患者尚处于起步阶段,难以在没有任何客观症状的人群中开展检查。因此,目前亟需一种新的生物学标志物,可以反映 AD 内在病理学改变,并能够帮助医务人员便捷地在临床前期确诊 AD。

二、脑源性外泌体的生物学特点

外泌体是一种重要的细胞外囊泡,在细胞间的交流中发挥了重要作用,与此同时,外泌体也带动了 AD 相关病理性蛋白的聚集、沉淀和播散,在 $A\beta$ 和 tau 蛋白的传播过程中发挥了“朊蛋白样”播散机制的作用,促进了 AD 的发生和发展^[7]。

外泌体的以下特性决定了它能够成为优秀的生物学标志物:①包括血液在内的绝大多数体液中均能提取出外泌体;②包括神经元和神经胶质细胞在内的多种细胞类型均能够释放外泌体;③外泌体能够借助自身的双层脂质结构通过血-脑脊液屏障;④外泌体的内含物十分丰富,包括各种蛋白质和非编码 RNA 等物质;⑤其自身膜性结构能够保护内含物不被酶解,且内含物的含量可以根据外界不同的刺激而发生特异性的改变。基于血液直接进行标志物的检测,由于取材便利而适合大范围推广。然而,由于血液中的外泌体来源广泛,不加筛选提取出的“总外泌体”可能并不能成为良好的 AD 生物学标志物。脑源性外泌体,包括神经元来源的外泌体(neuron-derived ex-

osomes, NDEs)、神经胶质细胞来源的外泌体(astrocyte-derived exosomes, ADEs)等,科学家通过外周血液,利用免疫沉淀技术可以直接提取出这类物质,通过检测其内含物的含量变化而间接得到神经元和神经胶质细胞等的活动情况,进而反映出大脑内在的病理学改变^[7]。因此,血液中提取的脑源性外泌体有潜力能够成为 AD 新的生物学标志物。

三、脑源性外泌体中的 $A\beta$ 和 tau 在 AD 诊断中的研究进展

数十年来,AD 发病机制中的“ $A\beta$ 瀑布假说”仍然是最为经典的理论之一,正是因为 $A\beta$ 的代谢紊乱,才会出现后续的由磷酸化 tau 蛋白异常聚集而产生的神经元纤维缠结,继而导致神经元损伤,在损伤达到一定程度之后就会影响到患者外在的认知功能^[1,4]。根据 NIA-AA 最新的“A-T-(N)”诊断框架,生物学标志物对应的分为“A”、“T”和“(N)”3 种类型,分别反映患者体内 $A\beta$ 、磷酸化 tau 蛋白和神经元损伤这 3 种病理状态,而患者只要“A”和“T”阳性就可以确诊 AD^[4]。正是因为 $A\beta$ 和 tau 蛋白在 AD 诊断中不可撼动的地位,以及大量的基础研究证实外泌体在二者的播散中起到了重要作用,脑源性外泌体中的 $A\beta$ 和 tau 也是目前研究最广泛、最重要的物质^[7]。

2015 年,Fiandaca 等^[8]进行了一项开拓性的病例对照研究,他们发现血液提取的 NDEs 中的 P-T181-tau, P-S396-tau 和 $A\beta_{42}$ 的表达量在症状性 AD 患者中要远高于正常对照组,更令人惊讶的是,研究人员获得了 24 例受试者在出现认知损害前的,即认知完整时的血液标本,他们发现这 3 种物质在长达 10 年的临床前期就已经出现了表达量的升高,此外, NDEs 中 P-S396-tau 能够良好地区分 AD 患者和额颞叶痴呆的患者,一定程度上提示了其特异性。上述在症状性 AD 患者中得出的结论在另外两篇文献中得到了证实^[9,10]。除此之外,Goetzl 等^[10]研究发现, ADEs 中 $A\beta_{42}$ 的表达量在症状性 AD 患者中出现了下降,但由于和对照组之间存在巨大的重叠而严重限制了其临床应用,他们进一步研究了和 $A\beta$ 代谢相关的酶或底物,如可溶性 α 或 β 淀粉样前体蛋白、 β -位点淀粉样前体蛋白裂解酶 1 等,也在 NDEs 或 ADEs 中出现了表达量的改变。Winston 等^[9]重点关注了 MCI 患者,他们根据患者在 36 个月内是否转化成痴呆定义 MCI 是否稳定,发现 NDEs 中 P-S396-tau 和 $A\beta_{42}$ 的表达量在“不稳定型 MCI”患者和 AD 源

性痴呆患者中均出现升高,且二者之间的表达量无差异,但在“稳定型 MCI”患者中并未出现改变,相比之下, $P-T181-tau$ 则不能预测 MCI 患者在未来是否出现认知恶化。唐氏综合征患者拥有和 AD 患者极其类似的病理改变,在这些患者中同样证实 NDEs 中的 $P-T181-tau$ 、 $P-S396-tau$ 和 $A\beta_{42}$ 的表达量相比对照组明显升高^[11]。

为了进一步证实 NDEs 中的 $A\beta$ 和 tau 蛋白是否在 AD 的临床前期就已经发生了变化,2019 年, Kapogiannis 等^[12] 进行了一项重要的纵向研究,纳入了迄今为止最多的样本。研究人员对 350 例受试者进行长期追踪,在平均 3.5 年的随访期,他们发现 128 例受试者出现了 AD 相关的认知下降,222 例受试者始终保持认知稳定,在这些受试者认知功能出现恶化前或随访的截止日期前总共获得了 887 份血液样本。研究人员发现,相比于认知稳定的正常人,那些“转化者”在临床前期就已经出现了 NDEs 中 $P-T181-tau$ 和 $P-T231-tau$ 的水平升高,然而奇怪的是, $A\beta_{42}$ 的表达量并没有明显的变化,这与既往结论不一致^[8,9]。这一结果使 NDEs 中的 $A\beta_{42}$ 是否能作为 AD 临床前期的生物学标志物变得扑朔迷离,理论上, Kapogiannis 等^[12] 所使用的单分子免疫阵列 (single molecule array, SIMOA) 技术检测 $A\beta_{42}$ 要比既往的酶联免疫吸附测定 (enzyme linked immunosorbent assay, ELISA) 技术更加敏感,因此阴性结果也是研究者始料未及的,他们并未做出更多的解释。此外,该研究并未检测 $P-S396-tau$,其在临床前期是否已经出现改变仍有待更多的试验去证实。

除上述研究之外,还有一些针对 tau 蛋白的研究得出了阴性的结果,但仔细比较之后可以发现这些研究的受试者入组标准并不够严谨^[13,14]。Winston 等^[13] 在 MCI 患者中发现 NDEs 中 $P-S396-tau$ 的表达相对正常对照并没有改变,然而这些 MCI 患者均是依靠单纯的临床信息进行的诊断,并且没有进行随访,不知道他们未来的转归,因此可能存在巨大的异质性,不一定是 AD 源性的 MCI。Guix 等^[14] 研究发现, full-length tau 、mid-region tau 和 $P-T181-tau$ 的表达量在症状性 AD 患者中,相对正常对照组并没有改变,但是作者也清楚地认识到自己存在样本量不足和单纯临床诊断的缺点。此外,在一项最新的研究中,研究人员发现 AD 源性痴呆和正常对照组之间以 123 和 224 氨基酸结尾的 tau 蛋白片段表达量不存在差异,这也提示 NDEs 中差异的 tau 蛋白可能是以特

定形式存在的^[15]。

在脑源性外泌体中的 $A\beta$ 和 tau 蛋白真正应用于临床诊断之前,必须有研究去把它们和现有的、公认的 AD 生物学标志物去比对,以明确是否存在严格的匹配关系。来自首都医科大学宣武医院的贾建平教授团队在 2019 年发表了一项重要的多中心临床研究,在包含 82 例受试者的“探索组”和 216 例受试者的“验证组”中,均发现 NDEs 中 $P-T181-tau$ 、 $T-tau$ 和 $A\beta_{42}$ 的表达量在痴呆、MCI 和正常对照组之间存在阶梯状改变,即痴呆组的表达量大于 MCI 组,而 MCI 组大于对照组。此外,重要的是,3 种物质在 NDEs 中的表达量和他们在脑脊液中的表达量存在严格的匹配关系,也就是说作者推论从血液提取的 NDEs 完全可以替代脑脊液诊断 AD^[16]。该研究是目前唯一把脑源性外泌体和“金标准”进行比对的研究,对未来 AD 指南的更新存在重要意义。

从上述多项研究中笔者可以明确得出结论,血液中提取的脑源性外泌体中的 $A\beta$ 和 tau 蛋白的表达量在 AD 症状期、甚至是临床前期出现了特异性变化,有望成为一种新的诊断性 AD 生物学标志物。

四、脑源性外泌体中其他生物学标志物

AD 临床症状要滞后于其病理改变,而现有证据还是支持“ $A\beta$ 瀑布假说”,因此,笔者推测下文所述的生物学标志物均属于 $A\beta$ 的下游事件,是反映神经元损伤的标志物,对应于“A-T-(N)”诊断体系中的“(N)”类别^[3]。理论上讲,这一类基于外泌体的标志物是非特异的,反映 AD 或其他病理状态的最终结局。然而,现有的证据表明它们能够良好地区分 AD 和额颞叶痴呆,甚至在 AD 临床前期就已经发生了变化。但是争议仍然存在,比如,它们是否能够区分除额颞叶痴呆之外的其他变性病或者外伤? 改变的程度是否和疾病的严重性有关? 这些都值得进一步研究。

一直以来,研究者认为突触损伤可以直接导致认知功能下降,大量研究工作都围绕着突触开展,试图寻找一种反映突触损伤的标志物来间接诊断 AD^[17]。生长相关蛋白 43、synaptophysin、synaptotagmin、synapsin 1 及其丝氨酸 9 磷酸化的变体,它们作为突触前膜蛋白在调节囊泡融合、释放或再循环中都起到了重要作用,而 synaptopodin 和 neurogranin 作为两个重要的突触后膜蛋白则在监测细胞内钙浓度中发挥作用。此外,神经元穿透素 2 (pentraxin 2)、含有 gluA4 的谷氨酸 (gluA4-containing glutamate)、neurexins 2 α 和

neuroigin 1 对维持突触功能至关重要^[7]。已经有研究证实 NDEs 中的上述 11 种反映突触状态的标志物,在 AD 源性认知损害的受试者中的表达量比正常人明显下降^[18, 19]。此外, synaptophysin、neurexins 2 α 等物质在受试者出现认知损害前 1~10 年,即认知正常时就已经出现了改变;而且 neurogranin 表达量的下降也预示着 MCI 受试者在未来 36 个月之内会进展成痴呆^[9]。在相关性分析中,研究者还发现 NDEs 中的 synaptophysin、synaptotagmin、synaptopodin, 含有 gluA4 的谷氨酸和 neuroigin 1, 而不是 A β ₄₂ 或 P-T181-tau, 与认知功能呈明显的负相关, 因此提示真正导致认知下降的是这些包括突触损害在内的下游事件。

胰岛素的信号通路成分,如生长因子-1 受体和胰岛素受体,控制着诸如葡萄糖摄取和能量代谢等重要脑功能。许多研究者致力于研究它们在 AD 中的信号转导抵抗,发现这似乎是一种早期和普遍的特征。胰岛素受体底物-1 (IRS-1) 是胰岛素受体的效应分子,它的几个酪氨酸残基的磷酸化将激活胰岛素信号功能,而酪氨酸残基的去磷酸化和(或)某些丝氨酸和苏氨酸残基的磷酸化将导致信号的抑制。这些特异性的 IRS-1 磷酸化形式可作为脑胰岛素抵抗的生物学标志物,已经被发现在 AD 患者的脑组织中发生了变化^[7]。相应地,有研究探索他们在 NDEs 中的改变,研究人员检测了 NDEs 中的 IRS-1、磷酸化-丝氨酸 312-IRS-1 (P-S312-IRS-1) 和磷酸化-pan-酪氨酸-IRS-1 (P-panY-IRS-1), 并定义 R(P-S312-IRS-1/P-panY-IRS-1) 为脑胰岛素抵抗指数,发现症状性 AD 患者中的 P-panY-IRS-1 表达量明显下降,而 P-S312-IRS-1 和 R 则明显升高,而且 R 能够良好地区分糖尿病患者、AD 患者、额颞叶痴呆患者和正常对照组。与突触标志物类似,这 3 个指标也是在受试者出现认知损害前 1~10 年就已经出现了改变^[20]。在该作者的后续研究中发现,P-S312-IRS-1 和 P-panY-IRS-1 与大脑的皮质萎缩明显相关,提示二者分别在 AD 的病理学改变中起到了损害和保护性的作用^[21]。

除上述研究之外,也有研究者去探索脑源性外泌体中泛素蛋白酶系统或自噬溶酶系统的生物学标志物、神经炎症和补体系统的标志物、一些神经营养因子以及阻遏元件 1-沉默转录因子 (REST)、低密度脂蛋白受体相关蛋白 6 (LRP6) 或热休克蛋白等调控 A β 表达的因子,均得出良好的结论^[10, 22-25]。这也提

示 AD 是一个异常复杂的病理学状态,其下游事件和旁支末节的调控因子非常丰富,有更多未知的标志物值得去探索。

综上所述,基于外周血提取的脑源性外泌体有望成为一种新型 AD 诊断性、甚至是预测性的生物学标志物。目前,包括我国在内的许多国家,普通神经内科门诊或记忆门诊通常会收到涵盖各种疾病的广泛转诊,医疗资源得不到合理的配置。此外,现有的基于脑脊液或影像学的诊断标志物也都集中在这样的专业门诊,但是此时的患者病情发展往往错过了最好的治疗机会。而基于外周血就可以获得的脑源性外泌体可以将 AD 的诊断提前 10 年,再加上基层大夫就可以获得的人口学信息,可以进一步提高预测 AD 的准确性,这对合理转诊、优化医疗保健的利用率和成本会产生重大和深远的影响^[12]。考虑到脑源性外泌体的研究尚处于起步阶段,且也存在一些矛盾和争议,未来在多中心纳入更多的受试者、在不同的实验室完善实验、进行多病种的鉴别以及和 AD 的“金标准”进行匹配,是使脑源性外泌体得到公认和大范围推广所必须要做的事情。

参考文献

- Long JM, Holtzman DM. Alzheimer disease: an update on pathobiology and treatment strategies[J]. Cell, 2019, 179(2): 312-339
- Jia L, Quan M, Fu Y, et al. Dementia in China: epidemiology, clinical management, and research advances[J]. The Lancet. Neurology, 2020, 19(1): 81-92
- 王小琪, 韩璠. 阿尔茨海默病诊断标准的演变[J]. 医学研究杂志, 2018, 47(7): 169-172
- Jack CR Jr, Bennett DA, Blennow K, et al. NIA-AA research framework: toward a biological definition of Alzheimer's disease[J]. Alzheimer's & Dement, 2018, 14(4): 535-562
- Golde TE, DeKosky ST, Galasko D. Alzheimer's disease: the right drug, the right time[J]. Science, 2018, 362(6420): 1250-1251
- Sperling RA, Jack CR Jr, Aisen PS. Testing the right target and right drug at the right stage[J]. Sci Translat Med, 2011, 3(111): 11-33
- Li TR, Wang XN, Sheng C, et al. Extracellular vesicles as an emerging tool for the early detection of Alzheimer's disease[J]. Mechanism Ageing Deve, 2019, 18(4): 1-11
- Fiandaca MS, Kapogiannis D, Mapstone M, et al. Identification of preclinical Alzheimer's disease by a profile of pathogenic proteins in neurally derived blood exosomes: a case-control study[J]. Alzheimer's Dement, 2015, 11(6): 600-607
- Winston CN, Goetzl EJ, Akers JC, et al. Prediction of conversion from mild cognitive impairment to dementia with neuronally derived blood exosome protein profile[J]. Alzheimer's Dement, 2016, 1(3): 63-72

- 10 Goetzl EJ, Mustapic M, Kapogiannis D, *et al.* Cargo proteins of plasma astrocyte – derived exosomes in Alzheimer’s disease[J]. *FASEB J*, 2016, 30(11): 3853 – 3859
- 11 Hamlett ED, Goetzl EJ, Ledreux A, *et al.* Neuronal exosomes reveal Alzheimer’s disease biomarkers in Down syndrome[J]. *Alzheimer’s Dementi*, 2017, 13(5): 541 – 549
- 12 Kapogiannis D, Mustapic M, Shardell MD, *et al.* Association of extracellular vesicle biomarkers with alzheimer disease in the Baltimore longitudinal study of aging[J]. *JAMA Neurol*, 2019, 1(2): 24 – 62
- 13 Winston CN, Goetzl EJ, Baker LD, *et al.* Growth hormone – releasing hormone modulation of neuronal exosome biomarkers in mild cognitive impairment[J]. *J Alzheimer’s Dis*, 2018, 66(3): 971 – 981
- 14 Guix FX, Corbett GT, Cha DJ, *et al.* Detection of aggregation – competent tau in neuron – derived extracellular vesicles[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2018, 19(3): 11 – 22
- 15 Cicognola C, Brinkmalm G, Wahlgren J, *et al.* Novel tau fragments in cerebrospinal fluid: relation to tangle pathology and cognitive decline in Alzheimer’s disease[J]. *Acta Neuropathol*, 2019, 137(2): 279 – 296
- 16 Jia L, Qiu Q, Zhang H, *et al.* Concordance between the assessment of Aβ42, T – tau, and P – T181 – tau in peripheral blood neuronal – derived exosomes and cerebrospinal fluid[J]. *Alzheimer’s Dement*, 2019, 15(8): 1071 – 1080
- 17 DeKosky ST, Scheff SW. Synapse loss in frontal cortex biopsies in Alzheimer’s disease: correlation with cognitive severity[J]. *Ann Neurol*, 1990, 27(5): 457 – 464
- 18 Goetzl EJ, Abner EL, Jicha GA, *et al.* Declining levels of functional-

- ly specialized synaptic proteins in plasma neuronal exosomes with progression of Alzheimer’s disease[J]. *FASEB J*, 2018, 32(2): 888 – 893
- 19 Goetzl EJ, Kapogiannis D, Schwartz JB, *et al.* Decreased synaptic proteins in neuronal exosomes of frontotemporal dementia and Alzheimer’s disease[J]. *FASEB J*, 2016, 30(12): 4141 – 4148
- 20 Kapogiannis D, Boxer A, Schwartz JB, *et al.* Dysfunctionally phosphorylated type 1 insulin receptor substrate in neural – derived blood exosomes of preclinical Alzheimer’s disease[J]. *FASEB J*, 2015, 29(2): 589 – 596
- 21 Mullins RJ, Mustapic M, Goetzl EJ, *et al.* Exosomal biomarkers of brain insulin resistance associated with regional atrophy in Alzheimer’s disease[J]. *Human Brain Mapping*, 2017, 38(4): 1933 – 1940
- 22 Goetzl EJ, Boxer A, Schwartz JB, *et al.* Altered lysosomal proteins in neural – derived plasma exosomes in preclinical Alzheimer disease [J]. *Neurology*, 2015, 85(1): 40 – 47
- 23 Winston CN, Goetzl EJ, Schwartz JB, *et al.* Complement protein levels in plasma astrocyte – derived exosomes are abnormal in conversion from mild cognitive impairment to Alzheimer’s disease dementia[J]. *Alzheimer’s Dement*, 2019, 1(11): 61 – 66
- 24 Goetzl EJ, Schwartz JB, Abner EL, *et al.* High complement levels in astrocyte – derived exosomes of Alzheimer disease[J]. *Ann Neurol*, 2018, 83(3): 544 – 552
- 25 Goetzl EJ, Boxer A, Schwartz JB, *et al.* Low neural exosomal levels of cellular survival factors in Alzheimer’s disease [J]. *Ann Clin Translat Neurol*, 2015, 2(7): 769 – 773

(收稿日期: 2021 – 01 – 18)

(修回日期: 2021 – 01 – 20)

(接第 45 页)

参考文献

- 1 Takahashi H, Arimura Y, Okahara S, *et al.* A randomized controlled trial of endoscopic steroid injection for prophylaxis of esophageal stenoses after extensive endoscopic submucosal dissection [J]. *BMC Gastroenterol*, 2015, 22(15): 1
- 2 Chiarelli M, Guttadauro A, Maternini M, *et al.* The clinical and therapeutic approach to anal stenosis[J]. *Ann Ital Chir*, 2018, 89: 237 – 241
- 3 Acar T, Acar N, Tosun F, *et al.* House advancement flap anoplasty for severe post – hemorrhoidectomy anal stenosis[J]. *Tech Coloproctol*, 2020, 24: 261 – 262
- 4 Shevchuk IM, Sadoviy IY, Novytskiy OV. Surgical treatment of post-operative stricture of anal channel[J]. *Klin Khir*, 2015, 9: 20 – 22
- 5 Ecuyer J, Bninet C, Sares JC, *et al.* Early postoperative morbidity after hemorrhoid – ectomy using the Milligan – Morgan technic. A retrospective studies of 1134 cases [J]. *Chir: Paris*, 2013, 134(5 – 6): 243 – 247
- 6 Slawik S, Kenefick N, Greenslade GL. A prospective evaluation of stapled haemorrhoidopexy rectal mucosectomy in the management of 3th and 4th degree haemorrhoid[J]. *Colorectal Dis*, 2017, 9(4): 352 – 356
- 7 Yal LQ, Zhong YS, Xu JM. Rectal stenosis following procedure for-

- prolapse and hemorrhoids [J]. *Zhonghua Waikao Zhi*, 2012, 44(13): 897 – 899
- 8 中华中医药学会. 中医肛肠科常见病诊疗指南[M]. 北京: 中国中医药出版社, 2012: 36
- 9 国家中医药管理局. 中华人民共和国中医药行业标准中医病症诊断疗效标准[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2012: 52 – 54
- 10 Liberman H, Thorson AG. How I do it. Anal stenosis [J]. *Am J Surg*, 2018, 179: 325 – 329
- 11 李宇飞, 王晓峰, 李华山. 医源性肛门直肠狭窄的诊断与治疗 [J]. *世界华人消化杂志*, 2016, 24(11): 1632 – 1638
- 12 Abcarian H. Treatment for anal fissure: where do we stand in 2020 [J]. *Semin Colon Rec Surg*, 2019, 30(4): 142 – 146
- 13 Gülen M, Leventoglu S, Ege B, *et al.* Surgical Treatment of anal stenosis with diamond flap anoplasty performed in a calibrated fashion [J]. *Dis Colon Rectum*, 2016, 59(3): 230 – 235
- 14 冯玉宁. 改良纵切横缝术治疗痔术后肛门狭窄的临床效果观察 [J]. *河南医学研究*, 2017, 26(20): 3774 – 3775
- 15 毛源婷, 肖慧荣, 谢昌营, 等. 瘢痕松解术联合纵切横缝术治疗医源性肛门狭窄的临床疗效观察[J]. *世界最新医学信息文摘*, 2019, 19(37): 24 – 25

(收稿日期: 2020 – 11 – 12)

(修回日期: 2020 – 11 – 26)