

· 综 述 ·

外泌体在脑缺血再灌注损伤中的作用研究进展

陶代菊, 何波, 罗兴炜, 沈志强

(昆明医科大学药学院暨云南省天然药物药理重点实验室, 云南 昆明 650500)

摘要: 脑缺血再灌注(I/R)损伤发病机制复杂,与炎症反应、神经元凋亡等因素相关。外泌体因可改善神经通讯发生、促进神经元以及髓鞘突触的发育、重构神经血管单元和保持神经系统的稳态,成为治疗脑 I/R 损伤的研究热点。不同来源的外泌体在脑 I/R 中发挥不同作用,急性脑梗死患者来源的外泌体可导致脑损伤加重,而正常干细胞或神经系统细胞来源的外泌体能在损伤发生后阻止相关神经细胞凋亡和改善炎症反应等。本文简述外泌体在脑 I/R 损伤中的作用,并以不同细胞来源(包括干细胞、神经系统细胞和其他组织细胞)的外泌体进行分类,对外泌体在脑 I/R 损伤中的神经生物学机制以及可能的治疗手段等的研究进展进行综述,以期为该类药物研发提供依据。

关键词: 脑缺血再灌注损伤; 外泌体; 微小核糖核酸; 神经修复

中图分类号: R964

文献标志码: A

文章编号: 1000-3002-(2022)10-0768-08

DOI: 10.3867/j.issn.1000-3002.2022.10.006

脑缺血再灌注(ischemia/reperfusion, I/R)损伤是临床常见疾病之一,脑缺血引起脑组织局部损伤,随着缺血时间的延长,脑组织可能会遭受水肿甚至神经元坏死等不可逆的损害^[1]。脑 I/R 损伤是指脑组织发生缺血或缺氧后血流供应恢复造成的组织损伤,但这种脑血液循环的恢复并不伴随着正常功能的恢复^[2]。研究发现,脑 I/R 会导致脑组织产生大量的氧自由基和炎症因子,促使细胞发生凋亡或坏死,进而加重脑组织损伤,引起功能障碍,甚至丧失生理功能^[3-5]。目前,治疗此类损伤的主要方法是减少氧自由基和炎症因子的产生,但大多数治疗药物的疗效并不理想。因此,探索新的脑卒中治疗策略备受瞩目。

外泌体是细胞分泌的纳米级囊泡,电镜下表现为圆形或椭圆形的杯碟状囊泡结构,能通过旁分泌方式将囊泡中的内容物如蛋白质、脂质和核酸等传递到靶细胞从而调控靶细胞的功能,具有良好的生物相容性和低免疫原性,可以发挥抗凋亡、抗炎和抗纤维化及促进血管内皮细胞增殖和血管生成等作用^[6]。外泌体作为一种自分泌物质可穿透血脑屏障^[7],这使得通过修饰外泌体直接作用于缺血区成

为可能。有研究表明,外泌体可通过降低氧化应激和线粒体功能障碍改善脑 I/R 损伤^[8-9]。外泌体以其独特的优势成为治疗脑 I/R 损伤的靶点,但是外泌体治疗脑 I/R 损伤的机制尚未完全阐明。本综述就外泌体与脑 I/R 损伤之间的关系作系统回顾,为脑 I/R 损伤的治疗开拓新的思路。

1 外泌体的分泌与摄取

1.1 分泌

外泌体是在晚期多囊泡内体与质膜融合后由细胞分泌的膜囊泡,可选择性地募集细胞内蛋白质、脂质和核酸^[10],直径 30 ~ 150 nm^[11]。外泌体的生物发生始于质膜内陷形成初级内吞囊泡,随后这些囊泡相互融合,形成早期内吞体腔,特定的内容物在这一过程被并入内陷膜中,而胞质成分被吞噬和封闭在腔内囊泡(intraluminal vesicles, ILV)中,包含有多个 ILV 的晚期核内体被称为多泡体(multivesicular bodies, MVB)。MVB 腔内小泡可能从 MVB 限制性外膜内表面出芽^[12]。外泌体分泌到细胞外需要 ILV 形成、防止 MVB 被降解和 MVB 与细胞表面的融合 3 个步骤;当 MVB 与溶酶体融合时,它们的内容物包括 ILV 就会被降解;晚期核内体和 MVB 也可与质膜融合,将其 ILV 作为外泌体释放到细胞外空间^[13]。在中枢神经系统中,几乎所有细胞如神经干细胞^[14]、小胶质细胞^[15]、神经元^[16]、星形胶质细胞^[17]和少突胶质细胞^[18]等均能分泌外泌体。

基金项目: 云南省科技厅-昆明医科大学联合重点项目(202001AY070001-157)

作者简介: 陶代菊,硕士研究生,主要从事心脑血管药理学研究, E-mail: 1401263672@qq.com

通讯作者: 沈志强, E-mail: shzhq21cn@qq.com

1.2 摄取

一旦外泌体分泌到细胞外后,将其携带的蛋白质、脂质和核酸内容物转移到靶细胞,实现调控功能,但受体细胞摄取外泌体的机制尚未完全阐明。外泌体的生物活性被各种类型的内吞作用调节,如吞噬作用^[19]和大胞吞作用^[20]及网格蛋白^[21]、网格蛋白/小凹蛋白独立^[22]和脂筏^[23]介导的内吞作用。不同类型细胞内化外泌体的方式也不相同,大多数外泌体附着在非吞噬细胞的质膜上,而在吞噬细胞中,这些外泌体通过吞噬作用直接进入靶细胞,吞噬细胞比非吞噬细胞能更有效地内化外泌体^[22]。

2 外泌体在脑 I/R 损伤中的作用

外泌体作为细胞间信号交流的媒介,随着近年来研究的深入,外泌体与脑 I/R 损伤之间有着密切联系。有研究发现,在短期脑卒中预后差的患者中血清外泌体微 RNA (microRNA, miR)-328-3p 的表达水平明显高于预后较好的患者;脑 I/R 损伤模型大鼠给予预后差患者血清外泌体,加重大鼠脑 I/R 损伤,外泌体中 miR-328-3p 可能作为短期判断脑 I/R 损伤程度的生物指标之一^[24]。有学者分离大脑中动脉闭塞再灌注 (middle cerebral artery occlusion/reperfusion, MCAO/R) 模型大鼠血清中的外泌体,对其进行蛋白测定发现,外泌体中生长停滞和 DNA 损伤诱导蛋白 34 (growth arrest and DNA damage-inducible protein 34, GADD34) 显著增加,给予 GADD34 抑制剂可减轻大鼠脑缺血损伤^[25]。有研究收集肝 I/R 损伤模型大鼠血清外泌体,将其注射入正常大鼠体内后引起海马和大脑皮质损害^[26]。Ye 等^[10,27]分离并鉴定了急性脑梗死和正常人血清分离的外泌体,将急性脑梗死患者来源的外泌体注射到 MCAO/R 模型大鼠,导致脑损伤加重和行为恢复不良,并促进脑部炎症发生。综上,当脑 I/R 损伤发生时,外泌体中 miRNA 表达失调,产生神经毒性,进一步加重脑损伤。

在细胞层面,糖氧剥夺/再灌 (oxygen glucose deprivation/reperfusion, OGD/R) 模型诱导的大鼠皮质神经元分泌的外泌体中 miRNA 表达失调,神经元源性外泌体以浓度依赖的形式降低了神经元的存活率并促进其凋亡,且显著抑制神经元树突的形成^[28]。OGD/R 预处理的大鼠小肠隐窝上皮细胞与皮质神经元细胞共培养,可导致皮质神经元的突触毒性、活性降低和神经元凋亡^[29]。综上所述,在脑 I/R 损伤的病理过程中,大鼠皮质神经元分泌的外泌体中

可能含有致病因子,该致病因子被其他细胞摄取后加重细胞损伤,从而导致疾病的加重。因此,针对外泌体内容物的靶点进行干预,可有效改善脑 I/R 损伤的症状。

3 外泌体治疗脑 I/R 损伤

外泌体中被脂质双分子层包裹的内容物分泌到细胞外后可免受蛋白酶和核酸酶的分解,其结构微小、容易透过血脑屏障并且具有低免疫原性^[30]。这种特性提示,外泌体用于治疗脑 I/R 损伤具有一定优势。不同细胞来源的外泌体对脑 I/R 损伤展现出较好的治疗作用,机制包括干细胞来源外泌体促进神经血管单元重塑;神经系统来源的星形胶质细胞、神经祖细胞和小胶质细胞分泌的外泌体能够促进神经发育和再生,维持神经稳态;来源于血清和血浆的外泌体可以阻止血脑屏障被破坏,使活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 生成减少,超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD) 活性增加,改善了线粒体功能,从而降低氧化应激反应,减少脑梗死区域 (图 1)。并且针对外泌体结构和内容物的修饰也展现出了良好的治疗潜能。针对外泌体研究新的药物可能给脑 I/R 损伤患者带来一种新型的治疗策略。

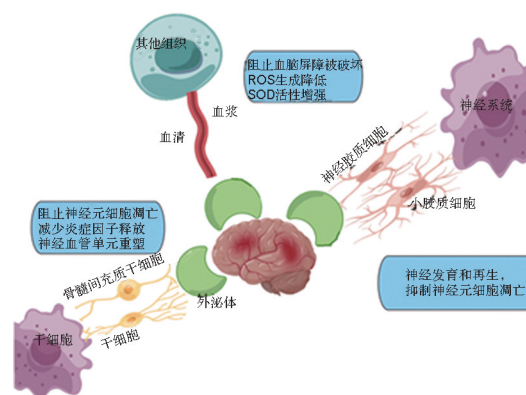


图 1 外泌体治疗脑卒中的可能机制。

3.1 干细胞来源外泌体通过抗炎、抗凋亡改善脑 I/R 损伤

外泌体可以从不同细胞中释放出来,不同细胞来源的外泌体在脑 I/R 损伤中发挥着不同的作用。干细胞因其具有多向分化潜能而受到广泛关注。但干细胞替代治疗时,到达损伤部位的干细胞很少,且干细胞在植入后存活时间短,难以达到预期疗效,故有学者将干细胞的分泌物用于脑 I/R 损伤

的治疗,其效果优于干细胞替代本身^[31-32]。有研究发现,干细胞分泌的外泌体通过调节大脑的细胞和微环境改善脑 I/R 损伤。来源于人骨髓间充质干细胞的外泌体通过尾静脉注射给脑 I/R 损伤模型大鼠,模型大鼠的学习和记忆能力得以改善,血清、皮质和海马中炎症因子白细胞介素 1 α (interleukin-1 α , IL-1 α), IL-2 和肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)水平明显降低,有效抑制神经细胞凋亡^[1]。有学者将大鼠骨髓间充质干细胞来源的外泌体 iv 给予脑 I/R 损伤大鼠,减少了大鼠脑梗死面积,促进了大鼠神经血管单位重塑,并且诱导 M1 型小胶质细胞向 M2 型极化,从而改善炎症反应^[33]。低氧预处理的干细胞与 OGD/R 模型小胶质细胞共培养后,可促进 OGD/R 模型小胶质细胞的存活,并抑制 TNF- α , IL-1 β 和 IL-6 等炎症因子的表达,促进抗炎因子 IL-10 的表达;抑制干细胞外泌体的分泌则明显减轻干细胞培养物对小胶质细胞的影响^[34]。MCAO/R 模型大鼠尾静脉注射间充质干细胞来源的外泌体,可通过逆转半胱氨酰白三烯受体 2/细胞外信号调节蛋白激酶介导的小胶质细胞 M1 极化,抑制小胶质细胞炎症,促进大鼠髓鞘形成和神经元再生,显著提高大鼠的运动、记忆和学习能力^[35]。综上,正常干细胞分泌的外泌体可通过调节大脑细胞微环境稳态和减少促炎因子的释放,改善炎症反应,阻止神经细胞凋亡,从而改善脑 I/R 损伤。

3.2 神经系统细胞来源的外泌体通过抗凋亡改善脑 I/R 损伤

神经系统中的细胞主要包括神经元和神经胶质细胞。神经系统细胞来源的外泌体中含有许多 miRNA,在脑 I/R 损伤中发挥着重要作用,如表 1 所示。最近研究表明,正常神经系统细胞分泌的外泌体在脑 I/R 损伤修复中具有保护作用。有研究发现,星形胶质细胞来源外泌体通过靶向 Toll 样受体 7 下调丝裂原活化蛋白激酶/核因子 κ B 通路,表明 miR-34c 在星形胶质细胞来源外泌体中发挥脑 I/R 损伤时的神经保护作用^[36]。M2 型小胶质细胞来源的外泌体中含有 miR-137,直接靶向 Notch 信号通路,在体外减少 OGD 处理神经元的凋亡,维持神经稳态,并且在体内改善脑 I/R 损伤小鼠的脑梗死体积和行为缺陷^[37]。MCAO 模型大鼠侧脑室注射小鼠脑微血管内皮细胞分泌的外泌体,大鼠的神经行为明显改善;给予外泌体后,神经祖细胞迁移和增殖增加,凋亡减少^[38]。M2 小胶质细胞衍生的外泌体中过表达 miR-124,可通过抑制下游目标蛋白特异性蛋白酶的表达减轻缺血性脑损伤,并促进神经元存活^[39]。

表 1 外泌体微 RNA (miRNA) 在脑缺血再灌注 (I/R) 损伤中的作用

miRNA	作用	参考文献
miR-34c-5p	抗凋亡、促进海马神经元自噬	[40]
miR-142-5p	上调核转录因子红系 2 相关因子 2/抗氧化反应元件信号通路,减轻神经元损伤	[41]
miR-199a-5p	上调 Brahma 相关基因 1,激活核转录因子红系 2 相关因子 2/血红素加氧酶 1 信号通路,提高神经元存活率	[42]
miR-148b-3p	增强应激诱导蛋白 2/核转录因子红系 2 相关因子 2 信号转导,减少细胞凋亡和氧化应激生成	[43]
miR-324-3p	通过调控 GATA 结合蛋白 2,减少缺血性脑损伤	[44]
miR-21a-5p	通过转录激活因子 3 通路诱导小胶质细胞极化	[45]
miR-29a	通过肿瘤蛋白 53 诱导型核蛋白 1 和核因子 κ B/核苷酸结合寡聚化结构域样受体蛋白 3 轴抑制脑 I/R 损伤	[46]
miR-551b-5p	上调脑源性神经营养因子和酪氨酸蛋白激酶 B,促进神经结构和功能的恢复	[47]
miR-132-3p	靶向自噬相关蛋白 12,调节自噬信号通路,改善脑 I/R 损伤	[48]
miR-202-3p	促进血管生成和抑制炎症,通过调节 Toll 样受体 4 介导的炎症预防脑 I/R 损伤	[49]
miR-214	激活核因子 κ B 信号通路,减少梗死面积和海马神经元凋亡	[50]

综上所述,神经系统细胞来源的外泌体能改善神经通讯,促进神经元增殖并抑制其凋亡,减轻脑 I/R 损伤。

3.3 其他组织细胞来源的外泌体通过抗氧化应激和抗炎改善脑 I/R 损伤

人血液中也含有大量外泌体,研究证实,血液中的外泌体具有抗脑 I/R 损伤活性。I/R 损伤模型小鼠脑注射血浆来源外泌体后,脑组织 ROS 生成减少,SOD 活性增强,可阻止血脑屏障的破坏,抑制细胞凋亡,缓解小鼠脑 I/R 损伤^[7]。从大脑缺血预处理的小鼠血清中提取外泌体并与 OGD/R 模型小鼠来源的神经瘤母细胞共培养能有效减轻炎症、凋亡和

氧化,保护小鼠来源神经瘤母细胞免受 OGD/R 诱导的损伤,并且在外泌体中 miR-451a 过表达,抑制炎症和氧化发生^[51]。有研究发现内皮细胞衍生的外泌体通过促进细胞生长、迁移和抑制细胞凋亡,直接保护神经细胞免受 I/R 损伤^[52]。综上所述,血液中的外泌体可通过影响 ROS 生成、提高 SOD 活性、阻止血脑屏障破坏和减轻炎症等机制改善脑 I/R 损伤。

3.4 结构修饰的外泌体在脑 I/R 损伤中的应用

应用生物学技术可以对外泌体进行结构修饰^[53],包括化学连接体、蛋白质、脂质和核酸等^[54]改变外泌体特定的物质,或使用组织工程技术定量密集外泌体,可以有效治疗脑 I/R 损伤。从大鼠全血中分离出外泌体,将槲皮素和抗 GAP43 单克隆抗体整合到外泌体中,通过激活核转录因子红系 2 相关因子 2/血红素加氧酶 1 (heme oxygenase-1, HO-1) 通路明显减少 OGD 诱导的人神经瘤母细胞损伤;将其注射入 MCAO/R 模型动物体内,可明显增加其在大脑中的递送,促进大鼠缺血区细胞存活,并显著抑制 ROS 产生^[55]。过表达 miR-223-3p 大鼠骨髓间充质干细胞来源的外泌体可减少 MCAO/R 模型大鼠脑梗死体积,改善神经功能缺损,促进大鼠学习和记忆能力,并促进缺血皮质和海马中抗炎因子的分泌,体外外泌体 miR-223-3p 以浓度依赖的方式抑制 NMLTC4 诱导的 M1 小胶质细胞生成,并促进 M2 小胶质细胞转化^[56]。有研究从转染 miR-26a-5p 的骨髓间充质干细胞中分离出外泌体,并将其注射到 MCAO 模型小鼠体内显著减少小鼠脑梗死体积,这种外泌体与 OGD/R 诱导的小鼠小胶质细胞共培养后能抑制细胞周期蛋白依赖性激酶 6 表达,明显降低细胞凋亡^[57]。将晚期糖基化终产物拮抗肽 RBP-Lamp2b-HA 转染到人胚肾细胞中,获得分离外泌体,并将其开发为一种低氧特异性载体,用于抗 miRNA 寡核苷酸的鼻脑递送。该外泌体与经缺氧处理小鼠来源的神经瘤母细胞共同孵育,可明显减少晚期糖基化终产物受体阳性细胞的数量,这种外泌体通过鼻腔内滴注的方式给予到脑 I/R 损伤模型大鼠,可降低促炎因子 TNF- α 表达,同时减少细胞凋亡和梗死体积^[58]。

多项实验结果表明,外泌体可作为脑 I/R 损伤的潜在标志物,但在针对外泌体纯化和稳定提取方面仍有诸多困难。超滤技术在处理和分析人类血液来源的外泌体中展现出巨大的潜力,但所使用的设备影响其分离效率^[59]。虽然针对外泌体的提取和鉴定技术尚处于发展阶段,但随着技术的不断进

步,传感器与微单元集成更加多功能化^[60],等离子体传感器可对生物目标进行实时且无标记的检测,具有前所未有的灵敏度和检测极限。它们不仅能使外泌体得以分离,而且还可在传感器上进行现场分析^[61]。未来,新的外泌体提取、分离和鉴定技术有望在脑 I/R 损伤中得以应用。

4 结语

不同细胞来源的外泌体中多种活性成分展现出了明显的改善脑 I/R 损伤能力,外泌体具有低免疫原性、无毒和靶向细胞摄取内化的特点,对其进行结构修饰包载药物可将药物定向摄取到病变部位,将会极大程度提高该类药物在脑 I/R 损伤治疗中的地位。虽然外泌体治疗脑 I/R 损伤的研究大多停留在基础研究阶段,但目前已经有制剂进行临床实验并取得预期效果。尽管已对外泌体进行了大量的研究,但关于其中存在的分子成份、功能和作用机制及其分泌和摄取等环节的诸多问题仍有待回答。通过生物工程技术使外泌体携带有功能性的 miRNA,长链非编码 RNA 和环状 RNA 用于防治脑 I/R 损伤,将为脑 I/R 损伤的治疗提供新策略。

参考文献:

- [1] Zhang Y, Yu J, Liu J, *et al.* Effects of stem cell-derived exosomes on neuronal apoptosis and inflammatory cytokines in rats with cerebral ischemia-reperfusion injury via PI3K/Akt pathway-mediated mitochondrial apoptosis[J]. *Immunopharm Immunol*, 2021, 43(6): 731-740.
- [2] Li L, Wang N, Jin Q, *et al.* Protection of Tong-Qiao-Huo-Xue decoction against cerebral ischemic injury through reduction blood-brain barrier permeability [J]. *Chem Pharm Bull*, 2017, 65(11): 1004-1010.
- [3] Chen CH, Hsieh CL. Effect of acupuncture on oxidative stress induced by cerebral ischemia-reperfusion injury[J]. *Antioxidants (Basel)*, 2020, 9(3):248-263.
- [4] Huang D, Cao Y, Zu T, *et al.* Interference with long noncoding RNA SNHG3 alleviates cerebral ischemia-reperfusion injury by inhibiting microglial activation[J]. *J Leukocyte Biol*, 2022, 111(4): 759-769.
- [5] Shao F, Han D, Shen Y, *et al.* Oxycodone relieves permeability damage and apoptosis of oxygen-glucose deprivation/reoxygenation-induced brain microvascular endothelial cells through ras homolog family member A (RhoA)/ Rho-associated coiled-coil con-

- taining kinases (ROCK)/ myosin light chain 2 (MLC2) signal[J]. *Bioengineered*, 2022, 13(3): 5205-5215.
- [6] Huang L, Ma W, Ma Y, *et al*. Exosomes in mesenchymal stem cells, a new therapeutic strategy for cardiovascular diseases[J]. *Int J Biol Sci*, 2015, 11(2): 238-245.
- [7] Jiang Y, He R, Shi Y, *et al*. Plasma exosomes protect against cerebral ischemia/reperfusion injury via exosomal HSP70 mediated suppression of ROS[J/OL]. *Life Sci*, 2020, 256: 117987 (2020-09-01) [2022-08-01]. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2022.117987>.
- [8] Guo XF, Gu SS, Wang J, *et al*. Protective effect of mesenchymal stem cell-derived exosomal treatment of hippocampal neurons against oxygen-glucose deprivation / reperfusion-induced injury[J]. *World J Emerg Med*, 2022, 13(1): 46-53.
- [9] Li X, Bi T, Yang S. Exosomal microRNA-150-5p from bone marrow mesenchymal stromal cells mitigates cerebral ischemia / reperfusion injury via targeting Toll-like receptor 5[J]. *Bioengineered*, 2022, 13(2): 3030-3043.
- [10] Théry C, Regnault A, Garin J, *et al*. Molecular characterization of dendritic cell-derived exosomes. Selective accumulation of the heat shock protein HSC73[J]. *J Cell Biol*, 1999, 147(3): 599-610.
- [11] Harding C, Heuser J, Stahl P. Endocytosis and intracellular processing of transferrin and colloidal gold-transferrin in rat reticulocytes: demonstration of a pathway for receptor shedding[J]. *Eur J Cell Biol*, 1984, 35(2): 256-263.
- [12] Trowbridge IS, Collawn JF, Hopkins CR. Signal-dependent membrane protein trafficking in the endocytic pathway[J]. *Annu Rev Cell Biol*, 1993, 9(5): 843-854.
- [13] David G, Zimmermann P. Heparanase involvement in exosome formation[J]. *Adv Exp Med Biol*, 2020, 1221(1): 285-307.
- [14] Cao L, Tian T, Huang Y, *et al*. Neural progenitor cell-derived nanovesicles promote hair follicle growth via miR-100[J]. *J Nanobiotechnol*, 2021, 19(1): 20-33.
- [15] Chen X, Qian B, Kong X, *et al*. A20 protects neuronal apoptosis stimulated by lipopolysaccharide-induced microglial exosomes[J / OL]. *Neurosci Lett*, 2019, 712: 134480 (2019-01-29) [2022-08-01]. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2019.134480>.
- [16] Pulliam L, Sun B, Mustapic M, *et al*. Plasma neuronal exosomes serve as biomarkers of cognitive impairment in HIV infection and Alzheimer's disease[J]. *J Neurovirol*, 2019, 25(5): 702-709.
- [17] Winston C, Romero H, Ellisman M, *et al*. Assessing neuronal and astrocyte derived exosomes from individuals with mild traumatic brain injury for markers of neurodegeneration and cytotoxic activity[J / OL]. *Front Neurosci*, 2019, 13: 1005-1019 [2022-08-01]. <https://doi.org/10.3389/fnins.2019.01005>.
- [18] Fitzner D, Schnaars M, Van Rossum D, *et al*. Selective transfer of exosomes from oligodendrocytes to microglia by macropinocytosis[J]. *J Cell Sci*, 2011, 124(Pt 3): 447-458.
- [19] Feng D, Zhao WL, Ye YY, *et al*. Cellular internalization of exosomes occurs through phagocytosis[J]. *Traffic*, 2010, 11(5): 675-687.
- [20] Nakase I, Kobayashi NB, Takatani-Nakase T, *et al*. Active macropinocytosis induction by stimulation of epidermal growth factor receptor and oncogenic Ras expression potentiates cellular uptake efficacy of exosomes[J/OL]. *Sci Rep*, 2015, 5: 10300-10314 [2022-08-01]. <https://doi.org/10.1038/srep10300>.
- [21] Tian T, Zhu YL, Zhou YY, *et al*. Exosome uptake through clathrin-mediated endocytosis and macropinocytosis and mediating miR-21 delivery[J]. *J Biol Chem*, 2014, 289(32): 22258-22267.
- [22] Hazan-Halevy I, Rosenblum D, Weinstein S, *et al*. Cell-specific uptake of mantle cell lymphoma-derived exosomes by malignant and non-malignant B-lymphocytes[J]. *Cancer Lett*, 2015, 364(1): 59-69.
- [23] Svensson KJ, Christianson HC, Wittrup A, *et al*. Exosome uptake depends on ERK1 / 2-heat shock protein 27 signaling and lipid Raft-mediated endocytosis negatively regulated by caveolin-1[J]. *J Biol Chem*, 2013, 288(24): 17713-17724.
- [24] Wang S, Jun J, Cong L, *et al*. miR-328-3p, a predictor of stroke, aggravates the cerebral ischemia-reperfusion injury[J]. *Int J Gen Med*, 2021, 14(1): 2367-2376.
- [25] Yang T, He R, Li G, *et al*. Growth arrest and DNA damage-inducible protein 34 (GADD34) contributes to cerebral ischemic injury and can be detected in plasma exosomes[J / OL]. *Neurosci Lett*, 2021, 758: 136004 (2021-01-28) [2022-08-01]. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2021.136004>.
- [26] 张丽梅, 贾莉莉, 喻文立. 肝缺血再灌注大鼠血清外泌体引起海马和大脑皮质损伤[J]. *生理学报 (Acta Physiologica Sinica)*, 2020, 72(4): 449-454.
- [27] Ye Z, Jin Y, Li H, *et al*. Association of Tim-4 expression in monocyte subtypes with clinical course and prognosis in acute ischemic stroke patients[J]. *Int J Neurosci*, 2020, 130(9): 906-916.

- [28] Chiang CS, Fu SJ, Hsu CL, *et al.* Neuronal exosomes secreted under oxygen-glucose deprivation/reperfusion presenting differentially expressed miRNAs and affecting neuronal survival and neurite outgrowth[J]. *Neuromol Med*, 2021, 23(3): 404-415.
- [29] Hsu CC, Huang CC, Chien LH, *et al.* Ischemia/reperfusion injured intestinal epithelial cells cause cortical neuron death by releasing exosomal microRNAs associated with apoptosis, necroptosis, and pyroptosis[J/OL]. *Sci Rep*, 2020, 10(1): 14409 (2020-09-01) [2022-08-01]. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-71310-5>.
- [30] Mittal R, Bencie N, Langlie J, *et al.* Exosomes as drug delivery vehicles and biomarkers for neurological and auditory systems[J]. *J Cell Physiol*, 2021, 236(12): 8035-8049.
- [31] Agrawal H, Shang H, Sattah AP, *et al.* Human adipose-derived stromal/stem cells demonstrate short-lived persistence after implantation in both an immunocompetent and an immunocompromised murine model[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2014, 5(6): 142-154.
- [32] Oh SH, Choi C, Chang DJ, *et al.* Early neuroprotective effect with lack of long-term cell replacement effect on experimental stroke after intra-arterial transplantation of adipose-derived mesenchymal stromal cells[J]. *Cytotherapy*, 2015, 17(8): 1090-1103.
- [33] Liu X, Zhang M, Liu H, *et al.* Bone marrow mesenchymal stem cell-derived exosomes attenuate cerebral ischemia-reperfusion injury-induced neuroinflammation and pyroptosis by modulating microglia M1/M2 phenotypes[J/OL]. *Exp Neurol*, 2021, 341: 113700 (2021-01-10) [2022-08-01]. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2021.113700>.
- [34] Yu H, Xu Z, Qu G, *et al.* Hypoxic preconditioning enhances the efficacy of mesenchymal stem cells-derived conditioned medium in switching microglia toward anti-inflammatory polarization in ischemia/reperfusion[J]. *Cell Mol Neurobiol*, 2021, 41(3): 505-524.
- [35] Zhao Y, Gan Y, Xu G, *et al.* MSCs-Derived exosomes attenuate acute brain injury and inhibit microglial inflammation by reversing CysLT2R-ERK1/2 mediated microglia M1 polarization[J]. *Neurochem Res*, 2020, 45(5): 1180-1190.
- [36] Wu W, Liu J, Yang C, *et al.* Astrocyte-derived exosome-transported microRNA-34c is neuroprotective against cerebral ischemia/reperfusion injury via TLR7 and the NF- κ B/MAPK pathways[J]. *Brain Res Bull*, 2020, 163: 84-94.
- [37] Zhang D, Cai G, Liu K, *et al.* Microglia exosomal miRNA-137 attenuates ischemic brain injury through targeting Notch1[J]. *Aging*, 2021, 13(3): 4079-4095.
- [38] Zhou S, Gao B, Sun C, *et al.* Vascular endothelial cell-derived exosomes protect neural stem cells against ischemia/reperfusion injury[J]. *Neuroscience*, 2020, 441: 184-196.
- [39] Song Y, Li Z, He T, *et al.* M2 microglia-derived exosomes protect the mouse brain from ischemia-reperfusion injury via exosomal miR-124[J]. *Theranostics*, 2019, 9(10): 2910-2923.
- [40] 卢小叶, 何灏龙, 吕倩忆, 等. 针刺介导 miR-34c-5p 调控脑缺血再灌注损伤大鼠海马神经细胞自噬的研究[J]. 针刺研究 (*Acupuncture Research*), 2022, 47(5): 415-421.
- [41] Wang Z, Liu Z, Fang X, *et al.* MiR-142-5p suppresses tumorigenesis by targeting PIK3CA in non-small cell lung cancer[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2017, 43(6): 2505-2515.
- [42] Li F, Liang J, Tong H, *et al.* Inhibition of microRNA-199a-5p ameliorates oxygen-glucose deprivation/reoxygenation-induced apoptosis and oxidative stress in HT22 neurons by targeting Brg1 to activate Nrf2/HO-1 signalling[J]. *Clin Exp Pharmacol*, 2020, 47(6): 1020-1029.
- [43] Du Y, Ma X, Ma L, *et al.* Inhibition of microRNA-148b-3p alleviates oxygen-glucose deprivation/reoxygenation-induced apoptosis and oxidative stress in HT22 hippocampal neuron via reinforcing Sestrin2/Nrf2 signalling[J]. *Clin Exp Pharmacol*, 2020, 47(4): 561-570.
- [44] Zhang AQ, Wang L, Wang YX, *et al.* Silencing miRNA-324-3p protects against cerebral ischemic injury via regulation of the GATA2/A1R axis[J]. *Neural Regen Res*, 2022, 17(11): 2504-2511.
- [45] Xin DQ, Zhao YJ, Li TT, *et al.* The delivery of miR-21a-5p by extracellular vesicles induces microglial polarization via the STAT3 pathway following hypoxia-ischemia in neonatal mice[J]. *Neural Regen Res*, 2022, 17(10): 2238-2246.
- [46] Liu X, Lv X, Liu Z, *et al.* MicroRNA-29a in astrocyte-derived extracellular vesicles suppresses brain ischemia reperfusion injury via TP53INP1 and the NF- κ B/NLRP3 axis[J]. *Cell Mol Neurobiol*, 2022, 42(5): 1487-1500.
- [47] Wang L, Zhou Y, Chen X, *et al.* Long-term iTBS promotes neural structural and functional recovery by enhancing neurogenesis and migration via miR-551b-5p/BDNF/TrkB pathway in a rat model of cere-

- bral ischemia-reperfusion injury[J]. *Brain Res Bull*, 2022, 184: 46-55.
- [48] Zhang H, Wang X, Chen W, *et al.* Danhong injection alleviates cerebral ischemia-reperfusion injury by inhibiting autophagy through miRNA-132-3p/ATG12 signal axis[J/OL]. *J Ethnopharmacol*, 2023, 300: 115724 (2022-09-14) [2022-08-01]. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2022.115724>.
- [49] Yu G, Sun W, Wang W, *et al.* Overexpression of microRNA-202-3p in bone marrow mesenchymal stem cells improves cerebral ischemia-reperfusion injury by promoting angiogenesis and inhibiting inflammation[J]. *Aging*, 2021, 13(8): 11877-11888.
- [50] Liu W, Shao C, Zang C, *et al.* Protective effects of dexmedetomidine on cerebral ischemia/reperfusion injury via the microRNA-214/ROCK1/NF- κ B axis[J]. *BMC Anesthesiol*, 2021, 21(1): 203-213.
- [51] Li H, Luo Y, Liu P, *et al.* Exosomes containing miR-451a is involved in the protective effect of cerebral ischemic preconditioning against cerebral ischemia and reperfusion injury[J]. *Cns Neurosci Ther*, 2021, 27(5): 564-576.
- [52] Xiao B, Chai Y, Lv S, *et al.* Endothelial cell-derived exosomes protect SH-SY5Y nerve cells against ischemia/reperfusion injury[J]. *Int J Mol Med*, 2017, 40(4): 1201-1209.
- [53] Carnino JM, Ni K, Jin Y. Post-translational modification regulates formation and cargo-loading of extracellular vesicles[J/OL]. *Front Immunol*, 2020, 11: 948-952 [2022-08-01]. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.00948>.
- [54] Lu CH, Chen YA, Ke CC, *et al.* Mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicle: a promising alternative therapy for osteoporosis[J/OL]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(23): 12750 (2021-11-25) [2022-08-01]. <https://doi.org/10.3390/ijms222312750>.
- [55] Guo L, Huang Z, Huang L, *et al.* Surface-modified engineered exosomes attenuated cerebral ischemia/reperfusion injury by targeting the delivery of quercetin towards impaired neurons[J]. *J Nanobiotechnol*, 2021, 19(1): 141-156.
- [56] Zhao Y, Gan Y, Xu G, *et al.* Exosomes from MSCs overexpressing microRNA-223-3p attenuate cerebral ischemia through inhibiting microglial M1 polarization mediated inflammation[J/OL]. *Life Sci*, 2020, 260(1): 118403 (2020-11-01) [2022-08-01]. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2020.118403>.
- [57] Cheng C, Chen X, Wang Y, *et al.* MSCs-derived exosomes attenuate ischemia-reperfusion brain injury and inhibit microglia apoptosis might via exosomal miR-26a-5p mediated suppression of CDK6[J]. *Mol Med*, 2021, 27(1): 67-79.
- [58] Kim M, Lee Y, Lee M. Hypoxia-specific anti-RAGE exosomes for nose-to-brain delivery of anti-miR-181a oligonucleotide in an ischemic stroke model[J/OL]. *Nanoscale*, 2021, 13(33): 14166-14178 [2022-08-01]. <https://doi.org/10.1039/d0nr07516g>.
- [59] Shirejini SZ, Inci F. The Yin and Yang of exosome isolation methods: conventional practice, microfluidics, and commercial kits[J/OL]. *Biotechnol Adv*, 2022, 54: 107814 (2022-01-01) [2022-08-01]. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2021.107814>.
- [60] Ahmed R, Ozen MO, Karaaslan MG, *et al.* Tunable fano-resonant metasurfaces on a disposable plastic-template for multimodal and multiplex biosensing[J/OL]. *Adv Mater*, 2020, 32(19): e1907160 (2020-05-01) [2022-08-01]. <https://doi.org/10.1002/adma.201907160>.
- [61] Mataji-Kojouri A, Ozen MO, Shahabadi M, *et al.* Entangled nanoplasmonic cavities for estimating thickness of surface-adsorbed layers[J]. *ACS Nano*, 2020, 14(7): 8518-8527.

Research progress in roles of exosomes in cerebral ischemia/reperfusion injury

TAO Dai-ju, HE Bo, LUO Xing-wei, SHEN Zhi-qiang

(School of Pharmaceutical Science & Yunnan Key Laboratory of Pharmacology for Natural Products, Kunming Medical University, Kunming 650500, China)

Abstract: The pathogenesis of cerebral ischemia/reperfusion (I/R) injury is complex and related to inflammatory response, neuronal apoptosis and other factors. Exosomes have become a hotspot in the treatment of cerebral I/R injury because they can improve neural communication, promote the develop-

ment of neurons and myelin synapses, reconstruct neurovascular units and maintain the homeostasis of the nervous system. Exosomes from different sources play different roles in cerebral I/R. Exosomes from patients with acute cerebral infarction can lead to the aggravation of brain injury, while those from normal stem cells and nervous system cells can prevent the apoptosis of related neural cells and improve the inflammatory response after injury. This paper outlines the role of exosomes in cerebral I/R injury, classifies exosomes from different sources, and summarizes the possible mechanisms and research progress (including stem cells, nervous system and other tissue cells) in order to contribute to related drug research and development.

Key words: cerebral ischemia/reperfusion injury; exosomes; microRNA; nerve repair

Foundation item: Joint Key Project of Yunnan Provincial Department of Science and Technology and Kunming Medical University (202001AY070001-157)

Corresponding author: SHEN Zhi-qiang, E-mail shzqh21cn@qq.com

(收稿日期: 2022-08-01 接受日期: 2022-10-10)

(本文编辑: 乔虹)

欢迎订阅 2023 年《中国药理学与毒理学杂志》

《中国药理学与毒理学杂志》是由中国药理学会、中国毒理学会和军事医学研究院毒物药物研究所共同主办的高级学术性刊物,1986 年创刊,2016 年由双月刊改为月刊。被北大图书馆评为药学专业中文核心期刊(中文核心期刊要目总览),同时还是中国科技核心期刊、中国核心学术期刊和中国生物医学核心期刊等。本刊被美国《生物学文摘(预评)》(BAP)和美国《化学文摘》(CA)等十余家数据库收录。

《中国药理学与毒理学杂志》设有前沿论坛、论著、实验方法和综述栏目。读者对象主要为从事药理学、毒理学、药学、医学和生物基础科学研究的工作者。本刊中英文稿件兼收,更欢迎投英文稿件。

本刊全年 12 期,每期定价 30.00 元。国内外公开发行,国内邮发代号:82-140,国外邮发代号:BM-1051。本刊主要通过邮局订阅,也可以联系编辑部商谈杂志订阅事宜。

地址:北京市海淀区太平路 27 号六所《中国药理学与毒理学杂志》编辑部

邮编:100850

电话:(010)66930636,(010)66931617

E-mail: cjpt518@163.com

网址: <http://cjpt.magtechjournal.com>