

间充质干细胞源外泌体在神经系统疾病中的研究进展

李苏亚¹, 奚广军², 李在望³, 张剑平²

摘要 间充质干细胞(MSCs)是一种多能干细胞。近来研究发现, MSCs分泌的外泌体具有促进神经细胞再生、调节免疫反应、促进血管生成等多种功能。本文主要综述 MSCs 源外泌体在神经系统疾病中的研究进展,以期探讨出其在神经系统疾病的治疗方面发挥的重要作用。

关键词 间充质干细胞;外泌体;神经系统疾病

中图分类号 R741;R741.02 **文献标识码** A **DOI** 10.16780/j.cnki.sjssgncj.20200414

本文引用格式:李苏亚, 奚广军, 李在望, 张剑平. 间充质干细胞源外泌体在神经系统疾病中的研究进展[J]. 神经损伤与功能重建, 2022, 17(10): 593-594, 601.

间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)是一类具有多向分化潜能、免疫调控、组织损伤修复、神经保护等多种功能的多能干细胞,近来被广泛应用于神经、心血管等多系统疾病的治疗研究中^[1]。研究发现, MSCs可以保护神经元,促进神经细胞轴突生长,有效改善受损的神经系统功能。外泌体是几乎所有细胞均可分泌的一种脂质双分子层膜囊泡,能够远距离传递源自母细胞的生物信息,影响靶细胞和组织的病理生理过程。研究表明外泌体很可能是 MSCs 在神经系统疾病中发挥治疗作用的关键^[1,2]。

1 MSCs 源外泌体概述

外泌体是一群直径为 40 ~ 100 nm 的外分泌囊泡,广泛存在于体内几乎所有细胞及血液、尿液、脑脊液等多种体液中^[3]。其腔内充满各种细胞蛋白、核酸(mRNA、miRNA 等)、脂质和可溶性因子,可直接与靶细胞的质膜融合,也可以被靶细胞内吞,进而将信息传递给邻近细胞及远端组织,并调节生物体内病理、生理过程,如神经元通信、抗原呈递、免疫反应、器官发育和生殖过程等^[4,5]。

MSCs是在临床实践中应用于免疫调节和缺血组织修复的几种干细胞之一。研究发现,在急性心肌梗死的小鼠模型中,直接注射人造 MSCs可促进血管生成并减轻左心室重塑^[6];在癫痫持续状态的大鼠模型中,尾静脉注入 MSCs可抑制癫痫的发生并维持认知功能^[7]。而 MSCs 分泌的外泌体,具备与母体干细胞相似的生物学功能。研究证实, MSCs 源外泌体能够降低炎症因子干扰素- γ (interferon- γ , IFN- γ)和肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)- α 的表达以减轻炎症反应^[8];也可在特殊干预后有效降低阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)患者脑中 β 淀粉蛋白(amyloid β , A β)的水平^[9]。而其脂质双分子层结构可以保护内含物免受降解酶或化学物质的侵蚀,并可有效通过血脑屏障实现高效治疗^[10]。受此启发,越来越多的研究注重于 MSCs 源外泌体在疾病治疗方面的潜在功能。

2 MSCs 源外泌体在神经系统疾病中的应用

2.1 阿尔茨海默病(AD)

AD是以进行性认知功能障碍和行为损害为特征的中枢神经系统退行性病变,是老年期最常见的痴呆类型,目前尚未开发出能有效逆转病程的药物。AD的主要病因之一是脑中 A β 的聚集。A β 是由淀粉样前体蛋白经 β -和 γ -分泌酶的蛋白水解作用而产生^[11]。利用该点,研究人员通过基因修饰 MSCs,使其分泌富含治疗因子的外泌体(例如可靶向作用 β -和 γ -分泌酶的 SiRNA),进而降低脑内 A β 的水平^[9]。此外,既往实验发现对 MSCs 进行缺氧预处理可以增强其抗凋亡能力,并促进它的增殖和神经分化^[12]。在此基础上, Cui 等^[13]将经过低氧预处理的 MSCs 源外泌体通过尾静脉注入 AD 模型小鼠体内,发现这些外泌体能够有效地减少小鼠脑内 A β 的积累、增加突触蛋白的表达,下调炎症因子 TNF- α 和白细胞介素(interleukin, IL)-1b 的水平,同时上调抗炎因子 IL-4 和 IL-10 的表达,进而改善小鼠的学习和记忆功能。考虑到全身给药后 MSCs 源外泌体在脑中的含量十分有限, Cui 等^[14]在最新的研究中利用中枢神经系统特异性狂犬病毒糖蛋白(rabies virus glycoprotein, RVG)修饰 MSCs 源外泌体(RVG 可与乙酰胆碱受体特异性地相互作用,靶向作用于神经细胞^[15]),发现 RVG 标记的 MSCs 源外泌体在静脉给药后对大脑皮质和海马显示出更好的靶向性,可明显降低脑内 A β 水平。由此看来, MSCs 源外泌体能够针对 AD 的主要病理机制起到有效的治疗作用。

2.2 脑梗死

脑梗死是指因脑部血液循环障碍,缺血、缺氧所致的局限性脑组织的缺血性坏死或软化。一般来说,恢复最快、预后较好的治疗方法是在疾病早期进行溶栓或取栓术以及及时恢复血流。但很多病例并不能在溶栓时间窗内得到有效治疗。Xin H 等^[16]建立大脑中动脉闭塞型(middle cerebral artery occlusion, MCAO)脑梗死大鼠模型,并用 MSCs 源外泌体进行干预,发现与对照组相比, MSCs 源外泌体可显著促进 MCAO 大鼠神经血管的重塑和功能恢复。进一

作者单位

1. 同济大学附属上海市第四人民医院
脑血管病科

上海 200434

2. 南京医科大学附属无锡市人民医院
神经内科

3. 暨南大学第二临床医学院/南方科技大学第一附属医院/深圳市人民医院

广东 深圳 518020

收稿日期

2021-04-20

通讯作者

张剑平

zjp201907@

126.com

步探讨其中机制发现 MSCs 可以通过外泌体转移 microRNA 133b(miR-133b)来调节神经轴突的生长。已有研究证实,miR-133b 在神经元的分化和神经细胞轴突的生长中发挥着重要作用^[17]。研究者们通过分析对比正常大鼠脑和 MCAO 大鼠同侧脑的总 RNA 发现:MCAO 大鼠同侧大脑 miR-133b 显著降低。将 MCAO 大鼠的脑组织放入含有 MSCs 的培养基中培养,72 h 后发现 MCAO 大鼠的脑组织中 miR-133b 显著升高,且升高的 miR-133b 来源于 MSCs 分泌的外泌体^[18]。此外,该团队通过质粒转染 MSCs 使之分泌富含 miR-17-92 的外泌体(miR-17-92 可通过调节抑癌基因 *PTEN* 的表达来促进神经元的轴突生长^[19]),对比发现干预后的 MSCs 源外泌体治疗作用明显加强^[20]。以上研究表明, MSCs 源外泌体具有治疗脑卒中的潜力,而通过对外泌体的进一步干预修饰,治疗作用可显著增强。

2.3 创伤性脑损伤

创伤性脑损伤(trumatic brain injury, TBI)是导致中青年人群残疾和死亡的重要原因,其发病机制主要是原发性和继发性损伤导致的暂时或永久性的神经功能缺损。原发性损伤破坏血脑屏障,损伤神经元和胶质细胞,引起局部炎症,造成继发性损伤^[21]。由于原发性损伤往往不可逆,TBI 的治疗主要针对继发性损伤展开。Kota 等^[8]在向 TBI 大鼠模型注射 MSCs 后观察到大鼠脑内促炎因子 IFN- γ 和 TNF- α 的表达量减少了 50%,同时血脑屏障通透性显著降低。Ni 等^[22]最新的研究显示 MSCs 源外泌体可分别通过下调诱导型一氧化氮合酶和上调 CD206、精氨酸酶-1 的水平,抑制促炎细胞因子 TNF- α 和 IL-1 β 的表达,增加抗凋亡的 B 细胞性淋巴瘤-2(BCL-2)的表达,调节免疫反应。有实验进一步比较了 MSCs 和 MSCs 源外泌体对 TBI 的治疗效果,发现与能分泌等量外泌体的 MSCs 相比,直接注射 MSCs 源外泌体的抗炎效果更佳,可能原因在于 MSCs 静脉注射后大部分进入了肺部^[23]。这一发现提示 MSCs 衍生的外泌体免疫原性较低,更具稳定性、高效性,可替代全细胞治疗 TBI。

2.4 胶质母细胞瘤

胶质母细胞瘤(glioblastoma, GBM)是最常见的中枢神经系统恶性肿瘤,目前的治疗方案非常有限,患者的中位生存期仅 15 个月。研究发现,GBM 通过释放一些趋化因子和生长因子(包括血管内皮生长因子 VEGF、促炎因子 IL-8、血小板衍生生长因子 PDGF-BB 和神经营养因子 NT-3 等)介导 MSCs 对 GBM 的趋向性,进而 MSCs 可以作为药物载体定向作用于 GBM 甚至是发挥免疫调节作用,有效改变 GBM 的免疫微环境^[24,25]。Amir 等^[26]筛选出 miR-4731 作为肿瘤抑制因子,特异性修饰 MSCs 后将其与 GBM 癌细胞共培养,发现 miR-4731-MSCs 可诱导癌细胞凋亡。Malte 等^[27]则基因修饰 MSCs,使其高表达促炎细胞因子 IL-12 和 IL-7,诱导 GBM 小鼠模型产生高效的抗肿瘤 T 细胞应答,提高了实验鼠的免疫力并延长了总生存期。但也有大量的证据表明,在肿瘤微环境中, MSCs 可通过外泌体与癌细胞相互作用,分泌大量细胞因子和生长因子,促进癌细胞的存活、生长、转移扩散和免疫逃逸^[28,29]。Pavon LF 等^[29]将标记后的 MSCs 通过尾静脉注射到 GBM 模型鼠体内,发现其能够跨越血脑屏

障并迁移到肿瘤区域,而 MSCs 浸润肿瘤后,又可通过外泌体释放细胞因子 TGF β 1 刺激 GBM 细胞增殖(TGF β 1 是一种转化生长因子,能够促进肿瘤细胞的增殖和迁移^[30])。另外,除了考虑到 MSCs 与 GBM 之间的联系,GBM 细胞本身的间质化,也是 GBM 难治性的重要原因之一。有报道称,GBM 的难治性部分归因于具有治疗抗性的胶质瘤干细胞(glioma stem cells, GSCs)。其不仅与 GBM 的形成和进展有关,也增强了 GBM 对常规化疗和放射性治疗的耐药性^[31]。来自 MD 安德森癌症中心的研究团队发现^[32],GBM 中存在有类似于 MSCs 的基质细胞,即胶质瘤相关的 MSCs(GA-hMSCs)。在体内外实验中,GA-hMSCs 通过分泌 IL-6 促进 GSCs 的增殖和自我更新,增强 GSCs 的致瘤性和间质特性^[33]。此外,GA-hMSCs 分泌的外泌体中含有大量的 miR-1587,可下调 GSCs 中抑癌因子 NCOR1 的表达,显著增加了 GSCs 的增殖和克隆形成能力^[32,34]。未来的治疗方案,通过基因修饰等方法,GA-hMSCs 也可作为一种新的治疗靶点。

3 结语与展望

截至目前,国内外大量研究结果证实, MSCs 源外泌体在神经系统疾病的治疗方面有着广阔的应用前景。MSCs 源外泌体能够减轻炎症反应,促进神经损伤的修复以及功能的重建,并且与 MSCs 本身相比,外泌体的安全性更高、性质更稳定、作用更具靶向性,在疾病治疗方面有着更大的潜力。未来我们需要深入探讨 MSCs 源外泌体调节神经系统疾病的免疫反应、促进神经轴突生长的具体机制,排除可能存在的负面作用,对 MSCs 源外泌体进行更精准的干预,以提高治疗的安全性、高效性,进而早日实现有效的临床应用。

参考文献

[1] Gorabi AM, Kiaie N, Barreto GE, et al. The Therapeutic Potential of Mesenchymal Stem Cell - Derived Exosomes in Treatment of Neurodegenerative Diseases[J]. Mol Neurobiol, 2019, 56: 8157-8167.
[2] Ferguson SW, Wang J, Lee CJ, et al. The microRNA regulatory landscape of MSC-derived exosomes: a systems view[J]. Sci Rep, 2018, 8: 1419-1431.
[3] Zhang H, Grizzle WE. Exosomes A Novel Pathway of Local and Distant Intercellular Communication that Facilitates the Growth and Metastasis of Neoplastic Lesions[J]. Am J Pathol, 2014, 184: 28-41.
[4] Hao Z, Lu J, Wang S, et al. Stem cell-derived exosomes: A promising strategy for fracture healing[J]. Cell Prolif, 2017, 50: e12359.
[5] He C, Zheng S, Luo Y, et al. Exosome Theranostics: Biology and Translational Medicine[J]. Theranostics, 2018, 8: 237-255.
[6] Luo L, Tang J, Nishi K, et al. Fabrication of synthetic mesenchymal stem cells for the treatment of acute myocardial infarction in micenovelty and significance[J]. Circ Res, 2017, 120: 1768-1775.
[7] Fukumura S, Sasaki M, Kataoka-Sasaki Y, et al. Intravenous infusion of mesenchymal stem cells reduces epileptogenesis in a rat model of status epilepticus[J]. Epilepsy Res, 2018, 141: 56-63.
[8] Kota DJ, Prabhakara KS, Toledano-Furman N, et al. Prostaglandin E2 Indicates Therapeutic Efficacy of Mesenchymal Stem Cells in Experimental Traumatic Brain Injury[J]. Stem Cells, 2017, 35: 1416-1430.
[9] Liew LC, Katsuda T, Gailhouse L, et al. Mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles: a glimmer of hope in treating Alzheimer's disease[J]. Int Immunol, 2017, 29: 11-19.
[10] Zhang Y, Cai H, Chen S, et al. Exosomal transfer of miR-124 inhibits normal fibroblasts to cancer-associated fibroblasts transition by targeting

- [40] Shi ZS, Duckwiler GR, Jahan R, et al. New Cerebral Microbleeds After Mechanical Thrombectomy for Large-Vessel Occlusion Strokes[J]. *Medicine (Baltimore)*, 2015, 94: e2180.
- [41] Gao Y, Nie K, Duan Z, et al. A Follow-up Study of Cerebral Microbleeds in Patients Who Received Stents for Symptomatic Cerebral Artery Stenosis[J]. *Ann Vasc Surg*, 2019, 58: 338-346.
- [42] Kakumoto K, Matsumoto S, Nakahara I, et al. Rapid formation of cerebral microbleeds after carotid artery stenting[J]. *Cerebrovasc Dis Extra*, 2012, 2: 9-16.
- [43] Igarashi S, Ando T, Takahashi T, et al. Development of cerebral

microbleeds in patients with cerebral hyperperfusion following carotid endarterectomy and its relation to postoperative cognitive decline[J]. *J Neurosurg*, 2021: 1-7.

[44] Gupta N, Corriere M A, Dodson TF, et al. The incidence of microemboli to the brain is less with endarterectomy than with percutaneous revascularization with distal filters or flow reversal[J]. *J Vasc Surg*, 2011, 53: 316-322.

[45] 许康, 杜远敏, 李清. 脑微出血数量及分布对认知的影响[J]. *神经损伤与功能重建*, 2021, 16: 347-349, 358.

(本文编辑:唐颖馨)

(上接第594页)

- sphingosine kinase 1 in ovarian cancer[J]. *J Cell Biochem*, 2019, 120: 13187-13201.
- [11] Wang X, Zhou X, Li G, et al. Modifications and Trafficking of APP in the Pathogenesis of Alzheimer's Disease[J]. *Front Mol Neurosci*, 2017, 10: 294.
- [12] Yu J, Liu X, Cheng Q, et al. G-CSF and hypoxic conditioning improve the proliferation, neural differentiation and migration of canine bone marrow mesenchymal stem cells[J]. *Exp Ther Med*, 2016, 12: 1822-1828.
- [13] Cui G, Wu J, Mou F, et al. Exosomes derived from hypoxia-preconditioned mesenchymal stromal cells ameliorate cognitive decline by rescuing synaptic dysfunction and regulating inflammatory responses in APP/PS1 mice[J]. *FASEB J*, 2018, 32: 654-668.
- [14] Cui G, Guo H, Li H, et al. RVG-modified exosomes derived from mesenchymal stem cells rescue memory deficits by regulating inflammatory responses in a mouse model of Alzheimer's disease[J]. *Immun Ageing*, 2019, 16: 10.
- [15] Arora S, Kanekiyo T, Singh J, et al. Efficient neuronal targeting and transfection using RVG and Transferrin-conjugated liposomes [J]. *Brain Res*, 2020, 1734: 146738.
- [16] Xin H, Li Y, Cui Y, et al. Systemic Administration of Exosomes Released from Mesenchymal Stromal Cells Promote Functional Recovery and Neurovascular Plasticity After Stroke in Rats[J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2013, 33: 1711-1715.
- [17] Li D, Zhang P, Yao X, et al. Exosomes Derived From miR-133b-Modified Mesenchymal Stem Cells Promote Recovery After Spinal Cord Injury[J]. *Front Neurosci*, 2018, 12: 845.
- [18] Xin H, Li Y, Liu Z, et al. Mir-133b Promotes Neural Plasticity and Functional Recovery after Treatment of Stroke with Multipotent Mesenchymal Stromal Cells in Rats Via Transfer of Exosome-Enriched Extracellular Particles[J]. *Stem Cells*, 2013, 31: 2737-46.
- [19] Liu X S, Chopp M, Wang X L, et al. MicroRNA-17-92 Cluster Mediates the Proliferation and Survival of Neural Progenitor Cells after Stroke[J]. *J Biol Chem*, 2013, 288: 12478-12488.
- [20] Xin H, Katakowski M, Wang Basic F, et al. MicroRNA cluster miR-17 - 92 Cluster in Exosomes Enhance Neuroplasticity and Functional Recovery After Stroke in Rats[J]. *Stroke*, 2017, 48: 747-753.
- [21] Galgano M, Toshkezi G, Qiu X, et al. Traumatic Brain Injury: Current Treatment Strategies and Future Endeavors[J]. *Cell Transplant*, 2017, 26: 1118-1130.
- [22] Ni H, Yang S, Siaw-Debrah F, et al. Exosomes Derived From Bone

Mesenchymal Stem Cells Ameliorate Early Inflammatory Responses Following Traumatic Brain Injury[J]. *Front Neurosci*, 2019, 13: 14.

[23] Kim DK, Nishida H, An SY, et al. Chromatographically isolated CD63 + CD81 + extracellular vesicles from mesenchymal stromal cells rescue cognitive impairments after TBI[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2016, 113: 170-175.

[24] Parker Kerrigan BC, Shimizu Y, Andreeff M, et al. Mesenchymal stromal cells for the delivery of oncolytic viruses in gliomas[J]. *Cytotherapy*, 2017, 19: 445-457.

[25] Doucette T, Rao G, Yang Y, et al. Mesenchymal stem cells display tumor-specific tropism in an RCAS/Ntv-a glioma model[J]. *Neoplasia*, 2011, 13: 716-725.

[26] Allahverdi A, Arefian E, Soleimani M, et al. MicroRNA - 4731 - 5p delivered by AD - mesenchymal stem cells induces cell cycle arrest and apoptosis in glioblastoma[J]. *J Cell Physiol*, 2020, 235: 8167-8175.

[27] Mohme M, Maire C L, Geumann U, et al. Local intracerebral immunomodulation using interleukin-expressing mesenchymal stem cells in glioblastoma[J]. *Clin Cancer Res*, 2020, 26: 2626-2639 .

[28] Yi D, Xiang W, Zhang Q, et al. Human Glioblastoma-Derived Mesenchymal Stem Cell to Pericytes Transition and Angiogenic Capacity in Glioblastoma Microenvironment[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2018, 46: 279-290.

[29] Pavon LF, Sibov TT, de Souza AV, et al. Tropism of mesenchymal stem cell toward CD133+ stem cell of glioblastoma in vitro and promote tumor proliferation in vivo[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2018, 9: 310.

[30] Chunming J, Fang S, Jianmin D, et al. MicroRNA-564 is downregulated in glioblastoma and inhibited proliferation and invasion of glioblastoma cells by targeting TGF- β 1[J]. *Oncotarget*, 2016, 7: 56200-56208.

[31] Junca A, Villalva C, Tachon G, et al. Crizotinib targets in glioblastoma stem cells[J]. *Cancer Med*, 2017, 6: 2625-2634.

[32] Figueroa J, Phillips LM, Shahar T, et al. Exosomes from Glioma-Associated Mesenchymal Stem Cells Increase the Tumorigenicity of Glioma Stem-like Cells via Transfer of miR-1587[J]. *Cancer Res*, 2017, 77: 5808-5819.

[33] Hossain A, Gumin J, Gao F, et al. Mesenchymal Stem Cells Isolated From Human Gliomas Increase Proliferation and Maintain Stemness of Glioma Stem Cells Through the IL - 6/gp130/STAT3 Pathway[J]. *Stem Cells*, 2015, 33: 2400-2415.

[34] Heldring N, Nyman U, Lönnerberg P, et al. NCoR controls glioblastoma tumor cell characteristics[J]. *Neuro Oncol*, 2014, 16: 241-249.

(本文编辑:唐颖馨)