

外泌体在脑卒中病理过程中的作用及机制研究

王霞, 朱敏霞, 韩峰* (浙江大学药学院, 杭州 310058)

摘要: 外泌体是直径 30~120 nm 的细胞外脂双层囊泡。作为运输信号分子的载体, 外泌体能够促使神经血管单元内细胞间通讯, 这一功能主要与脑卒中发病后神经元、星形胶质细胞和内皮细胞损伤病理情况有关。外泌体介导神经元病理机制包括: 调节神经元发生, 促进神经元重塑, 适应应激条件以及抑制免疫反应; 调节星形胶质细胞的生长, 维护血管内皮完整性等。根据外泌体的特性及其作用机制, 近年来将外泌体作为生物标志物以及作为药物载体用以诊断或治疗脑卒中的研究不断增加。本文对外泌体在脑卒中发生、发展病理过程中的作用机制和应用进行综述。

关键词: 外泌体; 脑卒中; 神经血管单元

中图分类号: R966 文献标志码: A 文章编号: 1007-7693(2018)07-1095-07

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2018.07.034

引用本文: 王霞, 朱敏霞, 韩峰. 外泌体在脑卒中病理过程中的角色及机制研究[J]. 中国现代应用药学, 2018, 35(7): 1095-1101.

Roles of Exosomes in the Pathological Process of Stroke

WANG Xia, ZHU Minxia, HAN Feng* (College of Pharmaceutical Science, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China)

ABSTRACT: Exosomes are lipid-dilayered extracellular vesicles in diameter of 30 to 120 nm. As the transporting carriers of signaling molecules, exosomes promote the exchange of signals among neurons, glial cells and vascular endothelial cells, which is tightly associated with the pathology statues of neurons and blood-brain barrier after onset of stroke. The pathology mechanisms mediated by exosomes include the regulation of neurogenesis, the enhancement of neuronal remodeling, the adaptation to stress and inhibition of immune response; besides, exosomes regulate the growth of astrocytes and the protection of vascular endothelial integrity. Accumulated evidences shown that exosomes as a novel biomarkers and drug carriers for clinical diagnosis or stroke therapy. In this paper, the role of exosomes in brain ischemia is reviewed.

KEY WORDS: exosomes; stroke; neurovascular unit

脑血管疾病是危害人类健康的重大疾病, 世界卫生组织(World Health Organization, WHO)报告显示, 全球脑血管疾病死亡率为 10.8%^[1], 其中发展中国家卒中死亡率高达 75.2%, 致残率为 81.0%^[2]。急性缺血性卒中发生在供应大脑的动脉闭塞时, 造成由内皮细胞、血管平滑肌、神经胶质细胞、神经元和相关的组织基质蛋白组成的神经血管单元损伤^[3], 导致脑组织死亡和局灶性神经功能缺损^[4-5]。卒中发生早期使用的重组组织纤溶酶原激活剂(recombinant tissue-type Plasminogen Activator, rtPA)是目前临床主要治疗药物^[6], 但是该药的治疗窗口仅为 4.5 h, 患者在近端动脉严重阻塞或具有全身溶栓的禁忌症情况下, 超过 4.5 h 后用药容易产生出血等不良反应^[5]。

外泌体是一种直径为 30~120 nm 的脂双层囊泡, 可以跨过血脑屏障^[7], 由细胞腔内囊泡(intraluminal vesicle, ILVs)的多泡体(multivesicular bodies, MVBs)与细胞膜融合后分泌到细胞外^[8], 其中携带不同的蛋白质、脂质、RNA(mRNA、非编码 RNA)等生物大分子^[9]。在正常或者病理情况下, 由不同的细胞分泌带有特殊成分的外泌体, 通过血流运输以配体-受体的方式长距离或者临近作用于靶细胞^[10-11]。在中枢神经系统中, 外泌体通常被认为用来清除废弃的 RNA 和质膜, 然而, 其更重要的作用是作为信号分子的载体, 介导神经细胞间通讯和调节生命活动^[12]。最近的研究表明, 外泌体及其携带的生物分子在脑血管病的发生和修复中扮演了举足轻重的角色, 功能外泌体

作者简介: 王霞, 女 Tel: (0571)88208402 E-mail: siawon_zju@163.com
E-mail: changhuahan@zju.edu.cn

*通信作者: 韩峰, 男, 博士, 教授 Tel: (0571)88208402

充当药物分子载体或作为生物标记物可用于临床诊断与治疗,为脑卒中治疗提供了新路径。

本文整理了近年来基于外泌体和脑卒中的相关研究,了解外泌体在神经血管微环境中的通讯功能,归纳外泌体及其所载分子对神经血管的修复机制,介绍外泌体在治疗脑卒中的最新进展,并提出展望,根据外泌体的性质挖掘其潜在的应用价值。

1 外泌体与细胞通讯

外泌体因其来源、内容物、靶细胞的不同而具有特异性。在病理或生理条件下,外泌体携带蛋白质、脂质和遗传物质(mRNA、miRNA等),在源细胞和靶细胞之间转移其内容物,是细胞通讯中的重要角色^[13]。作为外泌体重要的内容物,miRNA是一类20~25个核苷酸长度的非编码RNA,它通过增加mRNA的不稳定性、减少或者抑制翻译以及表观遗传的改变来减少基因的表达^[14]。许多脑血管疾病发病后的机体自我修复机制由miRNA介导,而miRNA在细胞内水平的变化常通过外泌体的运输来实现,这些通路随着近年来研究的深入才逐渐被揭开神秘的面纱。例如,外泌体介导miRNA(尤其是miR-124a)从神经元转移到突触前星形胶质细胞,改变星形胶质细胞内miR-124a和GLT1蛋白的表达水平,从而影响星形胶质细胞的功能^[15];突触前细胞能够将Synaptotagmin 4介导的逆行信号通过外泌体转导给突触后细胞^[16],起到神经元之间交流的作用。脉络丛上皮细胞分泌的外泌体可以进入脑实质,并被星形胶质细胞和小胶质细胞摄取,传递外周炎症信息^[17];起源于中枢神经系统和神经微环境的外泌体可以随着情况的变化而变化,能够进入外周血液循环,将中枢神经系统的状态直接传递到周围器官和组织^[18]。外泌体介导的细胞间信号传输的发现,使细胞内的物质水平变化不再孤立。将单个细胞串联在信号通路中进行研究,为治疗靶点的探索提供了更广阔的思路。

2 外泌体与脑卒中病理机制

脑缺血后的细胞死亡是由各种复杂的生理病理机制相互作用介导的^[19]。大脑的整体性要求学者摆脱神经元的局限,而不是再将各个细胞群体割裂开来研究,于是出现了神经血管单元的概念。Harder定义神经血管单元为由神经元、中间神经元、星形胶质细胞、由平滑肌细胞和周细胞覆盖的基底层、内皮细胞以及细胞外基质构成的整体

^[20]。每个组件彼此紧密关联,形成结构和功能统一的高效的脑血流量调节系统^[21-22]。在缺血性损伤期间,神经血管单元微环境中所有组分均受到破坏,导致神经元直接或间接损伤^[3]。

外泌体在神经血管单元中扮演重要的信号传递的角色,研究较多地集中于神经元、星形胶质细胞和血管内皮细胞。外泌体充当通讯的信号以及信号传输的载体,介导上游细胞对靶细胞的生命活动的调节,促使疾病的发生和恢复,这些通路中存在脑卒中治疗和药物研发的潜在靶点。

2.1 外泌体与缺血后神经元损伤

当大脑动脉堵塞或血管迸裂时,诱发血液循环障碍,导致包括神经细胞在内的脑组织由于缺氧供而死亡。在缺血性脑卒中期间,神经元被剥夺了氧气和能量,其正常代谢基质在几秒内停止运行,并仅在2 min后就显示出结构损伤迹象^[23]。缺血后,细胞能量依赖过程立即衰退,使神经细胞的跨膜离子浓度不能维持正常水平,离子与水的失衡进而导致细胞凋亡与坏死^[24-25]。各种研究表明,神经系统主要类型的细胞,包括少突胶质细胞、星形胶质细胞、神经元等,都能释放外泌体^[26]。这些外泌体携带的蛋白质与RNA被神经元内吞^[26],帮助抑制和修复由于脑血管病引起的神经元损坏。因此,外泌体为脑卒中等脑血管病后的神经保护和修复提供了新的治疗方法,具有取代细胞治疗的潜力^[27]。

2.1.1 外泌体促进神经元发生(neurogenesis) 在成年哺乳动物大脑中,神经发生存在于侧脑室室下区(subventricular zone, SVZ)和海马齿状回颗粒下区(subgranular zone, SGZ)。正常生理情况下,神经祖细胞(neural progenitor cells, NPCs)由神经干细胞产生,具有一定的分裂潜能,分化成可迁移的成神经细胞(neuroblast)最后成为神经元。局灶性脑缺血能增加SVZ的神经发生,新产生的成神经细胞从SVZ迁移到缺血区域^[28],参与脑修复过程。间充质干细胞/多潜能间充质基质细胞(mesenchymal stem cells/multipotent mesenchymal stromal cells, MSCs)可以通过外泌体将外源性的miR-124功能性地递送到NPCs和星形胶质细胞^[29]。miR-124在生理条件下通过靶向SRY盒基因的转录因子Soc9^[30],或在中风后通过靶向Notch受体配体的JAG1(Jagged-1),介导成体神经发生^[31]。体内的miR-124水平的抑制能促进SVZ星形胶质细胞样干细胞的发生,而NPCs中miR-124过表达

则抑制神经元增殖和促进神经元的分化^[31-32]。NPCs 中 Shh(sonic hedgehog)通路的激活能上调 miR-17-92^[33], 脑卒中后 miR-17-92 在 SVZ 神经祖细胞中稳定增加, 通过促进 NPCs 增殖以调节神经发生^[31,33]。Zhang Y 和 Chopp M 等通过向创伤性脑损伤的大鼠注射来自 MSCs 的外泌体, 发现外泌体治疗能显著增加齿状回中新形成的未成熟和成熟的神经元数量, 并减少神经炎症^[34]。

2.1.2 外泌体促进神经细胞重塑 神经突起(包括轴突和树突)再生是中枢神经系统损伤后功能恢复的主要方式。已知, 激活 mTOR 通路能诱导轴突再生。相关研究显示富含 miR-17-92 的外泌体可能通过下调脑组织中 PTEN 表达水平, 影响 PI3K-AKT-mTOR 信号通路, 从而促进轴突与树突的密度增加和功能恢复^[27]。类似地, 成纤维细胞产生的外泌体能将 Wnt 10b 引入脂筏, 并通过 GSK3 β 和 TSC2 激活 mTOR, 促进轴突再生^[35]。

脑卒中中将显著下调脑中 miR-133b^[36], 而通过使用过表达 miR-133b 的 MSCs 分泌的外泌体, 能促进氧糖剥夺(oxygen-glucose deprivation, OGD)情况下星形胶质细胞外泌体的二次释放, 显著增加大脑动脉闭塞小鼠大脑神经突分支数量和神经元的长度^[37]。Xin 等^[36]采用基因敲入和敲除技术调节多能间充质细胞中的 miR-133b 水平, 处理大脑动脉闭塞的大鼠, 证明外泌体能从 MSCs 释放转移到相邻的星形胶质细胞和神经元。而 miR-133 能下调抑制神经突生长的 RhoA^[38], 从而促进神经突的生长。

2.1.3 应激条件下外泌体对神经细胞的保护 在急性脑血管损伤等应激情况下, 少突胶质细胞分泌的外泌体能有效地保护神经元活性。当脑缺血时, 会产生大量的自由基, 过度消耗超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD), 过剩的自由基与脑组织生物膜不饱和脂肪酸发生脂质过氧化连锁反应, 损害脑组织^[39]。由少突胶质细胞释放的外泌体将蛋白脂质蛋白(proteolipid protein, PLP)和 SIRT2 蛋白转移到神经元中, 改善细胞应激条件下神经元的活力^[40]。在 OGD 模型缺血情况下, 少突胶质细胞的外泌体能提供抗氧化酶如过氧化酶和 SOD1, 降低神经元的氧化应激, 保持神经元代谢活性^[40]。此外也有实验表明, 在营养剥夺实验中少突胶质细胞外泌体能增加神经元代谢活动, 起到保护作用^[40]。

少突胶质细胞的外泌体还能促进神经元电话

动的维持。神经元作为神经系统基本单元, 其基本的生理功能之一是产生动作电位, 以传输信息并与其他神经元通信。Fröhlich 等^[26]使用体外多电极阵列的电生理分析发现, 暴露于少突胶质细胞外泌体的神经元的放电速率增加。研究者们进一步发现, Akt 和 Erk 信号通路的刺激可能在外泌体依赖性神经保护中起作用。

2.1.4 脑卒中后免疫抑制 脑卒中能够引起机体固有性免疫和适应性免疫^[41]。将来自成年小鼠 V/SVZ 的神经干细胞暴露于促炎性细胞因子, 能导致富含编码 IFN- γ 信号通路组分的 mRNA 的外泌体释放^[42]。这些外泌体通过 IFN- γ 及其受体 IFNGR 在受体细胞中活化 STAT1 信号, 与脑卒中后的免疫系统通信^[42]。而外周免疫系统与大脑中缺血性炎症之间的相互作用会促进缺血性脑损伤的发展^[43]。通过对比用间充质干细胞产生的细胞外囊泡(MSC-derived EVs, MSC-EVs)和盐水处理的脑卒中小鼠, MSC-EVs 处理的脑卒中小鼠 B 细胞、NK 细胞和 T 细胞的数量正常, 而盐水处理的小鼠表达 MHC II 类树突状细胞的含量显著降低^[44]。因此, MSCs 外泌体处理能减轻局灶性脑缺血对外周血系统的细胞组成和细胞活化状态的影响, 从而保护神经元^[44]。

2.2 外泌体与缺血后星形胶质细胞凋亡

作为血脑屏障(blood-brain barrier, BBB)结构的主要成分, 星形胶质细胞参与调节血流量, 它的功能受来自脑微血管内皮细胞的外泌体的调控。内皮细胞(endothelial cells, ECs)和星形胶质细胞之间的相互作用对于维持体内平衡和病理状况下的 BBB 完整性是必需的。Pan 等^[45]发现, 在正常条件或氧糖剥夺条件下培养的 ECs 所产生的外泌体对星形胶质细胞具有相反的作用。缺氧和葡萄糖的情况下, 外泌体通过激活 PI3K/Akt 途径抑制星形胶质细胞的增殖, 下调星形胶质细胞活化的标志物胶质纤维酸性蛋白(glial fibrillary acidic protein, GFAP)的表达, 促进星形胶质细胞的凋亡, 最终导致 BBB 破坏加重, 局部脑血流量降低, 梗死体积增加和神经功能缺损。探究 ECs 对星形胶质细胞调节作用, 为 BBB 的修复提供了新的通路。

2.3 外泌体与缺血后血管修复

由脑微血管内皮形成的 BBB 是维持神经的精确调节所需的微环境的基础^[46]。血管生成是新血管从原有的脉管系统中形成的过程, 是脑卒中修复的最根本的过程。ECs 的增殖、迁移和分化在其

中起至关重要的作用。血管内皮中 miRNA 在生理病理情况下都具有调控血管发生的作用,称为 Angiomi R^[47]。内皮细胞 miR-210 是决定促进小鼠血管生成和神经发生的微小 RNA 水平的关键因素,其与局部增加的血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)水平相关^[48]。另外,局灶性脑缺血小鼠模型的研究显示脑卒中后 7 d 脑梗死区脑血管中的 miR-15a 上调,其在内皮细胞中的过表达导致中风诱导的血管生成减少^[49]。

神经系统中的细胞通过外泌体将具有保守结构的 miRNA 转移到大脑血管内皮细胞中,以调节血管完整性和促进血管新生。这些研究为细胞间通讯和神经调控的深入了解以及脑卒中的靶向探寻提供了新的可能。2014 年, Zhang 等^[34]首次发现,间充质细胞分泌的外泌体可以部分改善功能恢复,至少可以促进内源性血管生成。Xu 等^[50-51]实验得出,斑马鱼幼虫神经元分泌外泌体与内皮细胞中的 miR132 有关,含 miR132 外泌体分泌的降低会引起颅内出血。神经元分泌含有 miR-132 的外泌体,大脑内皮细胞将其内化后引起 miR-132 的水平升高,作用于真核延伸因子 2 激酶(eukaryotic elongation factor 2 kinase, eef2k),介导血管内皮钙黏蛋白的表达以维持血管内皮的完整性。

3 目前外泌体在脑卒中防治中的潜在应用价值

3.1 作为脑卒中病理机制的阐释手段

过去,对脑卒中病理的研究多停留在表观因素方面。虽然在过去二十多年中学者们整理出了几种缺血性卒中病因分类,但由于在大部分患者中缺少对卒中机制和病因学的了解,其可靠性还需进一步验证^[52]。目前,脑卒中的治疗依然停滞在药物溶栓和手术切除两方面。如今,外泌体为复杂的卒中病理机制提供了阐释的手段,同时推动治疗方法的多样化。外泌体在脑卒中病理的分子机制中起到紧密串联的通讯作用,在微观层面上贯穿脑卒中发病的信号通路,既将孤立的细胞中的分子水平变化置于整体中,又将笼统的表观因素具体化、精确化到某个分子的运输。在理论方面,外泌体的运输解决了细胞内分子的来源和去向;在临床实践方面,这恰好为药物的研发、治疗技术的应用提供了更加丰富多样的手段:例如,阻断来自损伤内皮细胞的外泌体运输,即可阻断下游的星形胶质细胞乃至 BBB 的损伤^[45],提高 miR-17-92 的外泌体运输即可激活级联反应等,从而免除了从下游逆转损伤的困难。这为从源头

控制、治疗脑卒中的发生提供了有力参考。

3.2 作为诊断和评估的生物标志物

外泌体中的 miRNA 可以作为卒中病理过程监测的潜在生物标志物。Chen 等^[53]采集了 50 例急性脑卒中患者血样,发现外泌体中 miR-223 水平明显上调($P<0.001$),并与 NIHSS 评分正相关($r=0.31$, $P=0.03$),且来自于恶性结局患者的外泌体 miR-223 水平明显高于来自于良性结局患者的。这说明了外泌体 miR-223 含量具有作为缺血脑卒中的新型标志物的潜力。同样, Ji 等^[54]对病例的研究,也证明了外泌体的 miR-9 和 miR-124 可能成为诊断急性缺血脑卒中和评估引起的损伤程度的生物标志物。除了 miRNA,来源于脑血管病患者内皮细胞的外泌体(endothelial cell-derived exosome, EDE)和血小板的外泌体(platelet-derived exosome, PDE)中所体现的动脉硬化相关蛋白的水平可能也具有作为脑血管动脉粥样硬化的生物标志物价值^[55]。

然而,通过诱导大鼠永久性或暂时性局灶性脑缺血实验发现,两者外泌体 miR-126 水平无明显差异,而永久性脑缺血模型中血清 miR-126 水平却能在 3 h 后显著降低,这说明血清 miR-126 和外泌体 miR-126 没有相关性^[56]。这也说明,外泌体中特定 miRNA 或蛋白质含量能否作为脑卒中的生物标志物进入临床应用,未来还需要大量样本的研究。

3.3 作为治疗的药物载体

外泌体作为一种纳米颗粒,能够有效地穿过 BBB 进行皮下运输,这是其成为药物载体的巨大优势。不同于体外合成的纳米颗粒^[57],用疾病条件诱导自身细胞释放的非细胞毒性外泌体,能够将信号特异性传递给靶组织或细胞^[58]。最近 Yang 等^[59]的研究表明,用于扩增神经发生的 miRNA 靶向递送,在促进缺血后的预后方面有潜在的发展前景。通过狂犬病病毒糖蛋白(rabies virus glycoprotein, RVG)与溶酶体相关膜糖蛋白 2b(exosomal protein lysosome-associated membrane glycoprotein 2b, Lamp2b)融合所修饰的外泌体,可以有效地传递 miR-124 到梗死部位,促进皮质神经发生来保护缺血性损伤^[59]。

关于脑卒中治疗过程中外泌体的应用, MSCs 在其中扮演重要角色。MSCs 对治疗神经系统疾病和损伤具有潜在疗效^[60],治疗效果可能归因于其强大的外泌体产生和释放能力^[34]。MSC-EVs 对脑血管病的治疗效果主要集中在缺血性卒中模型的

研究^[27, 34, 37, 44, 61-62]。Xu 等^[36]发现大脑中动脉闭塞(middle cerebral artery occlusion, MCAO)的大鼠使用 MSCs 治疗后,同侧半球的 miR-133b 水平显著增加。在体外,用 MSCs 暴露于 MCAO 脑提取物 72 h 后的外泌体富集级分处理物培养神经元,能够显著增加神经突起的分支数和总轴突长度。但是使用活细胞诱导外泌体的体内产生具有一定安全风险^[63]。同一组研究者的另一个实验表明,直接使用 MSCs 衍生的外泌体静脉注射进行全身性治疗能够促进大鼠脑卒中后的神经重塑和血管再生^[62]。MSC-EVs 还展现出在早产儿缺氧缺血性脑损伤的临床前模型中的保护作用^[64]。通过子宫内静脉给药 MSC-EVs,改善羊胎儿全身缺氧缺血后脑功能受损和结构性损伤的状况,减少神经后遗症的发生^[65]。

4 展望

外泌体携带特异性内容物(尤其是 miRNA)在细胞间转移导致局部的分子水平变化,部分完善了对脑卒中病理机制的阐释;外泌体作为一个较新的名词,在脑卒中治疗方面显示出的应用潜力,越来越多地引起了学者的重视和探索。就笔者对文献整理的情况来看,现有的外泌体之于脑卒中的研究呈现点密集的状态,某些方面研究很少,不少问题亟待解决。总的来说,将外泌体应用于脑卒中的研究还潜藏着极大的生命力。

外泌体在脑卒中不同病程的动态变化规律尚不清楚。首先,外泌体的内容物是否由于脑卒中病程阶段不同发生特征性的改变,目前不得而知。其次,前文提到在脑血管病后,血样中外泌体成分检测有望应用于临床诊断和评估的生物标志物;根据前人通过尿液中外泌体 miRNA 的检测判断个体是否是盐敏感性,从而评估高血压风险的研究^[66],那么未来能否基于损伤而未发病的模型,从更广泛的途径(例如尿液)中的外泌体获取脑卒中发病前的临床意义上的特征生物标志物,以达到预防的目的?此外,现有的实验基本是基于病理模型探究外泌体与脑血管疾病的关系,所得关于在病理条件下减少损伤与修复治疗的机制实际上于临床益处很少,且基本上对长期临床治疗无效。那么以血/尿中某种或某几种外泌体含量作为脑卒中症候群体检的指标,预示有利治疗的窗口或者药物作用时间点,将是脑卒中防治的重大突破口。

外泌体关联信号调控参与脑卒中病理过程的分子机制远未阐明。在脑血管病能够引起相关细

胞的 miRNA 含量变化,但是这些变化是否是外泌体介导的尚未可知。例如, Jickling 等^[67]通过 48 例急性缺血性卒中患者与对照组外周血细胞 miRNA 表达的对比,发现缺血性卒中患者的 miR-122、miR-148a、let7i、miR-19a、miR-320d 和 miR-4429 降低,miR-363 和 miR-487b 升高,但这些物质是否就由外泌体介导,在卒中机体自行修复的机制如何还没有确切的答案。在阐明机制的基础之上,可以通过调节外泌体内容物,使外泌体成为临床脑血管疾病的新型治疗手段。

外泌体介导神经血管单元的其他组分之间的联系存在研究价值。目前主要的研究依然较多着眼于神经元,也包括其他神经血管单元组分分泌的外泌体对神经元损伤和修复的调控作用。神经元固然在脑卒中发病进程中处于中心地位,是脑缺血损伤作用的最终环节,但是神经元的损伤逆转的难度很大。若能发现外泌体在脑卒中病程早期作用于神经血管单元其他组分的通路,可能具有更大的临床价值。而多数研究的视野局限于神经元,寥寥数篇着墨于星形胶质细胞和内皮细胞,几乎没有外泌体介导周细胞在脑卒中的研究。现有研究表明周细胞的祖细胞参与中枢神经系统应激反应,有促进神经再生和血管生成的倾向^[68-69]。Mayo 等^[70]用 CoCl_2 刺激周细胞,验证其产生外泌体作用于内皮细胞,激活 HIF 通路促进血管生成。这一结果很可能运用到脑卒中模型中,加速血管生成。另外,已发现的外泌体在神经血管单元中的信号通路多指向神经元,这使得各组分之间的联系依然薄弱,神经元依然处于一个孤立的地位,加快其他组分之间信号及通路的探索,特别是尽量将通路上游延伸,找寻损伤产生的源头,这可能会给脑卒中的治疗和预防带来新的希望。

功能外泌体诱导调控具有潜在临床意义。在脑中外泌体的使用还是具有一定局限性,难以排除异种外泌体的免疫原性,并且同种型外泌体的获得途径还比较复杂,用于临床的实验可能性较小。已知,姜黄素($7.5 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)诱导处理的小鼠大脑内皮细胞可以自发产生具有减缓 BBB 破坏作用的外泌体^[71]。但是近年来几乎没有类似的小分子被发现。笔者认为,找寻在病理状态下诱导机体自发产生相应的功能外泌体的新型小分子药物,以缓解和修复神经血管损伤,可能是未来脑血管疾病药物开发的重点方向之一。

REFERENCES

- [1] FEIGIN V L, LAWES C M, BENNETT D A, et al. Stroke epidemiology: a review of population-based studies of incidence, prevalence, and case-fatality in the late 20th century [J]. *Lancet Neurol*, 2003, 2(1): 43-53.
- [2] FEIGIN V L, KRISHNAMURTHI R V, PARMAR P, et al. Update on the global burden of ischemic and hemorrhagic stroke in 1990-2013: The GBD 2013 Study [J]. *Neuroepidemiology*, 2015, 45(3): 161-176.
- [3] MUOIO V, PERSSON P B, SENDESKI M M. The neurovascular unit - concept review [J]. *Acta Physiol (Oxf)*, 2014, 210(4): 790-798.
- [4] WU D, GAO Y, QI Y, et al. Peptide-based cancer therapy: opportunity and challenge [J]. *Cancer Lett*, 2014, 351(1): 13-22.
- [5] PRABHAKARAN S, RUFF I, BERNSTEIN R A. Acute stroke intervention: a systematic review [J]. *JAMA*, 2015, 313(14): 1451-1462.
- [6] KERR D M, FULTON R L, HIGGINS P, et al. Response of blood pressure and blood glucose to treatment with recombinant tissue-type plasminogen activator in acute ischemic stroke: evidence from the virtual international stroke trials archive [J]. *Stroke*, 2012, 43(2): 399-404.
- [7] VAN DER POL E, BOING A N, HARRISON P, et al. Classification, functions, and clinical relevance of extracellular vesicles [J]. *Pharmacol Rev*, 2012, 64(3): 676-705.
- [8] COCUCCI E, MELDOLESI J. Ectosomes and exosomes: shedding the confusion between extracellular vesicles [J]. *Trends Cell Biol*, 2015, 25(6): 364-372.
- [9] WILLMS E, JOHANSSON H J, MAGER I, et al. Cells release subpopulations of exosomes with distinct molecular and biological properties [J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 22519.
- [10] MATHIVANAN S, LIM J W, TAURO B J, et al. Proteomics analysis of A33 immunoaffinity-purified exosomes released from the human colon tumor cell line LIM1215 reveals a tissue-specific protein signature [J]. *Mol Cell Proteomics*, 2010, 9(2): 197-208.
- [11] RAPOSO G, STOORVOGEL W. Extracellular vesicles: exosomes, microvesicles, and friends [J]. *J Cell Biol*, 2013, 200(4): 373-383.
- [12] TKACH M, THERY C. Communication by extracellular vesicles: Where we are and where we need to go [J]. *Cell*, 2016, 164(6): 1226-1232.
- [13] GYORGY B, HUNG M E, BREAKFIELD X O, et al. Therapeutic applications of extracellular vesicles: clinical promise and open questions [J]. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 2015(55): 439-464.
- [14] YANG Y, YE Y, SU X, et al. MSCs-derived exosomes and neuroinflammation, neurogenesis and therapy of traumatic brain injury [J]. *Front Cell Neurosci*, 2017(11): 55.
- [15] MOREL L, REGAN M, HIGASHIMORI H, et al. Neuronal exosomal miRNA-dependent translational regulation of astroglial glutamate transporter GLT1 [J]. *J Biol Chem*, 2013, 288(10): 7105-7116.
- [16] KORKUT C, LI Y, KOLES K, et al. Regulation of postsynaptic retrograde signaling by presynaptic exosome release [J]. *Neuron*, 2013, 77(6): 1039-1046.
- [17] BALUSU S, Van WONTERGHEM E, De RYCKE R, et al. Identification of a novel mechanism of blood-brain communication during peripheral inflammation via choroid plexus-derived extracellular vesicles [J]. *EMBO Mol Med*, 2016, 8(10): 1162-1183.
- [18] BATIZ L F, CASTRO M A, BURGOS P V, et al. Exosomes as Novel Regulators of Adult Neurogenic Niches [J]. *Front Cell Neurosci*, 2015(9): 501.
- [19] ZHANG R, TANG S, HUANG W, et al. Protection of the brain following cerebral ischemia through the attenuation of PARP-1-induced neurovascular unit damage in rats [J]. *Brain Res*, 2015(1624): 9-18.
- [20] HARDER D R, ZHANG C, GEBREMEDHIN D. Astrocytes function in matching blood flow to metabolic activity [J]. *News Physiol Sci*, 2002(17): 27-31.
- [21] ARMSTEAD W M, RAGHUPATHI R. Endothelin and the neurovascular unit in pediatric traumatic brain injury [J]. *Neurol Res*, 2011, 33(2): 127-132.
- [22] ABBOTT N J, FRIEDMAN A. Overview and introduction: the blood-brain barrier in health and disease [J]. *Epilepsia*, 2012, 53(Suppl 6): 1-6.
- [23] MURPHY T H, LI P, BETTS K, et al. Two-photon imaging of stroke onset in vivo reveals that NMDA-receptor independent ischemic depolarization is the major cause of rapid reversible damage to dendrites and spines [J]. *J Neurosci*, 2008, 28(7): 1756-1772.
- [24] TAO R R, WANG H, HONG L J, et al. Nitrosative stress induces peroxiredoxin 1 ubiquitination during ischemic insult via E6AP activation in endothelial cells both *in vitro* and *in vivo* [J]. *Antioxid Redox Signal*, 2014, 21(1): 1-16.
- [25] LU Y M, HUANG J Y, WANG H, et al. Targeted therapy of brain ischaemia using Fas ligand antibody conjugated PEG-lipid nanoparticles [J]. *Biomaterials*, 2014, 35(1): 530-537.
- [26] FROHLICH D, KUO W P, FRUHEIS C, et al. Multifaceted effects of oligodendroglial exosomes on neurons: impact on neuronal firing rate, signal transduction and gene regulation [J]. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, 2014, 369(1652). Doi: 10.1098/rstb.2013.0510.
- [27] XIN H, KATAKOWSKI M, WANG F, et al. MicroRNA cluster miR-17-92 cluster in exosomes enhance neuroplasticity and functional recovery after stroke in rats [J]. *Stroke*, 2017, 48(3): 747-753.
- [28] ZHANG R L, CHOPP M, GREGG S R, et al. Patterns and dynamics of subventricular zone neuroblast migration in the ischemic striatum of the adult mouse [J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2009, 29(7): 1240-1250.
- [29] LEE H K, FINNISS S, CAZACU S, et al. Mesenchymal stem cells deliver exogenous miRNAs to neural cells and induce their differentiation and glutamate transporter expression [J]. *Stem Cells Dev*, 2014, 23(23): 2851-2861.
- [30] CHENG L C, PASTRANA E, TAVAZOIE M, et al. miR-124 regulates adult neurogenesis in the subventricular zone stem cell niche [J]. *Nat Neurosci*, 2009, 12(4): 399-408.
- [31] LIU X S, CHOPP M, ZHANG R L, et al. MicroRNA profiling in subventricular zone after stroke: MiR-124a regulates proliferation of neural progenitor cells through Notch signaling pathway [J]. *PLoS One*, 2011, 6(8): e23461.
- [32] AKERBLÖM M, SACHDEVA R, BARDE I, et al. MicroRNA-124 is a subventricular zone neuronal fate determinant [J]. *J Neurosci*, 2012, 32(26): 8879-8889.
- [33] 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(18): 12478-12488.
- [34] ZHANG Y, CHOPP M, MENG Y, et al. Effect of exosomes derived from multipotential mesenchymal stromal cells on functional recovery and neurovascular plasticity in rats after traumatic brain injury [J]. *J Neurosurg*, 2015, 122(4): 856-867.
- [35] TASSEW N G, CHARISH J, SHABANZADEH A P, et al. Exosomes mediate mobilization of autocrine Wnt10b to promote axonal regeneration in the injured CNS [J]. *Cell Rep*, 2017, 20(1): 99-111.
- [36] XIN H, LI Y, BULLER B, et al. Exosome-mediated transfer of

- miR-133b from multipotent mesenchymal stromal cells to neural cells contributes to neurite outgrowth [J]. *Stem Cells*, 2012, 30(7): 1556-1564.
- [37] XIN H, WANG F, LI Y, et al. Secondary release of exosomes from astrocytes contributes to the increase in neural plasticity and improvement of functional recovery after stroke in rats treated with exosomes harvested from microRNA 133b-overexpressing multipotent mesenchymal stromal cells [J]. *Cell Transplant*, 2017, 26(2): 243-257.
- [38] THEIS T, YOO M, PARK C S, et al. Lentiviral Delivery of miR-133b Improves Functional Recovery After Spinal Cord Injury in Mice [J]. *Mol Neurobiol*, 2017, 54(6): 4659-4671.
- [39] YU Y, LIANG W Y, DENG F, JIANG Y H, et al. Study of the activity determination of cerebroprotein hydrolysate on nerve cell damage [J]. *Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学)*, 2016, 33(6): 704-707.
- [40] FRUHBREIS C, FROHLICH D, KUO W P, et al. Neurotransmitter-triggered transfer of exosomes mediates oligodendrocyte-neuron communication [J]. *PLoS Biol*, 2013, 11(7): e1001604.
- [41] FAMAKIN B M. The immune response to acute focal cerebral ischemia and associated post-stroke immunodepression: A focused review [J]. *Aging Dis*, 2014, 5(5): 307-326.
- [42] COSSETTI C, IRACI N, MERCER T R, et al. Extracellular vesicles from neural stem cells transfer IFN-gamma via Ifngr1 to activate Stat1 signaling in target cells [J]. *Mol Cell*, 2014, 56(2): 193-204.
- [43] MACREZ R, ALI C, TOUTIRAIS O, et al. Stroke and the immune system: from pathophysiology to new therapeutic strategies [J]. *Lancet Neurol*, 2011, 10(5): 471-480.
- [44] DOEPFNER T R, HERZ J, GORGENSEN A, et al. Extracellular vesicles improve post-stroke neuroregeneration and prevent postischemic immunosuppression [J]. *Stem Cells Transl Med*, 2015, 4(10): 1131-1143.
- [45] PAN Q, HE C, LIU H, et al. Microvascular endothelial cells-derived microvesicles imply in ischemic stroke by modulating astrocyte and blood brain barrier function and cerebral blood flow [J]. *Mol Brain*, 2016, 9(1): 63.
- [46] ABBOTT N J, RONNBACK L, HANSSON E. Astrocyte-endothelial interactions at the blood-brain barrier [J]. *Nat Rev Neurosci*, 2006, 7(1): 41-53.
- [47] ANAND S. A brief primer on microRNAs and their roles in angiogenesis [J]. *Vasc Cell*, 2013, 5(1): 2.
- [48] ZENG L, HE X, WANG Y, et al. MicroRNA-210 overexpression induces angiogenesis and neurogenesis in the normal adult mouse brain [J]. *Gene Ther*, 2014, 21(1): 37-43.
- [49] YIN K J, HAMBLIN M, CHEN Y E. Angiogenesis-regulating microRNAs and ischemic stroke [J]. *Curr Vasc Pharmacol*, 2015, 13(3): 352-365.
- [50] XU B, ZHANG Y, DU X F, et al. Neurons secrete miR-132-containing exosomes to regulate brain vascular integrity [J]. *Cell Res*, 2017, 27(7): 882-897.
- [51] ZHAO Z, ZLOKOVIC B V. Remote control of BBB: A tale of exosomes and microRNA [J]. *Cell Res*, 2017, 27(7): 849-850.
- [52] RADU R A, TEREKOASA E O, BAJENARU O A, et al. Etiologic classification of ischemic stroke: Where do we stand? [J]. *Clin Neurol Neurosurg*, 2017(159): 93-106.
- [53] CHEN Y, SONG Y, HUANG J, et al. Increased circulating exosomal miRNA-223 is associated with acute ischemic stroke [J]. *Front Neurol*, 2017(8): 57.
- [54] JI Q, JI Y, PENG J, et al. Increased brain-specific miR-9 and miR-124 in the serum exosomes of acute ischemic stroke patients [J]. *PLoS One*, 2016, 11(9): e163645.
- [55] GOETZL E J, SCHWARTZ J B, MUSTAPIC M, et al. Altered cargo proteins of human plasma endothelial cell-derived exosomes in atherosclerotic cerebrovascular disease [J]. *FASEB J*, 2017.
- [56] CHEN F, DU Y, ESPOSITO E, et al. Effects of focal cerebral ischemia on exosomal versus serum miR126 [J]. *Transl Stroke Res*, 2015, 6(6): 478-484.
- [57] XU Y, YANG J Y, HU J R, et al. Study on preparation of flexible nano liposome and drug delivery efficiency of brain [J]. *Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学)*, 2014, 31(9): 1082-1086.
- [58] SUN D, ZHUANG X, ZHANG S, et al. Exosomes are endogenous nanoparticles that can deliver biological information between cells [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2013, 65(3): 342-347.
- [59] YANG J, ZHANG X, CHEN X, et al. Exosome mediated delivery of miR-124 promotes neurogenesis after ischemia [J]. *Mol Ther Nucleic Acids*, 2017(7): 278-287.
- [60] YU B, ZHANG X, LI X. Exosomes derived from mesenchymal stem cells [J]. *Int J Mol Sci*, 2014, 15(3): 4142-4157.
- [61] CHEN K H, CHEN C H, WALLACE C G, 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 [J]. *Oncotarget*, 2016, 7(46): 74537-74556.
- [62] 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(11): 1711-1715.
- [63] XIONG Y, MAHMOOD A, CHOPP M. Emerging potential of exosomes for treatment of traumatic brain injury [J]. *Neural Regen Res*, 2017, 12(1): 19-22.
- [64] BORGER V, BREMER M, FERRER-TUR R, et al. Mesenchymal stem/stromal cell-derived extracellular vesicles and their potential as novel immunomodulatory therapeutic agents [J]. *Int J Mol Sci*, 2017, 18(7). Doi: 10.3390/ijms18071450.
- [65] DROMMELSCHMIDT K, SERDAR M, BENDIX I, et al. Mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles ameliorate inflammation-induced preterm brain injury [J]. *Brain Behav Immun*, 2017(60): 220-232.
- [66] FELDER R A, WHITE M J, WILLIAMS S M, et al. Diagnostic tools for hypertension and salt sensitivity testing [J]. *Curr Opin Nephrol Hypertens*, 2013, 22(1): 65-76.
- [67] JICKLING G C, ANDER B P, ZHAN X, et al. microRNA expression in peripheral blood cells following acute ischemic stroke and their predicted gene targets [J]. *PLoS One*, 2014, 9(6): e99283.
- [68] DUZ B, OZTAS E, ERGINAY T, et al. The effect of moderate hypothermia in acute ischemic stroke on pericyte migration: an ultrastructural study [J]. *Cryobiology*, 2007, 55(3): 279-284.
- [69] NAKAGOMI T, MOLNAR Z, NAKANO-DOI A, et al. Ischemia-induced neural stem/progenitor cells in the pia mater following cortical infarction [J]. *Stem Cells Dev*, 2011, 20(12): 2037-2051.
- [70] MAYO J N, BEARDEN S E. Driving the hypoxia-inducible pathway in human pericytes promotes vascular density in an exosome-dependent manner [J]. *Microcirculation*, 2015, 22(8): 711-723.
- [71] KALANI A, KAMAT P K, CHATURVEDI P, et al. Curcumin-primed exosomes mitigate endothelial cell dysfunction during hyperhomocysteinemia [J]. *Life Sci*, 2014, 107(1/2): 1-7.

收稿日期: 2017-08-30
(本文责编: 曹粤锋)