

间充质干细胞源性外泌体在创伤性脑损伤治疗中的研究进展

黄子芮¹, 梁文佳², 朱青云², 郭海星³, 陈奎², 申皓宇², 杨有雷², 程兴博⁴, 迁荣军^{1,2}

1.河南中医药大学第一附属医院神经外科, 河南郑州 450000; 2.河南省人民医院神经外科, 河南郑州 450003; 3.郑州颐和医院神经外科, 河南郑州 450047; 4.河南省人民医院脊柱脊髓外科, 河南郑州 450003

[摘要] 间充质干细胞是具有自我更新和分化成多种类型细胞潜能的多能干细胞, 其分泌的含有遗传信息的外泌体以旁分泌方式安全、高效地促进组织器官的发育、修复和再生, 可避免直接移植干细胞所带来的风险。在创伤性脑损伤的治疗中, 间充质干细胞源性外泌体可穿过血-脑脊液屏障, 促进神经修复和再生, 极大地改善患者预后。本文就间充质干细胞源性外泌体的结构、功能及其在创伤性脑损伤治疗中的研究进展作一综述, 为间充质干细胞源性外泌体的临床应用提供依据。

[关键词] 间充质干细胞源性外泌体; 创伤性脑损伤; 临床应用

[中图分类号] R641 **[文献标识码]** A **[DOI]** 10.3969/j.issn.1673-9701.2024.05.030

创伤性脑损伤 (traumatic brain injury, TBI) 是一种由外力导致的脑部损伤及功能障碍, 是一种异质性疾病^[1]。在多重机制作用下, TBI 会引起突触功能障碍、蛋白质聚集、线粒体功能障碍、氧化应激和神经炎症等级联反应, 患者的致残率和病死率较高, 给家庭和社会带来沉重负担。TBI 常用的影像学检查方法包括颅脑 CT、磁共振成像等。值得注意的是, TBI 患者的伤情是不断变化的, 因此不能局限于某一次的检查结果。TBI 的临床治疗多以外科手术及减轻脑缺氧、脑水肿和代谢紊乱等对症治疗为主。近年来, 干细胞逐渐成为 TBI 治疗的研究热点之一。间充质干细胞 (mesenchymal stem cell, MSC) 是具有自我更新和分化成多种类型细胞潜能的多能干细胞^[2]。间充质干细胞源性外泌体 (mesenchymal stem cell-derived exosome, MSC-Exo) 携带母体细胞的多种生物学信息和生物活性成分, 参与细胞间信号传导过程, 具有促进组织发育和修复、减轻炎症反应等作用, 可应用于组织再生治疗。研究表明, MSC-Exo 可促进 TBI 患者神经和血管的修复再生, 恢复神经功能, 极大改善患者预后, 可能成为一种新的神经系统疾病的治疗方法^[3]。本文就 MSC-Exo 的结构、功能及其在创伤性脑损伤治疗中的研究进展作一综述, 为 MSC-Exo 的临床应用提供依据。

1 TBI 概述

1.1 TBI 的发病机制

TBI 是最常见的后天性脑损伤, 格拉斯哥昏迷量表 (Glasgow coma scale, GCS) 将其分为轻度 (GCS

评分 14~15)、中度 (GCS 评分 9~13) 和重度 (GCS 评分 3~8) 3 种^[4]。TBI 最初是原发性损伤, 随后是继发性损伤。原发性损伤是指损伤时的机械损伤, 其直接损害患者的脑血管系统, 导致患者出现脑灌注不足、缺血、缺氧、出血、水肿及血-脑脊液屏障被破坏, 继而发生炎症反应、代谢底物释放改变及缺血性组织损伤等^[5]。星形胶质细胞通过细胞形态和表达水平的改变参与炎症反应; 小胶质细胞由 M1 型极化为 M2 型, 释放抗炎因子, 协同星形胶质细胞促进神经恢复^[1]。随着时间的推移, TBI 患者会出现继发性损伤, 引发氧化应激、兴奋性毒性、线粒体功能障碍和炎症反应等级联反应, 改变细胞功能甚至导致细胞死亡; 这些改变可持续数小时甚至数年, 并可能导致长期的功能缺陷甚至残疾^[5]。TBI 引发的神经炎症反应有助于清除坏死组织、促进血管生成和神经组织修复, 但持续的神经炎症反应会导致血-脑脊液屏障的通透性增加, 加速脑水肿和脑细胞死亡, 这是 TBI 不断恶化的原因之一^[6]。寻找更为安全、有效的治疗方法减轻 TBI 继发性损伤显得尤为重要。

1.2 TBI 的临床治疗

目前, TBI 的治疗方法主要有外科手术、自发功能恢复及康复训练等, 其治疗方法依据疾病的严重程度而有所差异, 需根据患者的具体情况制订治疗方案。研究表明, 约 20% 的癫痫患者由 TBI 所致, 因此临床上对癫痫发作的预防显得尤为重要^[7]。研究发现, 胶质纤维酸性蛋白、泛素羧基末端水解酶 L1 等可检测正在发生的损伤并预测预后, 是 TBI 所致损伤的生物标志物^[8]。一般而言, 外科手术是 TBI

治疗所必需。去骨瓣减压术通过切除大部分颅顶降低颅内压并减少后遗症。然而,目前尚无改善 TBI 患者脑部功能、降低其病死率的有效药物,这促使研究者将研究重点转移至神经修复和康复领域。

MSC 具有神经再生和安全性高等特点,研究前景广阔。外源性给药时, MSC 与脑实质内细胞相互作用,可刺激轴突生长,促进神经修复^[9]。MSC 通过分泌因子发挥作用。研究表明, MSC 和 MSC-Exo 对 TBI 患者的治疗效果几乎相当;相较于细胞疗法, MSC-Exo 具有较低的免疫原性、易储存、易摄取、易通过血-脑脊液屏障的优点;相较于人工合成载体, MSC-Exo 可更稳定地存在于血液循环中,同时能避免细胞吞噬和溶酶体降解^[9-10]。因此, MSC-Exo 是一种非常理想的给药方式。

2 外泌体概述

2.1 外泌体的结构与功能

外泌体是直径为 30 ~ 200nm 的脂质双层膜状细胞外囊泡,其携带母体细胞的生物学信息。正常或病理条件下的神经细胞、免疫细胞、上皮细胞和 MSC 等各种类型的细胞均可分泌外泌体。外泌体含有蛋白质、脂质及来自于宿主细胞的信使 RNA 和微 RNA,并携带 CD9、CD63、CD81、CD82 共 4 种膜标志物,在细胞间信号传导中发挥关键作用。外泌体通过质膜内陷和细胞内多囊体的形成融合成早期核内体,胞膜内陷逐渐成熟后,晚期核内体于细胞膜处以出芽方式释放到细胞外^[11-12]。

外泌体不仅介导细胞间的信息交流和信号传导,还参与多种疾病的病理生理过程。作为细胞间通讯的载体,外泌体可与靶细胞上的受体特异性识别并结合,或通过内吞作用被靶细胞摄取,或与靶细胞融合并释放其内容物,参与细胞间信息传递和信号调控,从而维持靶细胞的正常生理功能(如免疫监视、干细胞维持、组织修复及通讯功能等)和病理状态(如肿瘤的发生与转移、自身免疫性疾病、神经退行性疾病等)^[11]。在中枢神经系统中,外泌体的免疫原性低,循环半衰期长、可穿过血-脑脊液屏障,促进血管新生,保护和恢复神经功能,最大程度地提高生物相容性^[12-13]。

2.2 MSC-Exo

MSC 是一种多能干细胞,因其具有自我更新能力及多向分化潜能而被应用于受损神经组织的修复中。MSC 不仅能分化为成骨细胞、软骨细胞、神经元和脂肪细胞等,还可支持造血和干细胞植入。更重要的是, MSC 产生的与细胞增殖、免疫有关的分泌因子在组织修复中发挥关键作用,可为再生医学

中的细胞疗法提供理想的细胞来源^[2]。MSC 发挥神经再生效应是通过其分泌的外泌体实现的。MSC-Exo 是当前使用最广泛的干细胞源性外泌体之一,其他常见外泌体来源还有骨髓、脐带、脂肪和滑膜^[14-15]。MSC-Exo 的内容物因来源不同有其各自的特点,除常见的表面标志物外,还包含特殊的膜结合蛋白如 CD73、CD44 和 CD29^[16]。MSC-Exo 的分泌及其所含有的蛋白质和核酸受到环境变化的影响,受损细胞释放的外泌体可重调 MSC, MSC 释放的外泌体可促进受损细胞的修复。此外,体内和体外研究表明,外泌体可被荧光标记^[17]。

3 MSC-Exo 在 TBI 治疗中的应用

MSC 移植技术日益成熟,但仍无法避免细胞移植所带来的衰老、功能丧失、移植率和存活率低及伦理等问题,其临床应用面临一定的挑战。MSC-Exo 治疗具有诸多优势。MSC-Exo 作为一种信号分子,与 MSC 的作用相同,且具有较 MSC 更稳定的膜结构以保护其内容物的完整性。MSC-Exo 的体积小、活性高、分布广泛、免疫原性低,可安全高效地参与信息交换,尤其是其通过血-脑脊液屏障的能力使其成为神经系统疾病治疗中将药物输送至大脑的潜在载体^[18]。

在 TBI 的治疗中, MSC-Exo 可促进神经和血管的恢复与再生,抑制神经炎症反应,保护细胞。Zhang 等^[19]首次证实,骨髓 MSC-Exo 可有效改善 TBI 大鼠的神经和血管重塑,减少 TBI 大鼠的炎症反应。不同的培养环境会影响 MSC-Exo 的内容物。TBI 大鼠模型研究发现,三维条件培养的 MSC-Exo 较二维条件培养的 MSC-Exo 在促进大鼠空间学习方面的效果更好^[10]。Williams 等^[20]首次应用 TBI 和失血性休克的约克夏猪模型进行实验,模拟整个发病和治疗过程,结果显示接受人 MSC-Exo 治疗的猪较对照组神经系统功能恢复地更快。

研究显示, MSC-Exo 可促进小胶质细胞向 M2 型极化,减少白细胞介素(interleukin, IL)-6、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)的分泌,增加 IL-10 的分泌,减少中性粒细胞的浸润,诱导树突状细胞产生免疫耐受,减轻 TBI 炎症损伤,促进功能恢复^[21-23]。Yang 等^[24]通过尾静脉给予 TBI 24h 大鼠骨髓 MSC-Exo-miR-124,发现其可促进小胶质细胞向 M2 型极化,改善大鼠海马神经发生和功能恢复。Zhang 等^[25]研究表明,与对照组相比, MSC-Exo 治疗组单侧中度皮质挫伤大鼠的感觉、运动和认知功能得以显著改善,海马神经元细胞数量得以增加,血管生成和神经修复得以促进,神经炎症反应得以

减少; 且与 50 μ g 和 200 μ g MSC-Exo 相比, 100 μ g MSC-Exo 的治疗效果更显著。脂肪 MSC-Exo 和骨髓 MSC-Exo 的治疗效果相当, 但脂肪 MSC-Exo 更易获得。TBI 小鼠研究显示, MSC-Exo 可抑制 p38 丝裂原激活的蛋白激酶信号通路, 促进小胶质细胞向 M2 型极化, 减轻神经炎症^[26]。近期研究表明, MSC-Exo 治疗可减轻失血性休克猪模型的脑肿胀, 缩小损伤面积, 降低颅内压, 增加脑灌注压; 进一步研究证实, 早期接受 MSC-Exo 治疗还可抑制其炎症和细胞凋亡, 显著缩短神经功能恢复的时间^[27]。在一项 MSC-Exo 治疗皮质损伤猴子的研究中, 与接受药物治疗的猴子相比, 接受 MSC-Exo 治疗猴子的运动功能恢复增强^[28]。MSC-Exo 可将蛋白质、脂质、DNA、RNA 及代谢产物等功能性分子由 MSC 转移至靶细胞, 靶向多个基因, 调节各种生物过程, 尤其是在神经保护中发挥关键作用。研究发现, miR-21、miR-30、miR-124、miR-133 和 miR-138 等具有神经保护作用^[29]。上述研究表明, MSC-Exo 作为一种新型的药物传递和治疗方式, 在神经组织再生中具有独特优势。

4 小结与展望

MSC-Exo 携有母体细胞的生物学信息, 具有自我复制和分化能力, 可介导细胞间信号传导。近年来, MSC-Exo 已在多种疾病的动物模型中显示出令人满意的治疗效果。在 TBI 中, MSC-Exo 可穿透血-脑脊液屏障进行信息交流, 促进损伤神经和血管再生及功能恢复, 显示出较高的临床价值和应用潜力。目前, 关于 MSC-Exo 应用于 TBI 治疗仍有诸多问题尚未解决: 探究 MSC-Exo 的中枢和外周效应机制, 以改善 TBI 的功能恢复; 如何通过预处理或药物干预等方法完善 MSC-Exo 的提取纯化、大规模培养和分离技术; 如何获得靶向性更强、携带不同生物学信息的 MSC-Exo; 如何调节 MSC-Exo 的基因表达, 制订针对不同严重程度 TBI 患者的个体化治疗方案, 从而发挥最大效果; 寻找 MSC-Exo 长期安全保存的最佳方法; 探究供体细胞年龄和性别对 MSC-Exo 生成的潜在影响; 确定 MSC-Exo 的最佳治疗时间窗、给药剂量及给药途径。

当前 MSC-Exo 的相关研究尚处于基础研究阶段, 但随着医学研究和生物工程技术的不断发展, MSC-Exo 有望成为神经系统疾病临床治疗的有效方法之一。未来应致力于研究 MSC-Exo 治疗 TBI 的具体分子机制、作用靶点、信号通路、不良反应等方面, 进一步优化 MSC-Exo 的分离提纯方法, 对 MSC-Exo 进行改造使其更具有组织特异性, 并逐渐

开展多中心、大样本临床研究。

利益冲突: 所有作者均声明不存在利益冲突。

[参考文献]

- [1] CAPIZZI A, WOO J, VERDUZCO-GUTIERREZ M. Traumatic brain injury: An overview of epidemiology, pathophysiology, and medical management[J]. *Med Clin North Am*, 2020, 104(2): 213–238.
- [2] WANG Y, FANG J, LIU B, et al. Reciprocal regulation of mesenchymal stem cells and immune responses[J]. *Cell Stem Cell*, 2022, 29(11): 1515–1530.
- [3] XUNIAN Z, KALLURI R. Biology and therapeutic potential of mesenchymal stem cell-derived exosomes[J]. *Cancer Sci*, 2020, 111(9): 3100–3110.
- [4] TEASDALE G, JENNETT B. Assessment of coma and impaired consciousness. A practical scale[J]. *Lancet*, 1974, 2(7872): 81–84.
- [5] SALEHI A, ZHANG J H, OBENAU A. Response of the cerebral vasculature following traumatic brain injury[J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2017, 37(7): 2320–2339.
- [6] SULHAN S, LYON K A, SHAPIRO L A, et al. Neuroinflammation and blood-brain barrier disruption following traumatic brain injury: Pathophysiology and potential therapeutic targets[J]. *J Neurosci Res*, 2020, 98(1): 19–28.
- [7] FORDINGTON S, MANFORD M. A review of seizures and epilepsy following traumatic brain injury[J]. *J Neurol*, 2020, 267(10): 3105–3111.
- [8] KHELLAF A, KHAN D Z, HELMY A. Recent advances in traumatic brain injury[J]. *J Neurol*, 2019, 266(11): 2878–2889.
- [9] 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.
- [10] ZHANG Y, CHOPP M, ZHANG Z G, et al. Systemic administration of cell-free exosomes generated by human bone marrow derived mesenchymal stem cells cultured under 2D and 3D conditions improves functional recovery in rats after traumatic brain injury[J]. *Neurochem Int*, 2017, 111: 69–81.
- [11] HE C, ZHENG S, LUO Y, et al. Exosome theranostics:

- Biology and translational medicine[J]. *Theranostics*, 2018, 8(1): 237–255.
- [12] ISAAC R, REIS F C G, YING W, et al. Exosomes as mediators of intercellular crosstalk in metabolism[J]. *Cell Metab*, 2021, 33(9): 1744–1762.
- [13] MATTINGLY J, LI Y, BIHL J C, et al. The promise of exosome applications in treating central nervous system diseases[J]. *CNS Neurosci Ther*, 2021, 27(12): 1437–1445.
- [14] CHEN Y, SHEN H, DING Y, et al. The application of umbilical cord-derived MSCs in cardiovascular diseases[J]. *J Cell Mol Med*, 2021, 25(17): 8103–8114.
- [15] ZHU X Y, KLOMJIT N, CONLEY S M, et al. Impaired immunomodulatory capacity in adipose tissue-derived mesenchymal stem/stromal cells isolated from obese patients[J]. *J Cell Mol Med*, 2021, 25(18): 9051–9059.
- [16] LEE C, MITSIALIS S A, ASLAM M, et al. Exosomes mediate the cytoprotective action of mesenchymal stromal cells on hypoxia-induced pulmonary hypertension[J]. *Circulation*, 2012, 126(22): 2601–2611.
- [17] DU J, WAN Z, WANG C, et al. Designer exosomes for targeted and efficient ferroptosis induction in cancer via chemo-photodynamic therapy[J]. *Theranostics*, 2021, 11(17): 8185–8196.
- [18] LIU C, YANG T H, LI H D, et al. Exosomes from bone marrow mesenchymal stem cells are a potential treatment for ischemic stroke[J]. *Neural Regen Res*, 2023, 18(10): 2246–2251.
- [19] ZHANG Y, CHOPP M, MENG Y, et al. Effect of exosomes derived from multipotent mesenchymal stromal cells on functional recovery and neurovascular plasticity in rats after traumatic brain injury[J]. *J Neurosurg*, 2015, 122(4): 856–867.
- [20] WILLIAMS A M, DENNAHY I S, BHATTI U F, et al. Mesenchymal stem cell-derived exosomes provide neuroprotection and improve long-term neurologic outcomes in a swine model of traumatic brain injury and hemorrhagic shock[J]. *J Neurotrauma*, 2019, 36(1): 54–60.
- [21] ZONG L, HUANG P, SONG Q, et al. Bone marrow mesenchymal stem cells-secreted exosomal H19 modulates lipopolysaccharides-stimulated microglial M1/M2 polarization and alleviates inflammation-mediated neurotoxicity[J]. *Am J Transl Res*, 2021, 13(3): 935–951.
- [22] MAHMOUDI M, TAGHAVI-FARAHABADI M, NAMAHI S, et al. Exosomes derived from mesenchymal stem cells improved function and survival of neutrophils from severe congenital neutropenia patients in vitro[J]. *Hum Immunol*, 2019, 80(12): 990–998.
- [23] SHAHIR M, MAHMOUD HASHEMI S, ASADIRAD A, et al. Effect of mesenchymal stem cell-derived exosomes on the induction of mouse tolerogenic dendritic cells[J]. *J Cell Physiol*, 2020, 235(10): 7043–7055.
- [24] YANG Y, YE Y, KONG C, et al. MiR-124 enriched exosomes promoted the M2 polarization of microglia and enhanced hippocampus neurogenesis after traumatic brain injury by inhibiting TLR4 pathway[J]. *Neurochem Res*, 2019, 44(4): 811–828.
- [25] ZHANG Y, ZHANG Y, CHOPP M, et al. Mesenchymal stem cell-derived exosomes improve functional recovery in rats after traumatic brain injury: A dose-response and therapeutic window study[J]. *Neurorehabil Neural Repair*, 2020, 34(7): 616–626.
- [26] CHEN Y, LI J, MA B, et al. MSC-derived exosomes promote recovery from traumatic brain injury via microglia/macrophages in rat[J]. *Aging (Albany NY)*, 2020, 12(18): 18274–18296.
- [27] WILLIAMS A M, WU Z, BHATTI U F, et al. Early single-dose exosome treatment improves neurologic outcomes in a 7-day swine model of traumatic brain injury and hemorrhagic shock[J]. *J Trauma Acute Care Surg*, 2020, 89(2): 388–396.
- [28] MOORE T L, BOWLEY B G E, PESSINA M A, et al. Mesenchymal derived exosomes enhance recovery of motor function in a monkey model of cortical injury[J]. *Restor Neurol Neurosci*, 2019, 37(4): 347–362.
- [29] NASIRISHARGH A, KUMAR P, RAMASUBRAMANIAN L, et al. Exosomal microRNAs from mesenchymal stem/stromal cells: Biology and applications in neuroprotection[J]. *World J Stem Cells*, 2021, 13(7): 776–794.

(收稿日期: 2022-12-09)

(修回日期: 2023-11-15)