

郭思序,梅鑫鑫,李晋. 外泌体的生物发生及其在神经退行性疾病中的作用 [J]. 中国比较医学杂志, 2024, 34(11): 107-115.
Guo SX, Mei XX, Li J. Biogenesis of exosomes and their role in neurodegenerative diseases [J]. Chin J Comp Med, 2024, 34(11): 107-115.
doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2024.11.014

外泌体的生物发生及其在神经退行性疾病中的作用

郭思序¹,梅鑫鑫¹,李 晋^{1,2*}

(1.遵义医科大学贵州省普通高等学校传染病与生物安全特色重点实验室,贵州 遵义 563006;
2.遵义医科大学基础医学院,贵州 遵义 563006)

【摘要】 神经退行性疾病(neurodegenerative diseases, NDs)的发病率逐年增加,而目前针对 NDs 的药物基本以减轻症状为基础,并不是治疗性的,不能阻止疾病进展。外泌体是细胞外囊泡的一个子集,人体内几乎所有类型的细胞都可以产生外泌体,它被释放到细胞外环境后,通过多种方式发挥生物学效应。多种研究表明了外泌体虽然在中枢神经系统中具有两面性,但因其独特的生物学特性仍可作为 NDs 预防、缓解、治疗、诊断的工具。本文就外泌体的生物发生及其在神经退行性疾病中的作用作一综述,为临床治疗 NDs 提供新思路。

【关键词】 外泌体;神经退行性疾病;阿尔茨海默病;帕金森病;亨廷顿病

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856 (2024) 11-0107-09

Biogenesis of exosomes and their role in neurodegenerative diseases

GUO Sixu¹, MEI Xinxin¹, LI Jin^{1,2*}

(1. Key Laboratory of Infectious Disease & Biosafety, and Provincial Department of Education, Zunyi Medical University, Zunyi 563006, China. 2. School of Preclinical Medicine of Zunyi Medical University, Zunyi 563006)

【Abstract】 The incidence of neurodegenerative diseases (NDs) has been increasing. Current drugs targeting NDs are mainly based on relieving symptoms rather than effecting a cure, and fail to prevent disease progression. Exosomes are a subset of extracellular vesicles that can be produced by almost all cells in the human body and exert biological effects in a variety of ways after their release into the extracellular environment. Many studies have shown that the unique biological characteristics of exosomes mean that they can be used as a tool for the prevention, remission, treatment and diagnosis of NDs. This article reviews the biogenesis of exosomes and their roles in ND, to provide new ideas for the clinical treatment of these conditions.

【Keywords】 exosomes; neurodegenerative diseases; Alzheimer's disease; Parkinson's disease; Huntington's disease

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

据联合国预测,2025 年世界上 65 岁及以上人口比例将从 9% 升至 16%,“银发海啸”席卷全球,随之而来的是神经退行性疾病(neurodegenerative diseases, NDs)的流行。据世界卫生组织报告指出,目前全世界有超过 5500 万人(尤其 65 岁以上)受 NDs 折磨,并且人数在逐渐攀升,预估在 2030 年时

将上升到 7800 万人,到 2050 年时人数将达 1.39 亿^[1-2]。为了缓解 NDs 患者的身体、心理负担,减轻整个社会的经济负担,探索预防、缓解、治疗、诊断 NDs 的方法是非常有必要的。NDs 是因神经元或髓鞘丢失引发的,可能会有轻度神经损伤症状,如运动、感觉、视觉、语言、认知受损表现,最后会发展为

【基金项目】 国家自然科学基金委员会地区项目(82360859);贵州省科技计划一般项目(黔科合基础-ZK[2021]一般 547)。

【作者简介】 郭思序(2000—),女,硕士研究生,研究方向:外泌体保护神经系统的分子机制研究。E-mail:657188860@qq.com

【通信作者】 李晋(1982—),女,硕士,副教授,研究方向:中药抗病毒的作用及机制研究。E-mail:lijin010502@163.com

昏迷状态甚至脑死亡,常见的 NDs 包括阿尔茨海默病 (Alzheimer's disease, AD)、帕金森病 (Parkinson's disease, PD)、亨廷顿病 (Huntington's disease, HD) 等^[3]。

NDs 的一个共同点是病理性淀粉样蛋白在脑细胞内外的错误折叠、聚集和积累,这些疾病涉及不同细胞类型间复杂的串扰模式,以维持特定的信号通路,各种类型细胞外囊泡的交换是这种细胞间串扰的一部分^[4]。外泌体是细胞外囊泡的一个子集,直径 40~160 nm (平均约为 100 nm),内含核酸、蛋白质、脂质、氨基酸和代谢产物等,这些成分可以反映它的细胞来源^[5]。体内几乎所有类型的细胞都可以产生外泌体,中枢神经系统中包括小胶质细胞、少突胶质细胞、星形胶质细胞和神经元等都可以释放外泌体^[6]。研究发现外泌体能促进髓磷脂形成、神经突生长和神经元存活,因而在组织修复和再生中发挥重要作用,同时发现中枢神经系统中的外泌体也有致病蛋白,这些蛋白可能促进疾病的进展^[7]。2019 年末冠状病毒严重急性呼吸综合征 (coronavirus severe acute respiratory syndrome coronavirus 2, SARS-CoV-2) 开始流行,年龄是 NDs 与 2019 冠状病毒病 (coronavirus disease 2019, COVID-19) 的共同危险因素,老年患者感染 SARS-CoV-2 病程长,临床表现最为严重,而外泌体已被用于治疗包括 COVID-19 在内的各种疾病^[8-9]。本文就外泌体的生物发生及其在神经退行性疾病中的作用作一综述,探讨外泌体在 NDs 中诊断、治疗的优势及可行性。

1 外泌体概述

外泌体 (exosome) 一词最早于 20 世纪 70 年代引入,然而因为 DNA 片段与脂质双分子层缺乏关联性,这些颗粒被误认为是细胞间转移的 DNA 片段。从 Rose Johnstone 开始使用“外泌体”一词指代多囊泡体与质膜融合后释放的“微囊泡”,后来为使术语更明确,依据生物发生、分泌成分和大小将外泌体与另外两类细胞外囊泡,微囊泡 (100~1000 nm) 和凋亡小体 (50~500 nm) 区分开来。微囊泡和凋亡小体分别通过活细胞或死亡细胞的质膜向外出芽直接释放,并携带蛋白质、脂质、核酸和其他可影响或改变靶细胞行为的活性成分。外泌体是由后期核内体向内出芽产生,并在多囊泡体中形成腔内囊泡,与质膜融合后释放。因死亡细胞产生的凋亡小

体会被巨噬细胞识别和清除,主要具有生物学效应的是外泌体和微囊泡。由于微囊泡的体积更大,它可能比外泌体携带更多种类的蛋白质,但体积较小显然是有利的,例如较小的尺寸意味着较高的口服生物利用度。目前定义的外泌体最早是在 1983 年从绵羊网织红细胞中发现,最初通过电子显微镜被确定为细胞内实体,在电子显微镜下形态是完美的球形,若出现了塌陷的外观,像是“碟装”或是“瘪了的足球”则可能是由样品制备过程引起的^[10-17]。

1.1 外泌体的生成过程和调节方式

外泌体的产生 (图 1) 可以大致分为以下几个阶段:质膜第一次内陷形成一个杯状结构,它含有细胞表面蛋白质、脂质和代谢物等,称为早期分选胞内体 (early sorting endosomes, ESEs)。ESEs 随后发展为晚期分选胞内体 (late sorting endosomes, LSEs) 并完成 DNA、非编码 RNA、蛋白质等的装载,而后第二次内陷形成腔内囊泡 (intraluminal vesicles, ILVs)。LSEs 形成多囊泡体 (multivesicular bodies, MVBs),在 MVBs 成熟过程中 MVBs 从其他细胞器包括反式高尔基网络、内质网及其他细胞质室中引入货物,使 ILVs 的组成进一步改变,成熟的 MVBs 最终被送到溶酶体与其所有组分一起降解,或与细胞的质膜融合,释放 ILVs,这些 ILVs 也被称为外泌体。

多种因素参与调节外泌体的形成和释放过程:①有研究表明外泌体的形成和 MVBs 的运输需要由 4 个独立蛋白组成分选转运复合体 (endosomal sorting complex required for transport, ESCRT) 协同工作,其机制通过 ESCRT-0 的泛素结合亚基,将泛素化蛋白识别并隔离到胞内体膜的特定区域。在与 ESCRT-I 和 ESCRT-II 招募后形成鞍状蛋白复合物相互作用后,总复合物与 ESCRT-III 结合。最后,ESCRT-III 复合物在液泡蛋白分选因子 4 (vacuolar protein sorting 4, VPS-4) 提供能量的情况下将 ILVs 从 MVBs 膜上分离出来。关于 ESCRT (由 ESCRT-0, -I, -II, -III 亚复合物和 ATP 酶及 VPS-4 组成) 调控机制是否与外泌体释放有关联,目前还存在争议,但已在各种细胞类型分离的外泌体中鉴定出不同的 ESRT 成分和泛素化蛋白。②虽然 ESCRT 复合体招募去泛素化酶,将泛素从货物蛋白中去除,同时将其结合到 ILVs 中,但是去泛素化并不是所有货物都需要的。由 ESCRT 机制的 Alix 和 HP-PTP 两个辅助组件调节的替代机制,即非 ESCRT 依赖通

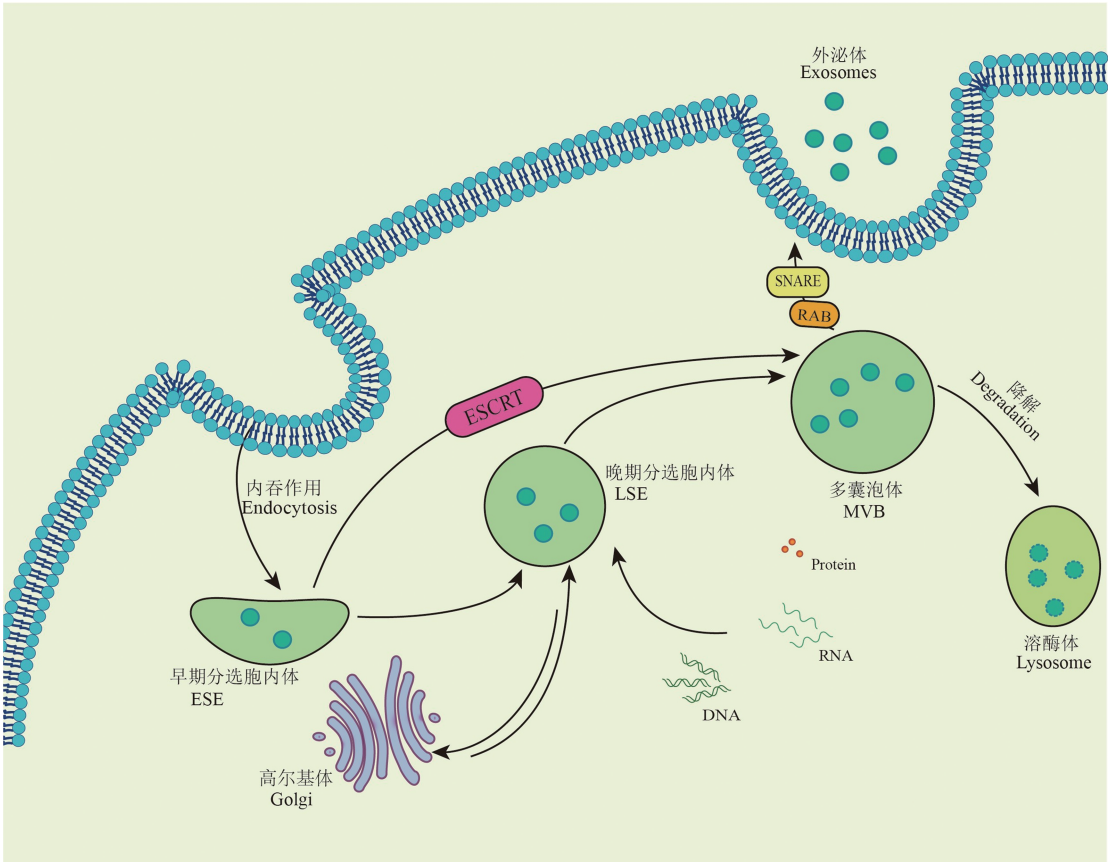


图 1 外泌体的生成过程
Figure 1 Process of exosome formation

路,可招募 ESCRT-III 和 ATPaseVPS4 将货物捕获到 ILVs 中。此过程还需要可溶性 N-乙基马来酰亚胺敏感因子附着蛋白受体复合体 (soluble N-ethylmaleimidesensitive factor attachment protein receptors, SNAREs) 提供 MVBs 融合到质膜所需的能量,从而协助两膜之间的相互作用。③外泌体向细胞外环境释放,是由 Rab-GTPase 家族的蛋白质包括 Rab2B、5A、9A、27A、27B、35 等和 SNARE 家族蛋白中的 VAMP7 和 YKT6 来驱动的,例如 Rab27A 及其效应物 Slp4 介导 MVBs 的质膜对接,Rab27B 及其效应物 Slac2B 介导 MVBs 从核周区向细胞外周的转移,此外 Rab35 还通过调节质膜上的 PIP2 水平来促进外泌体的生物发生,如果发生缺失则会减少大约一半的外泌体释放。④多种外部因素如钙离子载体、缺氧、细胞脱离等都能促进外泌体的生物发生。此外,神经酰胺在外泌体形成中也至关重要,神经酰胺的转化酶鞘磷脂酶的缺陷会使 ILVs 形成受到抑制。

外泌体释放到细胞外环境后,系统地分布在血浆、尿液、精液、唾液、支气管液、脑脊液 (cerebrospinal

fluid, CSF)、母乳、羊水、滑液、泪液、淋巴、胆汁、胃酸等体液中,外泌体包裹的许多货物都将通过这些体液运送到附近或远处的细胞。外泌体发挥生物学效应高度依赖于膜的直接融合、受体-配体相互作用、内化或内吞作用,从而有效传递遗传物质:①膜的直接融合即外泌体与质膜融合并将其内容物释放到胞质,这种情况发生概率较小。②外泌体表面的配体可以与细胞表面受体结合,触发靶细胞的信号级联反应。③内化是一个温度敏感过程,大多数外泌体通过内化吸收或内吞途径,将含有外泌体的胞内体变为 MVBs,最终在靶细胞中降解。④由于内吞作用的主要职责是外泌体的摄取,所以为大多数外泌体所介导的改变受体细胞表型所必需。值得注意的是,一些外泌体货物可通过外泌体膜的被动扩散绕过降解或酸化激活,例如转化生长因子 β -1^[7,11,18-25]。

1.2 外泌体的组成

外泌体中含有核酸、蛋白质、脂质、细胞因子、转录因子受体等货物分子。核酸以 RNA、DNA 和 microRNA 的形式反映外泌体的起源、功能、生理变

化和命运等重要遗传信息,外泌体含有不同模式的 RNA, RNA 测序分析显示,在人血浆来源的外泌体 RNA 物种中 microRNA 含量最为丰富,研究表明一旦 microRNAs 被打包到外泌体中可以在细胞间进行单向转移,从而建立细胞间运输网络,进而引发受体细胞短暂或持久的表型变化。与多肽(抗体)相比,核酸具有化学修饰简单、价格便宜、容易制备、长期稳定性好等优势。外泌体蛋白成分主要分为两大类,一类是非特异成分,参与囊泡形成和分泌过程,包括膜运输和融合通讯相关蛋白如 Rab、GTPases,热休克蛋白如 HSP70、HSP90,膜表面高度丰富的蛋白:四跨膜蛋白超家族(CD9、CD26、CD53、CD63、CD81、CD82 等)、ESCRT 复合物相关蛋白(Tsg101、Alix)、整合素等。另一类是特异成分,与祖细胞密切相关,即细胞特异性成分,如来源于抗原提呈细胞的 CD45、MHC-II 等,现在利用抗原和抗体检测免疫应答来识别蛋白质的技术发展迅速,并广泛应用于分析外泌体的多样性。外泌体的膜蛋白组成取决于细胞起源以及亲本细胞在外泌体生物发生过程中的生理状态,外泌体表面也存在许多特定的蛋白质,使其与其他囊泡区分开,并成为有效的诊断标志物^[13,20,26]。外泌体表现出复杂的脂质-双层表面结构,外泌体脂质双分子层的高度稳定性有助于保护其货物免受免疫系统和循环水解酶的影响。其脂质含量是细胞特异性的或是保守的,其中当某些脂质比例如鞘脂、磷脂酰丝氨酸、磷脂酰肌醇和胆固醇,与其供体细胞中的脂质数量相比有所增加时,有助于增强外泌体膜的刚性,脂质不仅在保护外泌体形状方面具有重要作用,还参与外泌体的生物发生和调节受体细胞内的稳态^[19,24,27-28]。

1.3 外泌体的生物特性

外泌体体积较小,可有效避免单核巨噬细胞吞噬,因而可作为药物载体通过血脑屏障(blood-brain barrier, BBB)进入中枢神经系统。BBB 是由紧密堆积的内皮细胞组成并形成具有高度特化的连续细胞层。这些细胞紧密相连,在血液和大脑之间形成一道调节分子进出神经系统的屏障。事实上,98% 以上的小分子药物和几乎 100% 的大分子药物(多肽、重组蛋白、单克隆抗体、基因和短干扰 RNA)都不能穿过 BBB。目前仍有相当多的疾病缺乏有效的治疗方法或良好的给药方式,如神经退行性疾病和癌症等,由于大多数治疗药物不能有效地穿过

BBB 到达病变部位,因而药物的生物利用度相对较低。虽然治疗剂也可以通过导管直接注入脑室,并通过鞘内腰椎注射进入脊髓腰骶蛛网膜下腔,以将治疗药物输送到大脑,但是脑室内和鞘内给药是侵入性,治疗的同时也带来了一些风险,而外泌体可通过非侵入性途径如静脉注射或口服等穿过 BBB 到达中枢神经系统。外泌体在体内的半衰期为几分钟,大多数外泌体已被证明在几小时内排出,需要反复治疗,但可能因外泌体内容物介导了级联反应的激活,其作用随着时间的推移而保持,因而外泌体仍具有巨大的治疗前景。以下原因使许多研究人员考虑使用外泌体作为多种疾病治疗的递送载体:①从供体细胞释放的外泌体进入受体细胞,通过将其内容物(如功能蛋白、mRNA 转录物和 miRNA)递送给受体细胞,参与细胞间通讯且不论细胞之间是否直接接触均影响许多生物过程,如细胞增殖、凋亡、分化和免疫反应。②外泌体 RNA 的稳定性高于细胞 RNA,与传统细胞疗法相比,外泌体提供了更好的稳定性、免疫耐受性并通过全身递送,而且与病毒载体不同,通过外泌体给药不会增加基因表达。③外泌体经修饰后可靶向特定位置或个性化治疗,由于清除率低,还可以在靶组织中停留较长时间,同时也不会引起血管栓塞。最重要的是,外泌体能穿过 BBB,多次静脉注射(intravenous injection, IV)没有任何副作用,并能增强神经和运动功能^[13,29-34]。

总之,这些独特的生物特性赋予了外泌体天然给药的优势,并使其成为治疗药物中跨 BBB 运输的最有希望的载体,有望治疗 AD、PD、HD 等。越来越多的证据表明,口服外泌体也是一种有前景的治疗途径,因外泌体能抵抗胃部的恶劣条件,口服外泌体可能会影响消化道的免疫细胞,进而通过血液和或淋巴传播影响局部和外周组织。人脑和视网膜、中枢神经系统、CSF、神经血管系统以及体循环是外泌体的丰富来源,由于脑细胞可以释放外泌体,其可从大脑和中枢神经系统进入血液,因此从体循环中分离出的脑源性外泌体可以用于监测中枢神经系统疾病,从而改善临床诊断和预后^[35-36]。

2 外泌体在神经退行性疾病中的作用

2.1 外泌体在阿尔茨海默病中的作用

AD 是最常见的神经退行性疾病,其主要病理特征是由 β 淀粉样蛋白(β -amyloid, A β)的

不溶性聚集和异常积累形成的淀粉样斑块和过度磷酸化的 tau 蛋白引起的神经纤维缠结 (neurofibrillary tangles, NFT)。此外,神经炎症、氧化应激、胆碱能神经元损伤等因素也可引起神经退行性变。AD 的特征是随着时间推移逐渐增加多种认知缺陷,包括在获取新信息和恢复信息时的记忆退化,以及与以下一种或多种功能障碍(失语、失用症、失认症或执行障碍综合症)相关,因而 AD 也可以认为是一种海马型遗忘综合症。目前针对 AD 的药物治疗是以减轻症状为基础的,并不是治疗性的,目的是提高生活质量和延长寿命,但并不能阻止疾病进展。美国食品药品监督管理局批准用于 AD 患者的药物有四种,包括 3 种胆碱酯酶抑制剂和一种非竞争性 NMDA 受体 2 调节剂。众所周知,AD 在出现临床症状之前的几十年就会出现特有的病理变化,导致临床前阶段相当长,然后进展为轻度认知障碍,那么在 AD 的临床前阶段,即在认知症状和病理改变变得不可逆转之前,找到证据诊断并治疗显得非常重要^[37-41]。

在临床实践和研究中,正电子发射断层扫描成像和 CSF 中 A β 42、T-tau 和 P-T181-tau 的浓度被推荐作为 AD 诊断的生物标志物,但是考虑到检验技术的昂贵及高患病率,寻找替代方法非常紧要。研究发现外泌体和 CSF 中的生物标志物间存在相关性,因此血液来源的外泌体突显了其优点,侵入性小且能对比自不同细胞类型的生物标志物。血液神经源性外泌体中 A β 42、T-tau 和 P-T181-tau 可以将 AD 患者和健康对照组区分开来,且研究发现外泌体生长相关蛋白 43 (growth associated protein, GAP43)、神经颗粒蛋白、突触体相关蛋白 25 (synaptosomal associated protein, SNAP25) 和突触结合蛋白 1 (synaptotagmin1) 的联合,可以在认知障碍发生前 5~7 年检测出 AD,如果血液检测成为可能,那么就可以进行大规模早期筛查并早期治疗,减轻个人、家庭乃至社会的负担,还有许多研究中报道了血源性外泌体 miRNA 可作为 AD 患者的生物标志物,并且血源性 miRNA 已被证明是 AD 无症状期的预测因子。研究表明在 AD 中共有 20 种血浆源性外泌体 miRNA 显示出显著差异,其中 7 种 miRNA,包括 miR-185-5p、miR-342-3p、miR-141-3p、miR-342-5p、miR23b-3p、miR-338-3p 和 miR-3613-3p,可以高精度地预测 AD 的状态。就诊的 AD 患者 miR-223 水平显著低于正在接受治疗的 AD 患

者,表明可以用 miR-223 评估疾病进展。血源性外泌体还可用作鉴别诊断,AD 患者血清外泌体 miR-384(可下调 A β 降解酶的表达)的水平明显高于血管性痴呆和帕金森病性痴呆患者,证明 miR-384 可以用于区分 AD、血管性痴呆和帕金森病性痴呆,另外 AD 患者外泌体中 miR451a 和 miR-21-5p 水平显著低于路易体痴呆,说明 miR451a 和 miR-21-5p 可以用作区分 AD 和路易体痴呆^[42-46]。

外泌体在 AD 进展中也发挥重要作用。小胶质细胞本身可以摄取含有完整和低磷酸化的 tau 蛋白或 A β 的神经元外泌体,并发挥清除作用,而小胶质细胞源性外泌体 (microglia-derived exosomes, MG-exos),一方面在 AD 发病过程中发挥负调节作用,能够携带 tau 蛋白和 A β ,可能会强烈增加 A β 的神经毒性,还能传递促炎信号^[47]。另一方面 MG-exos 在 AD 发病过程中起保护作用,MG-exos 可以以 TREM2 (TREM2 是一种重要的膜蛋白,在小胶质细胞外泌体膜上表达,且只控制外泌体的分泌,不影响外泌体的大小) 依赖的方式与 A β 结合,改变 A β 周围的炎症环境,并促进小胶质细胞吞噬 A β ^[48]。慢性间歇性缺氧可引起 AD 小鼠脑内 tau 蛋白的病理性扩散,使记忆损伤加重。MG-exos 的 miR-146a-5p 可能通过靶向 HIF1 α /mtROS 通路,抑制核苷酸结合寡聚化结构域样受体 3 (nucleotide-binding oligomerization domain-like receptor 3, NLRP3) 炎性体减轻间歇性缺氧诱导的认知障碍,因而 MG-exos 的 miR-146a-5p 被认为是一种有希望的治疗策略^[49]。在 AD 中,间充质干细胞源性外泌体 (mesenchymal stem cell-derived exosomes, MSC-exos) 能减少 A β 沉积,防止突触损伤,保护海马细胞免受氧化应激,并减少神经元凋亡,来自脂肪间充质干细胞衍生的外泌体含有脑啡肽酶,能显著降低 A β ₁₋₄₀ 和 A β ₁₋₄₂ 的水平,可被用作脑啡肽酶的药物递送系统,在 AD 大鼠模型中改善空间记忆能力,减少海马神经元损伤、老年斑的积累,并减轻脑部炎症。MSC-exos 参与病理异常区域的免疫调节和神经炎症改善,能显著改善 AD 转基因小鼠的空间学习能力和记忆障碍,还可通过抑制活化的小胶质细胞、反应性星形胶质细胞和细胞因子的释放,发挥抗炎作用,并改善 AD 患者味蕾及其神经支配的破坏性结构变化^[34,50-51]。

2.2 外泌体在帕金森病中的作用

PD 是世界上第二大流行的神经退行性疾病,

主要病理特征是黑质致密部多巴胺能神经元的缺失和错误折叠的不溶性 α -突触核蛋白 (α -synuclein, α -syn) 聚集形成的路易小体。因为 PD 的运动和非运动神经元都受到影响,所以会出现运动症状(运动迟缓、静息性震颤、四肢僵硬和姿势不稳定,还会伴有平衡和协调问题)和非运动症状(睡眠障碍、低体温、抑郁和便秘)^[52-53]。目前,左旋多巴是治疗 PD 最有效的药物,但左旋多巴治疗不能延缓 PD 的进展,且大多数 PD 患者在接受多巴胺药物治疗约 6.5 年后会出现运动并发症,其中最常见的是左旋多巴诱导的运动障碍,表现为异常运动,如刻板运动、舞蹈样运动和抛射运动,还会出现头部的肌张力障碍,这些症状极大地影响 PD 患者的生活质量,寻找新的治疗方法迫在眉睫^[54-56]。

多巴胺负载的干细胞来源外泌体在 PD 治疗中,使大脑中多巴胺的含量增加了 15 倍以上。MSC-exos 很容易穿透 BBB,到达实验大鼠 BBB 黑质内的多巴胺能神经元,并且可以减轻阿扑吗啡的不对称旋转,减少多巴胺能神经元的凋亡。在进行性 PD 模型中, MSC-exos 能减轻认知障碍,这与神经元胆固醇代谢的改变相关。此外, MSC-exos 可能通过传递 miR-100-5p 抑制靶基因 NADPH 氧化酶 4 的表达,进而减少活性氧(reactive oxygen species, ROS)的产生,减轻氧化应激,显著增加纹状体中多巴胺及其代谢产物的水平,说明 MSC-exos 能显著改善 PD 动物多巴胺能神经元的功能。同样地,干细胞来源的外泌体通过调节内源性和外源性 miRNA 的转移来促进神经分化,传递 miR-133b (PD 中下调的 miRNA 之一),促进 PD 的体外和体内实验模型中轴突的生长^[39,57-59]。虽然外泌体对 PD 有积极作用,但同时也发现 PD 患者血浆标本中神经元源性外泌体 α -syn 明显升高,且神经元源性外泌体可以通过向小胶质细胞传递 PD 相关 miRNA,促进 α -syn 聚集和神经炎症,从而促进 PD 的发生和发展。在小鼠模型中携带 PD 相关突变体 LRRK2G2019S 的星形胶质细胞源性外泌体 (astrocyte derived exosomes, AS-exos) 与正常 AS-exos 数量相当,但携带 PD 相关突变体 LRRK2G2019S 的 AS-exos 在被多巴胺能神经元内化后不能提供完全的神经营养支持,直接促进 PD 的进展。MG-exos 能通过小胶质细胞-神经元传递 α -syn 低聚物,而 α -syn 又诱导 MG-exos 分泌增加,从而形成恶性循环,加剧 MG-exos 介导的 α -syn 病理扩散。当外泌体释放毒性蛋白,促

进炎症反应,导致 PD 进展时,抑制外泌体释放的药物可能有助于缓解 PD 的进展。中性鞘磷脂酶 2 (neutral sphingomyelinase 2, nSMase2) 能水解鞘磷脂产生的神经酰胺,从而促进脑内外泌体的形成, nSMase2 的抑制剂 DDL-112 可在体外细胞模型中抑制外泌体产生,因而用 DDL-112 治疗会减少黑质中 α -syn 的聚集并改善运动功能^[60-61]。

外泌体 miRNA 不受核糖核酸酶降解的影响,在体液中稳定存在,可作为 PD 的生物标志物。PD 患者血清和 CSF 来源的外泌体中 miR-24、miR-151a-5p、miR-485-5p、miR-331-5p 和 miR-214 显著升高,并且血清外泌体中 miR-19b 下调和 miR-24、miR-195 上调也被认为是 PD 的诊断标志物。此外,外泌体中 miR-425-5p、miR-21-3p 和 miR-199a-5p 可以区分 PD 和常被误诊的进行性核上性麻痹,血清中的 miR-223-3p 可用于区分 PD 和非 NDs,也可以区分 AD 和 PD^[50,62-63]。

2.3 外泌体在亨廷顿病中的作用

HD 是一种罕见的进行性、无法治愈的神经退行性疾病,发病年龄 35~45 岁,并在发病后 15~17 年死亡。HD 还是一种常染色体显性遗传性神经退行性疾病,由 4 号染色体上亨廷顿蛋白 (huntingtin, HTT) 基因的 CAG 重复扩增引起,导致突变 HTT 的翻译,产生细胞内突变亨廷顿蛋白 (mutant huntingtin, mHTT) 的聚集体,而聚集体的积累会引发线粒体功能障碍、纹状体细胞的死亡(因转录失调、凋亡途径的激活和生理蛋白-蛋白相互作用的改变导致)。HD 的特点是进行性的运动失调(舞蹈病、异常眼运动、言语紊乱、吞咽困难等)、认知功能障碍(痴呆)和精神障碍(抑郁、焦虑、冷漠等),且进行性运动障碍是导致生命终止并发症的“主谋”。目前还没有缓解疾病进展的治疗方法,HD 的治疗主要还集中在症状管理上,目的是控制运动和精神紊乱^[58,64-65]。

外泌体可用于改善 HD 的症状。AS-exos 可降低 HD mHTT 聚集体的密度^[65]。人脂肪干细胞分泌含有神经营养因子(与 HD 进展呈负相关)的外泌体能够抵消凋亡的蛋白,并通过增加 PGC-1 和磷酸化 CREB 的蛋白水平来减少线粒体功能障碍,并有研究表明在体外 HD 模型中,脂肪干细胞源性外泌体降低细胞内 mHTT 聚集,进而降低神经元的凋亡程度^[58]。在有症状的 HD 患者血浆中,发现 miR-877-5p、miR-223-3p、miR-223-5p、miR-30 d-5p、miR-

128、miR-22-5p、miR-222-3p、miR-338-3p、miR-130b-3p、miR-425-5p、miR-628-3p、miR-361-5p、miR-942 等 13 种 miRNAs 表达上调。神经元源性外泌体可以将靶向 HTT 的 miRNA 转移到 HD 患者的神经元中,从而抑制 HTT mRNA 的表达。通过腺相关病毒血清型 5 (adeno-associated virus serotype 5, AAV5) 递送的靶向人亨廷顿蛋白的工程化 microRNA (huntingtin-targeting microRNA, miHTT) 在体内外均显示出显著降低 HTT 的作用。研究人员从诱导多能干细胞中,开发了含有 AAV5-miHTT 的外泌体,而这种外泌体中的治疗性 miHTT 分子可以浓度依赖的方式被其他神经元吸收,因此含有 AAV5-miHTT 的外泌体可能用于未来 HD 的基因治疗^[43,58,60,64]。

2.4 外泌体是可能感染过 SARS-CoV-2 的 NDs 患者最具潜力的治疗方法

2019 年末 SARS-CoV-2 的出现,引发了新型冠状病毒肺炎的爆发。这种罕见的冠状病毒传播性极强,在全球范围内迅速蔓延,造成了巨大的公共负担^[66]。SARS-CoV-2 以多种方式影响大脑,早期短暂的炎症反应被认为具有神经保护性,而长时间的神经炎症激活会引起脑结构和组织的损伤。感染 SARS-CoV-2 后通常会有神经精神症状,包括头晕、睡眠障碍、认知缺陷、谵妄、幻觉和抑郁等,所有这些信号都表明神经组织受到损害,这可能会大大增加神经退行性疾病的发病率,并促进痴呆的发生^[8,67]。外泌体,特别是 MSC-exos 被用于 COVID-19 的治疗,MSC-exos 能减少细胞因子风暴,逆转与 COVID-19 相关的宿主抗病毒防御机制,并增强了线粒体的修复功能^[9]。多项研究表明,COVID-19 相关的神经系统后遗症可能在感染急性期后持续很长时间,外泌体既可治疗 COVID-19,又可治疗 NDs,因而可成为感染过 SARS-CoV-2 的 NDs 患者最具潜力的治疗方法^[66]。

3 总结与展望

外泌体是由两次质膜内陷产生的,受多种因素调节最终被释放到细胞外环境,通过多种方式发挥生物学效应。外泌体具有良好的稳定性、免疫耐受性,通过将其内容物递送给受体细胞,影响许多生物进程,还可通过 BBB 进入中枢神经系统,能全身递送且清除率低,可以在靶组织中停留较长时间,多次 IV 没有任何副作用,因而可作为 NDs 治疗最

有希望的药物递送载体。同时,外泌体还可作为 NDs 的生物标志物和鉴别诊断的工具,尤其是血液来源的外泌体,侵入性小还能够比较不同细胞类型的生物标志物,如果血液源性外泌体的检测能得到推广,那么大规模筛查和及早治疗就会成为可能。外泌体虽有如此的光明前景,但一些因素也限制了其临床应用,例如需要提高外泌体的分离技术来保证分离的外泌体纯度以及结构和生物完整性,还要减少长期储存对外泌体的损伤,并确保安全的剂量和给药方式^[68],这些都需要继续探索,找到最优解。此外,不同类型细胞来源的外泌体以及年轻细胞来源和逐渐衰老细胞来源的外泌体在治疗 NDs 中是否有差异,因外泌体对 NDs 的双重作用,有时外泌体参与了 NDs 的进展,在使用外泌体抑制性药物的同时,有益的外泌体是否也会失去作用,或者是在用外泌体治疗时,这些外泌体是否会参与病理物质的传播,如何找到一个平衡点,使治疗性外泌体处于优势地位,假使这些问题能够解决,将迎来外泌体全面应用于神经退行性疾病的新阶段。

参考文献:

- [1] YANG Y, ZHENG R, ZHAO L. Population aging, health investment and economic growth: based on a cross-country panel data analysis [J]. *Int J Environ Res Public Health*, 2021, 18 (4): 1801.
- [2] GOLRIZ KHATAMI S, MUBEEN S, HOFMANN-APITTIUS M. Data science in neurodegenerative disease: its capabilities, limitations, and perspectives [J]. *Curr Opin Neurol*, 2020, 33 (2): 249-254.
- [3] FAN Y, CHEN Z, ZHANG M. Role of exosomes in the pathogenesis, diagnosis, and treatment of central nervous system diseases [J]. *J Transl Med*, 2022, 20(1): 291.
- [4] RASTOGI S, SHARMA V, BHARTI P S, et al. The evolving landscape of exosomes in neurodegenerative diseases: exosomes characteristics and a promising role in early diagnosis [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(1): 440.
- [5] KALLURI R, LEBLEU V S. The biology, function, and biomedical applications of exosomes [J]. *Science*, 2020, 367 (6478): eaau6977.
- [6] KUMARI M, ANJI A. Small but mighty-exosomes, novel intercellular messengers in neurodegeneration [J]. *Biology*, 2022, 11(3): 413.
- [7] DOYLE L M, WANG M Z. Overview of extracellular vesicles, their origin, composition, purpose, and methods for exosome isolation and analysis [J]. *Cells*, 2019, 8(7): 727.
- [8] VERKHRATSKY A, LI Q, MELINO S, et al. Can COVID-19 pandemic boost the epidemic of neurodegenerative diseases? [J]. *Biol Direct*, 2020, 15(1): 28.
- [9] GURUNATHAN S, KANG M H, KIM J H. Diverse effects of

- exosomes on COVID-19: a perspective of progress from transmission to therapeutic developments [J]. *Front Immunol*, 2021, 12: 716407.
- [10] BAZZAN E, TINÈ M, CASARA A, et al. Critical review of the evolution of extracellular vesicles' knowledge: from 1946 to today [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(12): 6417.
 - [11] JAN A T, RAHMAN S, BADIERAH R, et al. Expedition into exosome biology: a perspective of progress from discovery to therapeutic development [J]. *Cancers*, 2021, 13(5): 1157.
 - [12] COUCH Y, BUZÀS E I, DI VIZIO D, et al. A brief history of nearly EV-erything-The rise and rise of extracellular vesicles [J]. *J Extracell Vesicles*, 2021, 10(14): e12144.
 - [13] ZHANG Y, BI J, HUANG J, et al. Exosome: a review of its classification, isolation techniques, storage, diagnostic and targeted therapy applications [J]. *Int J Nanomedicine*, 2020, 15: 6917–6934.
 - [14] DAVIDSON S M, BOULANGER C M, AIKAWA E, et al. Methods for the identification and characterization of extracellular vesicles in cardiovascular studies: from exosomes to microvesicles [J]. *Cardiovasc Res*, 2023, 119(1): 45–63.
 - [15] WEN J, CREAVEN D, LUAN X, et al. Comparison of immunotherapy mediated by apoptotic bodies, microvesicles and exosomes: apoptotic bodies' unique anti-inflammatory potential [J]. *J Transl Med*, 2023, 21(1): 478.
 - [16] RÄDLER J, GUPTA D, ZICKLER A, et al. Exploiting the biogenesis of extracellular vesicles for bioengineering and therapeutic cargo loading [J]. *Mol Ther*, 2023, 31(5): 1231–1250.
 - [17] 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.
 - [18] GURUNATHAN S, KANG M H, KIM J H. A comprehensive review on factors influences biogenesis, functions, therapeutic and clinical implications of exosomes [J]. *Int J Nanomedicine*, 2021, 16: 1281–1312.
 - [19] JAN A T, RAHMAN S, KHAN S, et al. Biology, pathophysiological role, and clinical implications of exosomes: a critical appraisal [J]. *Cells*, 2019, 8(2): 99.
 - [20] SONBHADRA S, MEHAK, PANDEY L M. Biogenesis, isolation, and detection of exosomes and their potential in therapeutics and diagnostics [J]. *Biosensors*, 2023, 13(8): 802.
 - [21] ZHANG Y, LIU Y, LIU H, et al. Exosomes: biogenesis, biologic function and clinical potential [J]. *Cell Biosci*, 2019, 9: 19.
 - [22] LAU N C H, YAM J W P. From exosome biogenesis to absorption: key takeaways for cancer research [J]. *Cancers*, 2023, 15(7): 1992.
 - [23] HAN Q F, LI W J, HU K S, et al. Exosome biogenesis: machinery, regulation, and therapeutic implications in cancer [J]. *Mol Cancer*, 2022, 21(1): 207.
 - [24] MASHOURI L, YOUSEFI H, AREF A R, et al. Exosomes: composition, biogenesis, and mechanisms in cancer metastasis and drug resistance [J]. *Mol Cancer*, 2019, 18(1): 75.
 - [25] DENG X, HU X, WANG S, et al. Neural stem cell-derived exosomes regulate cell proliferation, migration, and cell death of brain microvascular endothelial cells *via* the miR-9/Hes1 axis under hypoxia [J]. *Anim Model Exp Med*, 2024, 7(1): 24–35.
 - [26] CHOI H, CHOI Y, YIM H Y, et al. Biodistribution of exosomes and engineering strategies for targeted delivery of therapeutic exosomes [J]. *Tissue Eng Regen Med*, 2021, 18(4): 499–511.
 - [27] HU Q, SU H, LI J, et al. Clinical applications of exosome membrane proteins [J]. *Precis Clin Med*, 2020, 3(1): 54–66.
 - [28] GAURAV I, THAKUR A, IYASWAMY A, et al. Factors affecting extracellular vesicles based drug delivery systems [J]. *Molecules*, 2021, 26(6): 1544.
 - [29] GURUNATHAN S, KANG M H, JEYARAJ M, et al. Review of the isolation, characterization, biological function, and multifarious therapeutic approaches of exosomes [J]. *Cells*, 2019, 8(4): 307.
 - [30] LAI J J, CHAU Z L, CHEN S Y, et al. Exosome processing and characterization approaches for research and technology development [J]. *Adv Sci*, 2022, 9(15): e2103222.
 - [31] JAKUBEC M, MAPLE-GRØDEM J, AKBARI S, et al. Plasma-derived exosome-like vesicles are enriched in lyso-phospholipids and pass the blood-brain barrier [J]. *PLoS One*, 2020, 15(9): e0232442.
 - [32] KHATAMI S H, KARAMI N, TAHERI-ANGANEH M, et al. Exosomes: promising delivery tools for overcoming blood-brain barrier and glioblastoma therapy [J]. *Mol Neurobiol*, 2023, 60(8): 4659–4678.
 - [33] GHOSH S, GHOSH S. Exosome: the “off-the-shelf” cellular nanocomponent as a potential pathogenic agent, a disease biomarker, and neurotherapeutics [J]. *Front Pharmacol*, 2022, 13: 878058.
 - [34] GUY R, OFFEN D. Promising opportunities for treating neurodegenerative diseases with mesenchymal stem cell-derived exosomes [J]. *Biomolecules*, 2020, 10(9): 1320.
 - [35] LUKIW W J, POGUE A I. Vesicular transport of encapsulated microRNA between glial and neuronal cells [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(14): 5078.
 - [36] CIEŚLIK M, NAZIMEK K, BRYNIARSKI K. Extracellular vesicles-oral therapeutics of the future [J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(14): 7554.
 - [37] PASSERI E, ELKHOORY K, MORSINK M, et al. Alzheimer's disease: treatment strategies and their limitations [J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(22): 13954.
 - [38] STAFF N P, JONES D T, SINGER W. Mesenchymal stromal cell therapies for neurodegenerative diseases [J]. *Mayo Clin Proc*, 2019, 94(5): 892–905.
 - [39] HARRELL C R, VOLAREVIC A, DJONOV V, et al. Mesenchymal stem cell-derived exosomes as new remedy for the treatment of neurocognitive disorders [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(3): 1433.
 - [40] BREIJYEH Z, KARAMAN R. Comprehensive review on

- Alzheimer's disease: causes and treatment [J]. *Molecules*, 2020, 25(24): 5789.
- [41] SONG Z, QU Y, XU Y, et al. Microarray microRNA profiling of urinary exosomes in a 5XFAD mouse model of Alzheimer's disease [J]. *Anim Model Exp Med*, 2021, 4(3): 233–242.
- [42] BEATA B K, WOJCIECH J, JOHANNES K, et al. Alzheimer's disease-biochemical and psychological background for diagnosis and treatment [J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(2): 1059.
- [43] HE M, ZHANG H N, TANG Z C, et al. Diagnostic and therapeutic potential of exosomal microRNAs for neurodegenerative diseases [J]. *Neural Plast*, 2021, 2021: 8884642.
- [44] JIA L, ZHU M, KONG C, et al. Blood neuro-exosomal synaptic proteins predict Alzheimer's disease at the asymptomatic stage [J]. *Alzheimers Dement*, 2021, 17(1): 49–60.
- [45] JIA L, QIU Q, ZHANG H, et al. Concordance between the assessment of A β 42, T-tau, and P-T181-tau in peripheral blood neuronal-derived exosomes and cerebrospinal fluid [J]. *Alzheimers Dement*, 2019, 15(8): 1071–1080.
- [46] LI Y, MENG S, DI W, et al. Amyloid- β protein and microRNA-384 in NCAM-Labeled exosomes from peripheral blood are potential diagnostic markers for Alzheimer's disease [J]. *CNS Neurosci Ther*, 2022, 28(7): 1093–1107.
- [47] GUO M, HAO Y, FENG Y, et al. Microglial exosomes in neurodegenerative disease [J]. *Front Mol Neurosci*, 2021, 14: 630808.
- [48] HUANG S, LIAO X, WU J, et al. The Microglial membrane receptor TREM2 mediates exosome secretion to promote phagocytosis of amyloid- β by microglia [J]. *FEBS Lett*, 2022, 596(8): 1059–1071.
- [49] ZHANG Y, MIAO Y, XIONG X, et al. Microglial exosomes alleviate intermittent hypoxia-induced cognitive deficits by suppressing NLRP3 inflammasome [J]. *Biol Direct*, 2023, 18(1): 29.
- [50] VAZ M, SOARES MARTINS T, HENRIQUES A G. Extracellular vesicles in the study of Alzheimer's and Parkinson's diseases: Methodologies applied from cells to biofluids [J]. *J Neurochem*, 2022, 163(4): 266–309.
- [51] GUO M, YIN Z, CHEN F, et al. Mesenchymal stem cell-derived exosome: a promising alternative in the therapy of Alzheimer's disease [J]. *Alzheimers Res Ther*, 2020, 12(1): 109.
- [52] DOROSZKIEWICZ J, GROBLEWSKA M, MROCZKO B. Molecular biomarkers and their implications for the early diagnosis of selected neurodegenerative diseases [J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(9): 4610.
- [53] GAO C, JIANG J, TAN Y, et al. Microglia in neurodegenerative diseases: mechanism and potential therapeutic targets [J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2023, 8(1): 359.
- [54] ZHANG F, LIU M, TUO J, et al. Levodopa-induced dyskinesia: interplay between the N-methyl-D-aspartic acid receptor and neuroinflammation [J]. *Front Immunol*, 2023, 14: 1253273.
- [55] HERIS R M, SHIRVALILOO M, ABBASPOUR-AGHDAM S, et al. The potential use of mesenchymal stem cells and their exosomes in Parkinson's disease treatment [J]. *Stem Cell Res Ther*, 2022, 13(1): 371.
- [56] RAHMAN M M, CHAKRABORTI R R, POTOL M A, et al. Epalrestat improves motor symptoms by reducing oxidative stress and inflammation in the reserpine induced mouse model of Parkinson's disease [J]. *Anim Model Exp Med*, 2020, 3(1): 9–21.
- [57] HUBER C C, WANG H. Pathogenic and therapeutic role of exosomes in neurodegenerative disorders [J]. *Neural Regen Res*, 2024, 19(1): 75–79.
- [58] NATALE F, FUSCO S, GRASSI C. Dual role of brain-derived extracellular vesicles in dementia-related neurodegenerative disorders: cargo of disease spreading signals and diagnostic-therapeutic molecules [J]. *Transl Neurodegener*, 2022, 11(1): 50.
- [59] HE S, WANG Q, CHEN L, et al. MiR-100a-5p-enriched exosomes derived from mesenchymal stem cells enhance the antioxidant effect in a Parkinson's disease model *via* regulation of Nox4/ROS/Nrf2 signaling [J]. *J Transl Med*, 2023, 21(1): 747.
- [60] XIA X, WANG Y, ZHENG J C. Extracellular vesicles, from the pathogenesis to the therapy of neurodegenerative diseases [J]. *Transl Neurodegener*, 2022, 11(1): 53.
- [61] ZHU C, BILOUSOVA T, FOCHT S, et al. Pharmacological inhibition of nMase2 reduces brain exosome release and α -synuclein pathology in a Parkinson's disease model [J]. *Mol Brain*, 2021, 14(1): 70.
- [62] WANG X, ZHOU Y, GAO Q, et al. The role of exosomal microRNAs and oxidative stress in neurodegenerative diseases [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2020, 2020: 3232869.
- [63] CITTERIO L A, MANCUSO R, AGOSTINI S, et al. Serum and Exosomal miR-7-1-5p and miR-223-3p as Possible Biomarkers for Parkinson's Disease [J]. *Biomolecules*, 2023, 13(5): 865.
- [64] ANANBEH H, VODICKA P, KUPCOVA SKALNIKOVA H. Emerging roles of exosomes in Huntington's disease [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(8): 4085.
- [65] YU Z, TENG Y, YANG J, et al. The role of exosomes in adult neurogenesis; implications for neurodegenerative diseases [J]. *Neural Regen Res*, 2024, 19(2): 282–288.
- [66] MYSIRIS D S, VAVOUGIOS G D, KARAMICHALI E, et al. Post-COVID-19 Parkinsonism and Parkinson's disease pathogenesis: the exosomal cargo hypothesis [J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(17): 9739.
- [67] ELIZALDE-DÍAZ J P, MIRANDA-NARVÁEZ C L, MARTÍNEZ-LAZCANO J C, et al. The relationship between chronic immune response and neurodegenerative damage in long COVID-19 [J]. *Front Immunol*, 2022, 13: 1039427.
- [68] JIA Y, YU L, MA T, et al. Small extracellular vesicles isolation and separation: Current techniques, pending questions and clinical applications [J]. *Theranostics*, 2022, 12(15): 6548–6575.