

外泌体对神经系统疾病的作用研究进展

铁 岩 李 潇 杨鑫伟 许利平

摘 要 外泌体(exosomes, EXOs)是具有双层膜结构的纳米级小囊泡,携带核酸、蛋白质和脂质等参与多种生理病理过程,在细胞通讯中起关键作用。近年来 EXOs 对神经系统疾病的影响受到广泛关注。本文综述了 EXOs 及其携带的生物分子参与神经系统的生理病理过程和神经系统再生与重塑的研究现状,尤其对神经系统疾病的诊断和治疗的影响,为深入研究 EXOs 对神经系统疾病的作用机制和诊治提供参考。

关键词 外泌体 神经系统疾病 作用机制

中图分类号 R74

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2021.06.036

神经系统疾病是一类临床常见疾病,包括中枢神经系统疾病,如阿尔兹海默症(Alzheimer's disease, AD),帕金森综合征(Parkinson's disease, PD)等,以及周围神经疾病,如糖尿病周围神经病变(diabetic peripheral neuropathy, DPN)等。这类疾病发病机制十分复杂,如 AD 的发病与 Tau 蛋白过度磷酸化、 β -样淀粉蛋白积累、神经递质水平降低、炎症损害神经元、晚期糖基化终产物与其受体相互作用密切相关^[1]。PD 的发病机制涉及多种途径,包括细胞凋亡、自噬、氧化应激、炎症、 α -突触核蛋白聚集和神经递质变化等^[2]。DPN 的发生、发展主要与高血糖引起施万细胞(Schwann cells, SCs)凋亡有关,病变机制主要涉及氧化应激、炎症反应、内质网应激、自噬和硝化等^[3]。在治疗上临床多以对症治疗,但治疗后神经功能并不能完全恢复,因此迫切需要寻找更有效且安全的治疗方法。外泌体(exosomes, EXOs)是一类各种细胞均可分泌的具有双层膜结构的囊泡样物质。近年来,研究者发现 EXOs 可以在很多疾病中发挥作用,引起极大的关注,如癌症、2 型糖尿病、肥胖症、类风湿性关节炎和神经退行性疾病等^[4]。本文通过综述近年来 EXOs 对神经系统疾病的研究现状,为进一步深入研究其作用机制寻求更好的治疗方法提供参考。

一、EXOs

EXOs 是一类具有双层膜结构的细胞外囊泡,直

径为 30 ~ 100nm。EXOs 来源于细胞分泌,如神经干细胞,神经元,星形胶质细胞,SCs 等,可以通过不同体液如血液、尿液、脑脊液等检测到 EXOs。根据多组学研究,EXOs 包含不同类型的生物分子,包括蛋白质、脂质和核酸。EXOs 蛋白质包括取决于分泌细胞类型的蛋白质和与分泌细胞类型无关的特定蛋白质两种;核酸主要包括各种 RNA,如微小 RNA(miRNA)、环状 RNA 等,目前人们对 miRNA 研究较多,尤其癌症方面,可以作为治疗靶标^[4]。

EXOs 参与体内各种生物过程,其内含物可以反映机体的生理或病理状况。因此不同来源的 EXOs 作为神经系统疾病的标志物已达成共识,如星形胶质细胞来源 EXOs 因子水平也可随中枢神经系统疾病发展特异性增高或降低,可作为诊治鉴别疾病的重要工具及预测疾病发展变化的生物学标志物^[5]。有文献表明,EXOs 可以起到神经保护作用,如静脉注射骨髓间充质干细胞可以作用于受损的神经元和星形胶质细胞,明显改善糖尿病引起的认知障碍^[6]。EXOs 的内含物也可以直接参与神经系统活动,如 EXOs miRNA 在体内有不同的靶标,可以影响 SCs 增殖、迁移以及髓鞘形成,进而调节神经的生长发育^[7]。EXOs 还可以介导神经系统中细胞间通讯,如在神经突触通讯时,添加 GABA_A 受体拮抗剂可以使突触前细胞释放 EXOs,并调节突触强度和逆行信号^[8]。EXOs 可以与靶细胞相互作用,参与中枢神经细胞之间、SCs 与轴突之间的信号交流^[9]。

这些证据表明,EXOs 中富含多种因子,参与神经系统正常运行,并且在神经系统的再生和重塑中起到重要作用,有助于研究者进一步探究神经系统疾病的发生机制,寻找新的治疗方法。

基金项目:国家自然科学基金资助项目(面上项目)(81873125);国家自然科学基金青年科学基金资助项目(81704014)

作者单位:100069 北京,首都医科大学中医药学院、中医络病研究北京市重点实验室

通讯作者:许利平,教授,博士生导师,电子信箱:xulp@ccmu.edu.cn

二、EXOs 与神经病变

1. EXOs 与中枢神经病变: 中枢神经病变的诊断多依靠症状表现和影像手段, 有时并不准确并贻误治疗时间, 因其病变位置的特殊性, 一般治疗药物无法到达血-脑脊液屏障。EXOs 与传统神经细胞释放的囊泡不同, 可以携带多种活性物质, 直接参与细胞间信息交流和物质交流, 促进神经祖细胞的增殖和分化, 以及促进神经回路的发育, 在维持神经元稳态和神经保护方面发挥重要作用, 是神经元健康的调节剂。同时, EXOs 携带了与 AD、PD 等疾病相关的错误折叠形式的蛋白质, 可能参与了神经退行性疾病的致病过程^[10]。此外, 由于 EXOs 内含物随机体的生理病理状态改变以及 EXOs 结构的特殊性, 在诊断和治疗中枢神经病方面, 展现了光明的前景。以下以 AD 和 PD 为例, 说明 EXOs 对中枢神经系统疾病的作用。

EXOs 对 AD 的作用: AD 是一种记忆和认知功能进行性丧失且不可逆的神经系统疾病, 其主要病理特征包括淀粉样 β 肽 1-42 蛋白聚集和磷酸化 tau 蛋白诱导神经细胞凋亡。文献表明, EXOs 因其可在神经细胞之间进行信息交流而可能携带毒蛋白参与了 AD 的发生。因此, 检测 EXOs 中特定的毒蛋白可以作为诊断 AD 的一种新方法, 如 AD 患者脑脊液和血浆 EXOs 中全长 tau 蛋白远高于正常人^[11]。此外, AD 患者血浆 EXOs 中 miRNA-223、miRNA-212、miRNA-132 等表达水平与健康志愿者组比较发生了显著变化, 因此, EXOs 来源 miRNA 可以作为 AD 早期诊断的标志物^[12]。EXOs 对 AD 有潜在的治疗作用, 如间充质干细胞(mesenchymal stem cell, MSC)来源 EXOs 可以通过调节免疫、抗炎, 促进 β -淀粉样蛋白降解, 保护神经元并促进神经元轴突生长, 有助于治疗 AD^[13]。EXOs 也被用于充当递送药物的载体治疗 AD, 载有槲皮素的血浆 EXOs 可以通过抑制磷酸化的 tau 介导的神经元纤维缠绕而改善 AD 小鼠认知功能, 表现出治疗 AD 的潜力^[14]。

EXOs 对 PD 的作用: PD 是一种进行性运动障碍, 是仅次于 AD 的第二大常见的神经退行性疾病, 发病机制复杂。有文献表明, 路易体的存在、氧化应激、细胞凋亡等多种机制以及分子途径共同作用诱导多巴胺能神经元变性, 最终导致 PD 的发生^[2]。EXOs 可以作为 PD 的生物学标志物, 有文献分析了 PD 患者血浆 EXOs 中差异表达的 miRNAs, 发现 PD 患者血浆 EXOs 中 miR-19b、miR-24 和 miR-195 等水平比健康志愿者组变化表达明显, 可以作为 PD 诊断潜

在的生物学标志物^[12]。EXOs 对 PD 有一定的缓解作用。有研究发现, MSC 来源 EXOs 可以携带有益的 miRNA, 并与神经元细胞相互作用, 可以减少 PD 动物模型中的神经炎症并促进神经发生^[15]。EXOs 可被用作药物的运输工具, 将携带特定外源性干扰 RNA 的 EXOs 递送至 PD 小鼠中, 可以降低多巴胺神经元的死亡, 改善临床症状^[16]。

2. EXOs 与周围神经病变: 周围神经病(peripheral neuropathy, PN) 是一类复杂而普遍的神经系统疾病, 周围神经由神经纤维、支持组织和营养血管组成, 神经纤维分为有髓鞘和无髓鞘纤维, 髓鞘主要由髓磷脂和施万细胞(Schwann cells, SCs)构成。PN 的病理机制复杂, 如机体长期处于高糖状态, 引起周围神经损伤, 轴突变性消失, 神经干遭到破坏, 受损神经局部微环境改变, 导致糖尿病周围神经病变(diabetic peripheral neuropathy, DPN)。研究证实, EXOs 可直接作用于 SCs, 并有利于神经再生, 下面以 DPN 为例, 说明 EXOs 对周围神经病变的作用。

EXOs 对 SCs 的作用: SCs 是周围神经主要的神神经胶质细胞, 负责周围神经髓鞘的形成。SCs 可以分泌多种神经营养因子, 如脑源性神经营养因子, 神经生长因子等, 促进轴突的生长, 并为神经元的存活提供适宜的微环境^[3]。DPN 主要病理改变是 SCs 损伤, 神经纤维脱髓鞘。周围神经损伤(peripheral neuropathy injury, PNI)后, 发生瓦勒变性, 这个反应是 PNI 后神经再生的必要准备阶段, SCs 在瓦勒变性中发生增殖并吞噬分解轴突和髓磷脂, 还发生迁移以指导新生轴突的再生方向, 因此, SCs 可以作为 DPN 的靶标^[17]。

EXOs 可以作用于 SCs 从而改善 DPN, 促进神经再生。人类脂肪干细胞(adipose-derived stem cells, ADSCs)来源 EXOs 可以体外上调相关基因, 促进 SCs 增殖、迁移, 髓鞘化和神经营养因子的分泌, 体内实验经过 ADSC-EXOs 治疗, 大鼠坐骨神经轴突再生、髓鞘化显著恢复, 同时 ADSCs 来源 EXOs 可以通过改变凋亡相关基因的表达来减少细胞凋亡, 促进 SCs 增殖, 从而促进周围神经再生^[18,19]。牙龈间充质干细胞(gingival mesenchymal stem cells, GMSCs)EXOs 可以显著促进 SCs 增殖和背根神经元轴突的生长, 体内研究表明, GMSCs 来源 EXOs 与可生物降解的壳多糖导管结合可以显著增加神经纤维数量和直径, 并促进髓磷脂形成^[20]。SCs 自身分泌的 EXOs 也有助于神经修复。实验研究发现, 静脉注射健康 SCs 衍生的

EXOs 至 2 型糖尿病小鼠中,可以促进小鼠坐骨神经髓鞘再生,明显改善 DPN,体外数据显示 SCs - EXOs 促进糖尿病背根神经元的神经突增生,促进 SCs 的迁移^[21]。PNI 后修复型 SCs 可以分泌高表达 miRNA - 21 的 EXOs,促进神经突的生长,促进轴突再生^[22]。

EXOs 对神经炎症反应和血管再生的作用:PNI 后的神经再生还涉及到神经炎症反应和血管再生。在瓦勒变性过程中,除 SCs 外,巨噬细胞和其他外周免疫细胞募集在损伤部位,促进髓鞘和轴突碎片的清除。而血管网络的重建可以为周围神经修复过程中的组织再生和生理功能恢复提供适宜的微环境^[17]。EXOs 不仅可以作用于 SCs,还可以参与神经炎症反应、氧化应激,并促进血管再生,有助于神经修复。

实验研究表明,将 MSC 来源 EXOs 静注至链脲佐菌素诱导的糖尿病小鼠中,可以使小鼠周围神经组织中巨噬细胞 M1 表型转化为 M2 表型,从而降低促炎细胞因子水平;生物信息学分析表明,MSC 来源 EXOs 含有的 miRNA 有助于 TLR4/NF - κ B 信号通路的下调,表明 MSC 来源 EXOs 可以通过抑制促炎基因减轻 DPN^[23]。神经损伤后,巨噬细胞来源 EXOs 可以释放功能性 NADPH 氧化酶 2 复合物,进入到受损的轴突中与活性氧作用,刺激 PI₃K/AKT 通路信号转导和产物再生,帮助轴突再生以及功能恢复^[24]。MSC 来源 EXOs 可以携带与调控血管生成的 miRNA 穿梭于各种细胞之间,并将这些 miRNA 转移至内皮细胞,起到促进血管生成的作用^[25];也有研究发现,将 GMSCs 来源 EXOs 装载到壳聚糖/丝绸水凝胶海绵中,可以明显增加糖尿病小鼠的微血管数量和神经纤维密度,增强血管生成和神经元生长^[26]。ADSCs 来源 EXOs 内含物本身含有促进神经生长的神经营养因子,如脑源性神经营养因子,神经生长因子等,证实 EXOs 有成为神经再生治疗工具的潜力^[27]。

三、展 望

EXOs 广泛存在于机体体液中,不同来源 EXOs 可以特异性反映不同组织的生理病理状态,神经系统疾病患者体内的 EXOs 内含物的特异性,可以作为疾病的标志物,为神经系统疾病的早期诊断指标提供了机遇^[4];EXOs 由于其稳定性、低免疫原性、血 - 脑脊液屏障通透性和选择性递送的特性,可以携带药物并被靶细胞特异性摄取从而发挥治疗作用。但是 EXOs 的研究仍面临许多挑战,如 EXOs 中 miRNA 分选机制并不明晰,EXOs 的分离和纯化无确定标准,混合 EXOs 的技术尚未成熟,携带药物的 EXOs 与治疗药

物合用时可能会产生不良反应,无法保证携带药物的 EXOs 的稳定性以及能够准确地被靶细胞识别摄取等^[9]。但不可否认的是,EXOs 在神经系统疾病的研究中拥有广阔前景。EXOs 在不同组织都可产生,作为细胞间信息传递的媒介,不仅维持着神经系统的生理功能,还可以传递神经系统疾病相关物质作用于靶细胞,在疾病过程中发挥关键作用^[10]。EXOs 作为信息传递和药物治疗研究的工具,为深入研究神经系统疾病的作用机制和诊治开拓了新思路。

参考文献

- 1 王威丽, 宋沧桑. 阿尔兹海默病发病机制的研究进展及临床应用[J]. 中国药物评价, 2019, 36(3): 204 - 209
- 2 Balestrino R, Schapira A. Parkinson disease[J]. Eur J Neurol, 2020, 27(1): 27 - 42
- 3 Liu YP, Shao SJ, Guo HD. Schwann cells apoptosis is induced by high glucose in diabetic peripheral neuropathy[J]. Life Sci, 2020, 248: 117459
- 4 He C, Zheng S, Luo Y, et al. Exosome theranostics: biology and translational medicine[J]. Theranostics, 2018, 8(1): 237 - 255
- 5 李苏亚, 李在望, 曹婷婷, 等. 星型胶质细胞源外泌体的研究进展[J]. 神经损伤与功能重建, 2020, 15(6): 344 - 346
- 6 Nakano M, Nagaishi K, Konari N, et al. Bone marrow - derived mesenchymal stem cells improve diabetes - induced cognitive impairment by exosome transfer into damaged neurons and astrocytes[J]. Sci Rep, 2016, 6: 24805
- 7 Sohn EJ, Park HT. MicroRNA mediated regulation of Schwann cell migration and proliferation in peripheral nerve injury[J]. Biomed Res Int, 2018, 2018: 8198365
- 8 Zappulli V, Friis KP, Fitzpatrick Z, et al. Extracellular vesicles and intercellular communication within the nervous system[J]. J Clin Invest, 2016, 126(4): 1198 - 1207
- 9 Zhang G, Yang P. A novel cell - cell communication mechanism in the nervous system: exosomes[J]. J Neurosci Res, 2018, 96(1): 45 - 52
- 10 Hill AF. Extracellular vesicles and neurodegenerative diseases[J]. J Neurosci, 2019, 39(47): 9269 - 9273
- 11 Guix FX, Corbett GT, Cha DJ, et al. Detection of aggregation - competent tau in neuron - derived extracellular vesicles[J]. Int J Mol Sci, 2018, 19(3): 663
- 12 Vandendriessche C, Bruggeman A, Van Cauwenberghe C, et al. Extracellular vesicles in Alzheimer's and Parkinson's disease: small entities with large consequences[J]. Cells, 2020, 9(11): doi: 103390/cells9112485
- 13 金圣榆, 葛丽特. 间充质干细胞外泌体在阿尔兹海默症治疗中的研究进展[J]. 中华细胞与干细胞杂志: 电子版, 2019, 9(4): 247 - 250
- 14 Qi Y, Guo L, Jiang Y, et al. Brain delivery of quercetin - loaded exosomes improved cognitive function in AD mice by inhibiting phosphorylated tau - mediated neurofibrillary tangles[J]. Drug Deliv, 2020, 27(1): 745 - 755

(下转第 176 页)

284

- 15 Ye RD, Sun L. Emerging functions of serum amyloid A in inflammation[J]. J Leukoc Biol, 2015, 98(6): 923 – 929
- 16 Dieter BP, McPherson SM, Afkarian M, *et al.* Serum amyloid A and risk of death and end – stage renal disease in diabetic kidney disease[J]. J Diabetes Complications, 2016, 30(8): 1467 – 1472
- 17 Dieter BP, Meek RL, Anderberg RJ, *et al.* Serum amyloid A and janus kinase 2 in a mouse model of diabetic kidney disease[J]. PLoS One, 2019, 14(2): e0211555
- 18 Pichler R, Afkarian M, Dieter BP, *et al.* Immunity and inflammation in diabetic kidney disease: translating mechanisms to biomarkers and treatment targets[J]. Am J Physiol Renal Physiol, 2017, 312(4): F716 – F731
- 19 Navarro – González JF, Mora – Fernández C, Muros de Fuentes M, *et al.* Inflammatory molecules and pathways in the pathogenesis of diabetic nephropathy[J]. Nat Rev Nephrol, 2011, 7(6): 327 – 340
- 20 O'Shea JJ, Plenge R. JAK and STAT signaling molecules in immunoregulation and immune – mediated disease[J]. Immunity, 2012, 36: 542 – 550
- 21 Tuttle KR, Brosius FC 3rd, Adler SG, *et al.* JAK1/JAK2 inhibition

- by baricitinib in diabetic kidney disease: results from a Phase 2 randomized controlled clinical trial[J]. Nephrol Dial Transplant, 2018, 33(11): 1950 – 1959
- 22 Brosius FC III, He JC. JAK inhibition and progressive kidney disease[J]. Curr Opin Nephrol Hypertens, 2015, 24: 88 – 95
- 23 Zhang H, Nair V, Saha J, *et al.* Podocyte – specific JAK2 overexpression worsens diabetic kidney disease in mice[J]. Kidney Int, 2017, 92: 909 – 921
- 24 Chen C, Wang C, Hu C, *et al.* Normoalbuminuric diabetic kidney disease[J]. Front Med, 2017, 11(3): 310 – 318
- 25 Ma KL, Zhang Y, Liu J, *et al.* Establishment of an inflamed animal model of diabetic nephropathy[J]. Int J Biol Sci, 2014, 10(2): 149 – 159
- 26 Fleischmann R, Schiff M, van der Heijde D, *et al.* Baricitinib, methotrexate, or combination in patients with rheumatoid arthritis and no or limited prior disease – modifying antirheumatic drug treatment[J]. Arthritis Rheumatol, 2017, 69: 506 – 517

(收稿日期: 2020 – 12 – 21)

(修回日期: 2021 – 02 – 03)

(上接第 160 页)

- 15 Yu H, Sun T, An J, *et al.* Potential roles of exosomes in Parkinson's disease: from pathogenesis, diagnosis, and treatment to prognosis[J]. Front Cell Dev Biol, 2020, 8: 86
- 16 Izco M, Blesa J, Schleef M, *et al.* Systemic exosomal delivery of shRNA minicircles prevents Parkinsonian pathology[J]. Mol Ther, 2019, 27(12): 2111 – 2122
- 17 Kim YH, Lee S, Yang H, *et al.* Inhibition of transient receptor potential melastatin 7 (TRPM7) protects against Schwann cell trans – dedifferentiation and proliferation during Wallerian degeneration[J]. Anim Cells Syst (Seoul), 2020, 24(4): 189 – 196
- 18 Chen J, Ren S, Duscher D, *et al.* Exosomes from human adipose – derived stem cells promote sciatic nerve regeneration via optimizing Schwann cell function[J]. J Cell Physiol, 2019, 234(12): 23097 – 23110
- 19 Liu CY, Yin G, Sun YD, *et al.* Effect of exosomes from adipose – derived stem cells on the apoptosis of Schwann cells in peripheral nerve injury[J]. CNS Neurosci Ther, 2020, 26(2): 189 – 196
- 20 Rao F, Zhang D, Fang T, *et al.* Exosomes from human gingiva – derived mesenchymal stem cells combined with biodegradable chitin conduits promote rat sciatic nerve regeneration[J]. Stem Cells Int, 2019, 2019: 2546367
- 21 Wang L, Chopp M, Szalad A, *et al.* Exosomes derived from Schwann cells ameliorate peripheral neuropathy in type 2 diabetic mice[J]. Di-

abetes, 2020, 69(4): 749 – 759

- 22 López – Leal R, Díaz – Viraqué F, Catalán RJ, *et al.* Schwann cell reprogramming into repair cells increases miRNA – 21 expression in exosomes promoting axonal growth[J]. J Cell Sci, 2020, 133(12): doi:10.1242/jcs.239004
- 23 Fan B, Li C, Szalad A, *et al.* Mesenchymal stromal cell – derived exosomes ameliorate peripheral neuropathy in a mouse model of diabetes[J]. Diabetologia, 2020, 63(2): 431 – 443
- 24 Hervera A, De Virgiliis F, Palmisano I, *et al.* Reactive oxygen species regulate axonal regeneration through the release of exosomal NADPH oxidase 2 complexes into injured axons[J]. Nat Cell Biol, 2018, 20(3): 307 – 319
- 25 Gong M, Yu B, Wang J, *et al.* Mesenchymal stem cells release exosomes that transfer miRNAs to endothelial cells and promote angiogenesis[J]. Oncotarget, 2017, 8(28): 45200 – 45212
- 26 Shi Q, Qian Z, Liu D, *et al.* GMSC – derived exosomes combined with a chitosan/silk hydrogel sponge accelerates wound healing in a diabetic rat skin defect model[J]. Front Physiol, 2017, 8: 904
- 27 Bucan V, Vaslaitis D, Peck CT, *et al.* Effect of exosomes from rat adipose – derived mesenchymal stem cells on neurite outgrowth and sciatic nerve regeneration after crush injury[J]. Mol Neurobiol, 2019, 56(3): 1812 – 1824

(收稿日期: 2020 – 12 – 18)

(修回日期: 2021 – 01 – 03)