

外泌体及间充质干细胞源性外泌体在帕金森病诊治中的未来

<https://doi.org/10.12307/2022.417>

投稿日期: 2021-06-04

采用日期: 2021-07-09

修回日期: 2021-07-24

在线日期: 2021-08-22

中图分类号:

R459.9; R318; R741.05

文章编号:

2095-4344(2022)25-04076-08

文献标识码: A

卫宇帆¹, 樊飞燕¹, 李双利¹, 张运克^{1, 2}

文章快速阅读:

文章特点—

△有研究发现外泌体具有抑制炎症反应、调节基因表达、刺激神经再生、抑制多巴胺神经元凋亡等功能。

△而间充质干细胞源性外泌体具有来源细胞的生物学特性, 具有便于采集、免疫排斥小、伦理反应弱等优点, 被认为是治疗帕金森病的一种很有前途的治疗工具。

背景:

• 外泌体凭借其纳米级结构、广泛分布、参与细胞间通讯等多种生物学特性, 在帕金森病中有一定研究;
• 而间充质干细胞源性外泌体也被证明能抑制多巴胺神经元凋亡, 起到神经保护作用。

目的:

• 综述外泌体及间充质干细胞源性外泌体在帕金森病中的研究。

意义:

• 总结了外泌体 α -突触核蛋白可作为神经毒性及其在大脑中传播的潜在关键参与者, 外泌体 miRNA 及炎症因子可诱导基因表达、神经炎症, 导致神经变性, 促进帕金森病情进展; 越来越多外泌体中的生物活性分子被发现, 用于疾病早期诊断及监测进展的探索; 并且可作为核酸递送至靶向细胞的载体, 影响蛋白质合成, 起到神经保护作用。
• 总结了间充质干细胞源性外泌体在帕金森病中的作用, 主要表现在抑制炎症反应、调节基因表达、抑制多巴胺神经元凋亡, 从而发挥神经保护作用, 为间充质干细胞源性外泌体应用于帕金森病的诊治提供新思路。

文题释义:

外泌体: 是一种具有双层膜结构的纳米级细胞外囊泡, 可自由透过血脑屏障, 并广泛分布于多种体液中, 是细胞间通讯的重要介质, 并且外泌体中的 α -突触核蛋白可作为神经毒性及其在大脑中传播的潜在关键参与者, 促进了帕金森病情进展, 在帕金森病的发病机制、诊断及作为药物递送载体有广泛应用。

间充质干细胞源性外泌体: 间充质干细胞作为分泌外泌体能力最强的细胞, 具有多谱系分化能力、自我更新能力, 加之有取材方便、扩增迅速、无免疫原性等优点, 在多种疾病领域的研究与治疗中发挥着重要作用, 但其不能穿过血脑屏障, 还存在栓塞、肿瘤形成等风险。而间充质干细胞源性外泌体具有与间充质干细胞相同的生物学功能, 但可有效避免上述风险, 如今被广泛认为是间充质干细胞发挥生理功能的重要方式, 在帕金森病的相关研究中具有抑制多巴胺神经元凋亡、发挥神经保护作用。

摘要

背景: 外泌体是一种纳米级微型囊泡, 可自由透过血脑屏障, 在维持内环境稳定、进行细胞间通讯、调节免疫应答等方面有重要价值。间充质干细胞作为分泌外泌体能力最强的细胞, 具有便于采集、免疫排斥小、伦理反应弱等优点, 并且间充质干细胞源性外泌体有助于改善受损的神经系统功能, 抑制多巴胺神经元凋亡, 被认为是治疗帕金森病的一种很有前途的治疗工具。

目的: 综述外泌体在帕金森病发病机制中的作用、作为诊断的生物标志物、药物递送载体以及间充质干细胞源性外泌体在帕金森病作用机制中的研究进展。

方法: 以“exosomes, mesenchymal stem cells, Parkinson disease”为英文检索词, 以“外泌体, 间充质干细胞, 帕金森病”为中文检索词。检索自建库至2021年5月收录在中国知网与PubMed数据库的相关文献, 检索语种为中文和英文, 依据纳入和排除标准, 最终纳入相关文献117篇。

结果与结论: ①概述了外泌体的定义、来源、组成及功能; 间充质干细胞的发现、定义、作用机制及应用。②总结了 α -突触核蛋白的聚集可引起病理学扩散, 而从外泌体中发现了 α -突触核蛋白, 这可能是 α -突触核蛋白在细胞间传播的可能分子机制; α -突触核蛋白可以激活帕金森病中的小胶质细胞, 引起炎症级联反应, 诱导神经炎和多巴胺神经元变性; 外泌体 miRNA 可以诱导靶细胞遗传程序发生变化, 上述发病机制促进了帕金森病进程。③总结了外泌体作为诊断的生物标志物、药物递送载体的应用, 并且总结了间充质干细胞源性外泌体在帕金森病中的作用主要表现在抑制炎症反应、调节基因表达、抑制多巴胺神经元凋亡, 从而发挥神经保护作用, 增加了多巴胺的释放。④总结发现间充质干细胞源性外泌体在帕金森病的诊治中有广阔前景, 值得进一步深入研究。

关键词: 外泌体; 间充质干细胞; 帕金森病; α -突触核蛋白; miRNA; 综述

Future of exosomes and mesenchymal stem cell-derived exosomes in the diagnosis and treatment of Parkinson's disease

Wei Yufan¹, Fan Feiyan¹, Li Shuangli¹, Zhang Yunke^{1, 2}

¹Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, Henan Province, China; ²First Affiliated Hospital, Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450000, Henan Province, China

Wei Yufan, Master candidate, Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, Henan Province, China

Corresponding author: Zhang Yunke, MD, Professor, Chief physician, Doctoral supervisor, Post-doctoral cooperative supervisor, Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, Henan Province, China; First Affiliated Hospital, Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450000, Henan Province, China

¹河南中医药大学, 河南省郑州市 450046; ²河南中医药大学第一附属医院, 河南省郑州市 450000

第一作者: 卫宇帆, 女, 1992年生, 河南省济源市人, 河南中医药大学在读硕士, 主要从事中医药防治神经系统疾病的研究。

通讯作者: 张运克, 博士, 教授, 主任医师, 博士生导师, 博士后合作导师, 河南中医药大学, 河南省郑州市 450000; 河南中医药大学第一附属医院, 河南省郑州市 450000

<https://orcid.org/0000-0003-1500-1535> (张运克)

基金资助: 国家自然科学基金(81974564), 项目负责人: 张运克; 河南省科技创新杰出人才项目(2018JR0006), 项目负责人:

张运克

引用本文: 卫宇帆, 樊飞燕, 李双利, 张运克. 外泌体及间充质干细胞源性外泌体在帕金森病诊治中的未来[J]. 中国组织工程研究, 2022, 26(25):4076-4083.



Abstract

BACKGROUND: Exosomes are nano-scale microvesicles that can freely penetrate the blood-brain barrier and are of great values in maintaining the stability of the internal environment, communicating between cells, and regulating immune responses. Mesenchymal stem cells, as the cells with the strongest ability to secrete exosomes, have the advantages of easy collection, low immune rejection, and weak ethical response, and mesenchymal stem cell-derived exosomes can help improve damaged nervous system functions. Inhibiting the apoptosis of dopaminergic neurons is considered to be a promising therapeutic tool for the treatment of Parkinson's disease.

OBJECTIVE: To review the role of exosomes in the pathogenesis of Parkinson's disease, as diagnostic biomarkers, drug delivery vehicles, and the research progress of mesenchymal stem cell-derived exosomes in the mechanism of Parkinson's disease.

METHODS: "Exosomes, mesenchymal stem cells, Parkinson disease" were used as the Chinese and English search terms. Relevant articles were searched in CNKI and PubMed from inception to May 2021. The search languages were Chinese and English. According to the inclusion and exclusion criteria, 117 relevant articles were finally included.

RESULTS AND CONCLUSION: (1) The definition, source, composition, and function of exosomes, the discovery, definition, mechanism and application of mesenchymal stem cells were summarized. (2) It is concluded that the aggregation of α -synuclein can cause pathological spread, and α -synuclein is found in exosomes, which may be a possible molecular mechanism of the spread of α -synuclein between cells. α -Synuclein can activate microglia in Parkinson's disease, cause an inflammatory cascade, induce neuritis and dopamine neuron degeneration. Exosomal miRNA can induce changes in the genetic program of target cells. The above-mentioned pathogenesis promotes the progression of Parkinson's disease. (3) The application of exosomes as diagnostic biomarkers and drug delivery vehicles is summarized. The role of mesenchymal stem cell-derived exosomes in Parkinson's disease was summarized, mainly in inhibiting inflammation, regulating gene expression, inhibiting dopamine neuron apoptosis, thereby exerting a neuroprotective effect and increasing the release of dopamine. (4) It is found that mesenchymal stem cell-derived exosomes have broad prospects in the diagnosis and treatment of Parkinson's disease, and are worthy of further in-depth study.

Key words: exosomes; mesenchymal stem cells; Parkinson's disease; α -synuclein; miRNA; review

Funding: National Natural Science Foundation of China, No. 81974564 (to ZYK); Henan Science and Technology Innovation Outstanding Talents Project, No. 2018JH0006 (to ZYK)

How to cite this article: WEI YF, FAN FY, LI SL, ZHANG YK. Future of exosomes and mesenchymal stem cell-derived exosomes in the diagnosis and treatment of Parkinson's disease. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu. 2022;26(25):4076-4083.

0 引言 Introduction

帕金森病是一种常见于中老年人、隐匿起病、缓慢进展的第二大神经退行性疾病,影响1%-4%的60岁以上人群^[1],目前全世界约有600万帕金森病患者^[2],并且随着人口老龄化,其发病率还在逐年上升,给社会、家庭造成了沉重负担。目前已有的治疗手段主要集中在挽救濒临死亡的神经元,虽然能够不同程度改善帕金森病患者的症状,提高生活质量,但都不能彻底治愈该病。迄今为止,有关帕金森病的研究中,外泌体及间充质干细胞源性外泌体有望成为治疗该病最有前途和希望的方法^[3]。

外泌体凭借其纳米级结构、广泛分布、参与细胞间通讯等多种生物学特性,在帕金森病的应用主要体现在:①发病机制:外泌体 α -突触核蛋白可作为神经毒性及其在大脑中传播的潜在关键参与者^[4-6];外泌体miRNA及炎症因子可诱导基因表达、神经炎症,导致神经变性,促进帕金森病病情进展^[7-8];②诊断的生物标志物:越来越多外泌体中的生物活性分子被发现,并用于疾病早期诊断及监测进展的探索^[9-10];③药物递送载体:可作为核酸递送至靶向细胞的载体,影响蛋白质合成,起到神经保护作用^[11]。而间充质干细胞作为分泌外泌体能力最强的细胞^[12],具有便于采集、免疫排斥小、伦理反应弱等优点,但是不能穿过血脑屏障,单纯的间充质干细胞移植还存在栓塞、异常分化以及肿瘤形成的风险^[13-15]。而间充质干细胞源性外泌体可以有效规避上述风险^[16],并有助于改善受损的神经系统功能,抑制多巴胺能神经元凋亡。该文通过介绍外泌体、间充质干细胞源外泌体以及它们在帕金森病中的相关研究,为进一步的研究提供新思路 and 理论依据。

1 资料和方法 Data and methods

1.1 资料来源

1.1.1 检索人及检索时间 第一作者在2021年5月进行检索。

1.1.2 检索文献时限 自各数据库建库至2021年5月。

1.1.3 检索数据库 PubMed数据库与中国知网。

1.1.4 检索词 以主题词“Parkinson Disease”“Mesenchymal Stem Cells”“Exosomes”及其自由词为英文检索词,具体逻辑

组配为“Parkinson Disease”AND“Mesenchymal Stem Cells”,“Parkinson Disease”AND“Exosomes”;以“外泌体”“间充质干细胞”和“帕金森病”为中文检索词及其逻辑组配。

1.1.5 检索文献类型 研究原著,综述,述评,经验交流,病例报告,荟萃分析等。

1.1.6 手工检索情况 无。

1.1.7 检索策略 PubMed数据库和中国知网检索策略,见图1。

PubMed 数据库检索策略	中国知网检索策略
#1 Parkinson Disease [Title/Abstract]	#1 帕金森病
#2 Primary Parkinsonism [Title/Abstract]	#2 间充质干细胞
#3 Paralysis Agitans [Title/Abstract]	#3 外泌体
#4 #1 OR #2 OR #3	#4 1 in 摘要
#5 Mesenchymal Stem Cells [Title/Abstract]	#5 2 in 摘要
#6 Mesenchymal Stromal Cells [Title/Abstract]	#6 3 in 摘要
#7 Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells [Title/Abstract]	#7 #5 OR #6
#8 Multipotent Mesenchymal Stem Cells [Title/Abstract]	#8 #4 AND #7
#9 Adipose Derived Mesenchymal Stem Cells [Title/Abstract]	#9 #1 in 篇名
#10 #5 OR #6 OR #7 OR #8 OR #9	#10 #2 in 篇名
#11 Exosomes [Title/Abstract]	#11 #3 in 篇名
#12 Secretory Vesicles [Title/Abstract]	#12 #10 OR #11
#13 #11 OR #12	#13 #9 AND #12
#14 #10 OR #13	#14 #8 AND #13
#15 #4 AND #14	

图1 | PubMed数据库和中国知网检索策略

1.1.8 检索文献量 初步检索共获得文献1 291篇,其中中国知网817篇,PubMed数据库474篇。

1.2 纳入排除标准

纳入标准:①论点、论据可靠且发表在权威、专业的杂志文献;②有关外泌体在帕金森病发病机制、诊断及治疗中的相关文献;③阐述间充质干细胞源性外泌体在帕金森病中的作用机制及研究进展的文献。

排除标准:重复或与研究内容无关的文献。

1.3 文献筛选 初检得到文献1 291篇,阅读文章标题及摘要排除与研究内容无关、重复的文献974篇,剩余317篇阅读全文,排除重复性研究200篇,最终纳入117篇,其中中文文献8篇,英文文献109篇。文献筛选流程图,见图2。

检索中国知网 (n=817) 与 PubMed 数据库 (n=474), 共获得文献 (n=1 291)

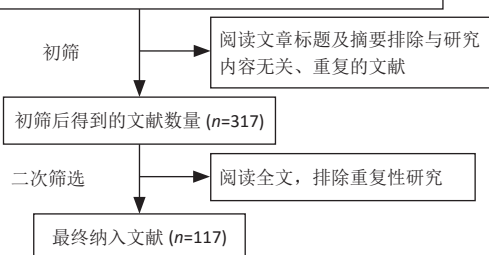


图2 | 文献筛选流程图

2 结果 Results

外泌体在帕金森病中的应用

- 外泌体在帕金森病发病机制中的作用
 - 含 α - 突触核蛋白的外泌体在帕金森病发病机制中的作用
 - 外泌体 miRNA 在帕金森病中的作用
- 作为帕金森病诊断的生物标记物
- 作为帕金森病治疗的药物递送载体

间充质干细胞源性外泌体在帕金森病中的研究进展

外泌体应用于中医药治疗帕金森病中的前景

2.1 外泌体在帕金森病中的应用 外泌体是一种纳米级的、脂质双分子层的膜性囊泡, 是细胞外囊泡的一种^[17]。外泌体起源于内吞途径, 其形成的早期内体逐步形成晚期内体或多泡体, 其中成熟早期内体通过出芽运动形成内囊泡, 而一部分多泡体与细胞膜融合, 内囊泡被释放到细胞外^[18-19], 释放到细胞外的外泌体被微环境中的靶细胞摄取或者通过体液运送到身体其他部位^[20]。通过电子显微镜观察, 在腔内/细胞外间隙中发现, 并被所有类型的细胞分泌, 已知外泌体存在于血浆、血清、尿液、脑脊液、唾液、母乳和其他分泌物中^[21]。并且外泌体含有一些重要的生物活性分子, 如蛋白质、脂质、功能性 mRNA 以及大量非编码核酸 (miRNA、lncRNA 和 circRNA), 这些内容物在外泌体形成、被靶细胞摄取过程以及细胞间物质信息传递中发挥重要作用^[13]。研究发现, 外泌体的产生和释放依赖于原始细胞和靶细胞的生理状态和条件, 因此不同的外泌体具有不同的蛋白质、脂质和核酸分布^[22]。

20 世纪 80 年代之前, 研究者们未予足够重视, 误认为外泌体是装载和运送细胞成熟过程中所产生的废弃物^[23-24], 例如 1967 年, WOLF 教授^[25]在血浆中第一次发现细胞外囊泡, 并将其描述为血小板衍生的直径和密度不同的微粒结构, 但在当时被认为是血小板废弃物。直到 1983 年, JOHNSTONE 教授^[24]首次发现在绵羊网织红细胞体外培养上清液中存在外泌体, 并被定义为转铁蛋白受体的排泄通道; 随着研究深入, 于 1987 年 JOHNSTONE 教授^[26]首次正式提出外泌体的概念, 将其命名为“exosome”。1996 年 RAPOSO 教授^[27]发现, B 淋巴细胞分泌的外泌体携带主要组织相容性复合物-II 类分子、共刺激因子和黏附因子, 可以改变细胞外微环境、提呈抗原、刺激 T 细胞增殖、诱导机体免疫反应以及影响机体健康。随着二代测序、蛋白质组学和脂质组学等技术的进步, 人们发现外泌体是由活细胞分泌的一种亚细胞结构, 而不是简单的细胞碎片, 2007 年, VALADI 教授^[28]发现人的肥大细胞可以捕获来源于鼠的肥大细胞分泌的外泌体, 其携带的 mRNA 可以被转移到细胞质中, 并翻译成蛋白质, 这一结果首次证实了细胞分泌的外泌体中含有的 mRNA 及 miRNA 均具有良好的生物活性, 这表明外泌体在细胞间通讯起着重要作用。2013 年 hoJames E. Rothman、

Randy W. Schekman 和 Thomas C. Südhof 也因发现囊泡运输调控机制而获得诺贝尔生理学或医学奖, 进而推动了外泌体的基础研究。随后, 于 2015 年 ZOMER 等^[29]发现肿瘤细胞分泌的细胞外囊泡可以被靶细胞摄取并改变靶细胞状态, 证明了外泌体的体内传递; 同年, MELO 等^[30]发现胰腺癌患者血清中磷脂酰肌醇 1 阳性的外泌体占比显著高于正常人群, 这为胰腺癌的前期诊断提供依据; 同时, HOSHINO 等^[31]也发现肿瘤细胞释放的外泌体会先行到达预期转移器官, 而外泌体表面的整合素种类决定着靶器官的特异性, 那么以整合素靶点降低靶器官的摄取可以降低肿瘤转移, 这为抑制肿瘤转移提供了治疗新思路。此后大量研究表明, 外泌体具有免疫调节、增殖分化、细胞迁移以及介导细胞间的物质传递等不同的生物学特性, 并在疾病早期诊断、临床治疗中发挥着不可或缺的作用。外泌体发现过程记时线图, 见图 3。



图3 | 外泌体发现过程记时线图

2.1.1 外泌体在帕金森病发病机制中的作用 见表 1。

表 1 | 外泌体在帕金森病发病机制中的研究

作者	发表时间	研究内容	主要贡献及应用意义
BRAAK 等 ^[32]	2003	追踪了偶发性和症状性帕金森病的病理过程	提出了 α - 突触核蛋白在细胞间传播的假说: α - 突触核蛋白沿着解剖结构连接的区域之间向相邻区域扩散; 为疾病分期提供了理论依据
DESPLATS 等 ^[33]	2009	将过度表达 α - 突触核蛋白的细胞与缺乏 α - 突触核蛋白的神经元前体细胞进行体外培养	发现 α - 突触核蛋白从受影响的神经元传递到植入的神经元前体细胞, 这些发现证明了 α - 突触核蛋白在细胞间的传递
KORDOWER 等 ^[34]	2008	在移植到帕金森病患者纹状体 14 年后, 检测发现阳性染色为 α - 突触核蛋白和泛素, 多巴胺转运体免疫染色减少	发现 α - 突触核蛋白阳性的路易体样病理从宿主传播到移植物
GUO 等 ^[35]	2020	小胶质细胞释放的含有 α - 突触核蛋白的外泌体经人 α - 突触核蛋白预形成的纤维处理后, 能够诱导受体神经元内的蛋白质聚集	研究支持了小胶质细胞外泌体参与 α - 突触核蛋白病理进程
MCMILLAN 等 ^[36]	2017	使用 miR- 诱饵耗尽 miR-7 会导致黑质多巴胺能神经元的丢失, 同时减少纹状体多巴胺含量	提示 miR-7 在调节 α - 突触核蛋白和多巴胺生理过程中具有重要作用, 为帕金森病的病理研究提供了新的研究模式
CAO 等 ^[37]	2017	收集了帕金森病患者和健康志愿者血清样本, 提取血清外泌体内的 RNA 进行反向转录分析血清 miRNAs, 利用受试者操作特性曲线分析 miRNAs	对 24 种候选 miRNA 的表达进行了分析, 发现 miR-19b 的下调以及 miR-195 和 miR-24 的上调可能有助于帕金森病的诊断

准确鉴别帕金森病的能力

(1) 含 α -突触核蛋白的外泌体在帕金森病发病机制中的作用: 既往尸检结果表明, 帕金森病的两个病理特征是黑质和纹状体区域多巴胺能神经元的进行性缺失, 以及路易小体的形成。已知 α -突触核蛋白是一个由 140 个氨基酸组成的蛋白质, 主要存在于突触前神经元, 其功能可能与神经元的可塑性、细胞分化、囊泡运输及多巴胺摄取调节有关^[36-37]。正常情况下 α -突触核蛋白以非折叠的结构形式存在于细胞浆, 此时并不具有毒性, 只有当其氨基末端结构域结合到细胞膜形成 α -螺旋结构^[38], 并在细胞膜上发生错误折叠和聚集^[39], 以及非淀粉样成分结构域由随机卷曲结构形成片层结构, 导致纤维形成^[40], 此时错误折叠和纤维聚集的 α -突触核蛋白具有细胞毒性, 不仅破坏突触传递, 还具有病毒样性质, 可从受病理影响的神经元传播到健康未受影响的神经元^[5-6, 41]。早在 2003 年, BRAAK 等^[32]就提出了 α -突触核蛋白在细胞间传播的假说: α -突触核蛋白沿着解剖结构连接的区域之间向相邻区域扩散, 具体而言, 首先出现在嗅球和舌咽迷走神经背核, 当有临床症状时已扩散到黑质、中脑和基底神经节, 到临床晚期弥散到整个大脑皮质。并且越来越多的体内外研究支持 α -突触核蛋白可引起病理学扩散, 进而导致多巴胺神经元变性和帕金森病进展。将过度表达 α -突触核蛋白的细胞与缺乏 α -突触核蛋白的神经元前体细胞进行体外培养, 证明了这种蛋白在细胞间的传递^[33]。此外, 将从帕金森病患者大脑中提取的血浆注入实验动物大脑, 能够触发 α -突触核蛋白的聚集及其在注射动物的中枢神经系统中的传播^[42]; 在移植了中脑细胞的帕金森病患者中, 发现 α -突触核蛋白阳性的路易体样病理从宿主传播到移植体^[34]。然而, 尚不清楚 α -突触核蛋白在细胞间传播的确切分子机制。

但是, 现已发现外泌体更像分子货物囊泡, 可以作为 mRNA、miRNA 和特定蛋白质的天然载体^[43-44]。因此, 它们可能在细胞间通讯和疾病传播中起作用, 这可能通过错误折叠的 α -突触核蛋白和炎性细胞因子转移至邻近细胞而促进神经退行性疾病 (包括帕金森病) 的进展^[45]。在人脑脊髓液和血浆中分离出的外泌体中发现了 α -突触核蛋白, 这表明外泌体与供体神经元释放的 α -突触核蛋白有关^[46]。另外, DANZER 等^[47]发现当自噬机制不足时, 细胞会清除有毒的 α -突触核蛋白寡聚体, 通过诱导自噬来预防外泌体释放和摄取可能是阻止疾病在帕金森病中传播的一种新方法。

GHIDONI 等^[48]也提出了神经退行性疾病中外泌体“特洛伊木马”的假说, 即外泌体通过在细胞间运输毒性剂导致细胞死亡, 这是继神经元细胞死亡之后的关键机制。近来, 神经炎症与帕金森病发病机制的联系也越来越受人们关注。

小胶质细胞代表中枢神经系统的常驻巨噬细胞, 约占神经胶质细胞的 10%^[49], 与帕金森病的发病机制密切相关^[50]。研究表明, α -突触核蛋白可以激活帕金森病中的小胶质细胞, 引起以核因子 κ B 信号通路为中心的炎症级联反应, 并上调白细胞介素 1 β 、白细胞介素 18 和肿瘤坏死因子 α 等炎性细胞因子, 从而诱导神经炎和多巴胺神经元变性^[7]。活化的小胶质细胞可以分泌富含主要组织相容性复合物分子 II 和肿瘤坏死因子 α 的外泌体^[51], 并且小胶质细胞分泌的外泌体已被证明有助于 α -突触核蛋白在神经元之间的传递活性^[35, 52]。而 NLRP3 炎性小体是小胶质细胞中表达最高的炎性小体, 不仅与人体对病原体入侵的抵抗力有关, 而且还与帕金森病、阿尔茨海默病和动脉粥样硬化等各种疾病的进展有关^[53]。研究表明, 在帕金森病中, α -突触核蛋白可通过刺激小胶质细胞中的 NLRP3 炎性小体活化, 促进小胶质细胞中外泌体的形成, 并导致外泌体分泌到细胞外空

间, 而分泌的外泌体含有内吞的成熟促炎因子, 从而诱导神经炎症^[54]。

(2) 外泌体 miRNA 在帕金森病中的作用: miRNA 是单链非编码 RNA 分子, 可调节编码蛋白质的基因表达, 并参与多个基本生物学过程。越来越多的证据表明, miRNA 表达失调会导致多种神经退行性疾病 (包括帕金森病) 的病理过程^[55-56]。迄今为止, 已经发现帕金森病患者的脑组织、脑脊液和血液样本以及帕金森病动物模型中有数种 miRNA 失调^[57]。一些失调的 miRNA, 例如 miR-7/153/34, 已直接参与帕金森病的发病机制, 因为它们调节 SNCA 基因抑制 α -突触核蛋白的聚集^[8, 58]。其他 miRNA 也参与了帕金森病发病机制的关键途径调控, 包括自噬^[59]、氧化应激和炎症^[60-61]。另外, 帕金森病致病基因 LRRK2 基因的表达也受 miRNA 调控, 例如 miRNA-205^[62]。

此外, miRNA 可以通过外泌体在细胞间传播, 诱导靶细胞遗传程序发生变化, 从而促进帕金森病进程。

miRNA 代表外泌体转运物的重要组成部分, 外泌体转移 miRNA 是细胞遗传交换的重要机制^[27]。最近的研究表明, 外泌体 miRNA 参与了中枢神经系统疾病的发病机制。但是, 关于外泌体 miRNA 在帕金森病中的意义, 文献仍然很少。一项细胞培养研究表明, 星形胶质细胞释放的外泌体携带一种特定的 miRNA, 这在帕金森病的发病机制中起着至关重要的作用^[63]。2014 年, WINKLER 等^[64]证明了 let-7 (一种在帕金森病模型中过表达的 miRNA) 可以在外泌体中运输, 并且它可以激活神经元中的 Toll 样受体, 从而导致神经变性。还有几项研究发现, 帕金森病患者的脑脊液和血清中的外泌体 miRNA 含量发生了变化, GUI 等^[65]对帕金森病患者脑脊液中的外泌体 miRNA 进行了唯一的差异表达分析, 发现一些差异表达的外泌体 miRNA。相反, CAO 等^[9]对帕金森病和健康患者的血清外泌体中 24 种候选 miRNA 的表达进行了分析, 发现 miR-19b 的下调以及 miR-195 和 miR-24 的上调; 这些 miRNA 先前被报道为帕金森病的临床生物标志物^[66]。JIANG 等^[67]报告说, 帕金森病小鼠血清来源的外泌体 miRNA137 被上调, 并在诱导帕金森病中神经元氧化应激中发挥着至关重要的作用。

2.1.2 作为帕金森病诊断的生物标记物 在帕金森病典型运动症状出现之前存在一个症状前阶段, 直到纹状体多巴胺的水平减少 70%-80% 以上以及黑质多巴胺能神经元丢失 50% 以上才会出现临床症状^[68], 并且早期临床症状并非特异性, 缺乏有效的生物标记物, 故诊断仍然主要根据英国脑库标准的运动症状以及患者对多巴胺能药物的反应。由于外泌体的含量因其起源细胞和受体细胞而异^[69], 例如, 血液中脑源性外泌体可能反映了脑部疾病中其祖先脑细胞发育的致病性过程^[70], 因此, 在帕金森病中寻找脑脊液和血浆生物标志物在早期疾病病理诊断中有重要意义^[71]。对从帕金森病患者血浆中提取的星形胶质细胞和少突胶质细胞的研究表明了血浆脑源性外泌体的浓度与疾病的严重程度的相关性, 尤其在疾病早期, 故可作为监测帕金森病疾病进展的潜在替代生物标志物^[10, 70]。

在脑脊液和血浆中均含有丰富的 miRNA, 而在帕金森病中, miRNA 的表达水平有很大差异: 目前发现在帕金森病脑脊液外泌体中 miR-153、miR-409-3p、miR-10a-5p、let-7g-3p 会升高, miR-1、miR-19b-3p 则相反; 而在血清外泌体中发现 miR-153、miR-195、miR-24 的上调和 miR-19b 的下调; 同样在血浆中也出现了 miR-331-5p 上调和 miR-505 的下调, 因而这些 miRNA 也有可能成为帕金森病检测的生物标志^[72]。

2.1.3 作为帕金森病治疗的药物递送载体 见表 2。

表 2 | 外泌体作为帕金森病治疗的药物递送载体的研究

作者	发表 时间	研究内容	主要贡献及应用 意义
COOPER 等 ^[73]	2014	使用修饰的狂犬病毒肽外泌体经静脉注射后将遗传物质注入大脑，结果发现在正常小鼠中检测到整个大脑的 α -突触核蛋白 mRNA 和蛋白质水平显著降低；siRNA 的治疗潜在模拟磷酸化 α -突触核蛋白转基因小鼠中， α -突触核蛋白聚集体大量减少，包括黑质的多巴胺能神经元的减少	表明了使用修饰的狂犬病毒肽外泌体靶向递送 siRNA 的治疗潜力，可以延缓和逆转大脑 α -突触核蛋白病理状况
HANEY 等 ^[74]	2015	用编码过氧化氢酶的质粒 DNA 转染巨噬细胞分泌的外泌体，其含有过氧化氢酶遗传物质，然后通过外泌体转移到神经元，从而导导致靶细胞中的蛋白质重新合成	结果证实了在体内模型中均起到了重要的神经保护作用

目前，帕金森病药物治疗以基于多巴胺替代策略为主，虽取得一定疗效，但由于血脑屏障的存在，约 98% 的可能治疗中枢神经系统疾病的有效药物无法得到使用，只有分子质量 < 400 Da 的脂溶性小分子才容易通过血脑屏障进入脑部组织^[75]。并且多巴胺药物由于其分子本身具有亲水性和高氢键性，使其难以通过血脑屏障；而多巴胺结构类似物通过连续刺激多巴胺受体，此类激动剂生物利用度很低，作用时间也短，必须每日多次给药^[2]。因此，开发能将药物稳定递送至大脑的载体显得尤为重要^[76]。而外泌体是天然存在的纳米级囊泡，可以穿过血脑屏障^[77]，同时还具有在细胞间运输生物分子的天然能力以及免疫惰性、膜融合入胞等优势，可以逃避宿主免疫系统的快速药物清除，故被应用于脑部疾病的药物递送^[78]。

尽管使用外泌体作为治疗药物的递送载体进行了广泛的研究，但是将外泌体作为帕金森病治疗的药物载体的研究仍非常有限。目前已有不同类型的载体用于递送外源遗传物质，包括病毒、阳离子聚合物载体如聚阳离子聚乙烯亚胺纳米颗粒和脂质体，但是这些方法受到立体定向手术、免疫原性、细胞毒性和非特异性靶向的限制，而外泌体有潜力克服几乎所有这些问题，而且是核酸到靶向细胞的天然载体^[79]。COOPER 等^[73]前期已证明，使用 α -突触核蛋白 siRNA 可降低小鼠大脑中总 α -突触核蛋白和聚集的 α -突触核蛋白水平；为了实现将 siRNA 广泛递送至大脑，他们使用修饰的狂犬病毒肽外泌体经静脉注射后将遗传物质注入大脑，结果发现在正常小鼠中检测到整个大脑的 α -突触核蛋白 mRNA 和蛋白质水平显著降低；在模拟磷酸化 α -突触核蛋白转基因小鼠中， α -突触核蛋白聚集体大量减少，包括黑质的多巴胺能神经元的减少。这项研究表明了使用修饰的狂犬病毒肽外泌体靶向递送 siRNA 的治疗潜力，可以延缓和逆转大脑 α -突触核蛋白病理状况。此外，HANEY 等^[74]用编码过氧化氢酶的质粒 DNA 转染巨噬细胞分泌的外泌体，其含有过氧化氢酶遗传物质，然后通过外泌体转移到神经元，从而导致靶细胞中的蛋白质重新合成，结果证实了在帕金森病的体外及体内模型中均起到了重要的神经保护作用。并且将治疗剂掺入外泌体中可以保持药物治疗活性，延长循环时间，并改善治疗剂向大脑的输送^[80]。

2.2 间充质干细胞源性外泌体在帕金森病中的研究进展 间充质干细胞是于 1992 年由 CAPLAN 教授首次确定命名的^[81]，作为一种具有多向分化潜能、高度自我更新能力的来源于中胚层的多能干细胞，广泛存在于人体多种组织中，并在不同诱导条件下有分化为间充质组织谱系，包括骨、软骨、脂肪、肌腱、肌肉和骨髓的能力^[82]。间充质干细胞具有免疫调节^[83]、组织损伤修复^[84]、神经保护等多种功能^[85-86]，而且不同类型的间充质干细胞在神经系统疾病的治疗与研究中扮演着重要角色^[87-88]。近年来，随着研究的不断深入，发现间充质干细胞可通过短暂旁分

泌生长因子、趋化因子和细胞因子等，减少细胞凋亡和纤维化，促进血管生成和组织修复等治疗作用^[89-90]。此外，大量的研究表明间充质干细胞源性外泌体在神经退行性疾病中参与炎症信号通路的调节、血管重构、促内皮细胞增殖、抗细胞凋亡及免疫调节等，后续的临床试验也证明间充质干细胞旁分泌机制在刺激组织再生方面拥有更好的安全性与可行性，这预示着运用间充质干细胞源性外泌体可能成为治疗神经退行性疾病的重要手段之一^[91-92]。

作用机制：外泌体因具有低免疫原性、在循环中半衰期以及可携带小分子物质如 miRNA 和蛋白质等跨越血脑屏障等特点，所以在中枢神经系统再生医学中有望成为新治疗策略的基础^[93-95]。而间充质干细胞源性外泌体如今被广泛认为是间充质干细胞发挥生理功能的重要方式，在临床上不仅能介导间充质干细胞的治疗效力，而且在取代干细胞治疗疾病方面也具备巨大的潜力^[96]。有研究表明，间充质干细胞源性外泌体可通过调节神经干细胞、神经元和胶质细胞以及轴突在体外内环境中的生长，成为神经保护、神经分化的重要启动子^[97-98]。

目前间充质干细胞源外泌体在神经系统疾病的病理研究中已取得成效。例如，在脑卒中，静脉注射骨髓间充质干细胞源外泌体可促进神经生成、神经突起重塑和血管生成增加，并促进动物模型的功能恢复^[99]；在创伤性脑损伤大鼠模型中，间充质干细胞产生的外泌体通过促进内源性血管生成和神经发生以及通过减少颅脑损伤后大鼠的炎症而有效改善了功能恢复^[96]；注射骨髓间充质干细胞源外泌体也被证明是治疗脊髓损伤、减轻炎症和促进损伤后神经再生的一种可能方法^[100]。在阿尔茨海默症等神经退行性疾病中，研究表明骨髓间充质干细胞源外泌体高水平表达淀粉样 β 降解酶，可使脑 β -淀粉样蛋白水平降低，从而影响疾病进展。并且不断有研究证实间充质干细胞源外泌体有助于改善受损的神经系统功能和增强血管神经发生，因而有可能成为治疗神经退行性疾病的有效方法^[101]。近期大量的临床前研究也发现基于间充质干细胞的神经再生方法可促进受损神经元的突触连接和内源性神经元生长^[102-103]。

关于间充质干细胞源性外泌体在帕金森病中的作用主要表现在抑制多巴胺神经元凋亡、发挥神经保护，见表 3。

表 3 | 间充质干细胞源性外泌体在帕金森病中的研究进展

作者	发表 时间	研究内容	主要贡献及应用意义
JARMALAVIČIŪTĖ 等 ^[104]	2015	将人脑中腹侧神经干细胞分化为多巴胺能神经元，利用 6-羟基多巴胺诱导人多巴胺能神经元氧化应激时，发现间充质干细胞来源的外泌体能够抑制 6-羟基多巴胺诱导的多巴胺能神经元凋亡	这提示以间充质干细胞源性外泌体为基础的治疗方式可能成为帕金森病治疗的新途径
WANG 等 ^[105]	2010	将 6-羟基多巴胺作用下的多巴胺能神经元注入 SD 雌性大鼠右侧纹状体，再注射绿色荧光蛋白标记间充质干细胞、成纤维细胞或磷酸盐缓冲液溶液，对大鼠进行行为评估、免疫组化及细胞凋亡检测，进而探讨了骨髓间充质干细胞释放的趋化因子对骨髓间充质干细胞的治疗作用	通过基质细胞衍生因子 1 的抗凋亡作用，对 6-羟基多巴胺暴露的多巴胺能神经元发挥神经保护作用，这为静脉注射间充质干细胞在临床上的应用进行了探索
COVA 等 ^[106]	2010	人骨髓间充质干细胞移植于 6-羟基多巴胺损伤大鼠纹状体内，发现骨髓间充质干细胞在局部释放可溶性因子（如脑源性神经营养因子）对受损神经元有一定的保护作用	人骨髓间充质干细胞在促进内源性修复机制方面有潜力；也可适用于帕金森病的治疗，并且是有益的
TEIXEIRA 等 ^[107]	2020	发现人骨髓间充质干细胞外泌体能够改善 6-羟基多巴胺帕金森病动物模型多巴胺细胞存活和运动功能的影响，并结合人骨髓间充质干细胞外泌体的神经调节特征，探讨其可能的机制和途径	研究结果支持人骨髓间充质干细胞外泌体作为治疗帕金森病的潜在治疗工具

研究表明将人中脑腹侧神经干细胞分化为多巴胺能神经元,利用6-羟基多巴胺诱导多巴胺能神经元氧化应激时,发现间充质干细胞来源的外泌体能够抑制6-羟基多巴胺诱导的多巴胺能神经元凋亡,这提示以间充质干细胞源性外泌体为基础的治疗方式可能成为帕金森病治疗的新途径^[104]。骨髓间充质干细胞移植对6-羟基多巴胺作用下的多巴胺能神经元通过骨髓间充质干细胞释放的趋化因子基质细胞衍生因子1的抗凋亡作用发挥神经保护作用,从而增加了多巴胺的释放^[105]。并且相关研究发现,间充质干细胞源性外泌体中存在重要的神经调节分子,包括脑源性神经营养因子、胰岛素样生长因子、血管内皮生长因子、色素上皮衍生因子、DJ-1基因和血清清抑素C,以及基质金属蛋白酶,它们被描述为潜在的治疗介质,并能够降解 α -突触核蛋白聚集体,进而改善在体内外模型中观察到的症状^[108-109]。此外,COVA团队^[106]也报道了人骨髓间充质干细胞移植于6-羟基多巴胺损伤大鼠纹状体内,对多巴胺能神经元有保护作用,并可诱导神经发生,提示骨髓间充质干细胞在局部释放可溶性因子(如脑源性神经营养因子)对受损神经元有一定的保护作用。TEIXEIRA等^[107]则通过与左旋多巴的比较,探讨了人骨髓间充质干细胞外泌体对6-羟基多巴胺模型动物运动性能的影响,以及酪氨酸羟化酶的表达对黑质和纹状体组织学参数的影响,研究发现人骨髓间充质干细胞外泌体能够改善动物模型多巴胺细胞存活和运动功能的影响,同时结合人骨髓间充质干细胞外泌体的神经调节特征,候选可能的生物活性分子,探讨其可能的机制和途径。这些报道为间充质干细胞释放的生物活性分子发挥神经保护和抗凋亡作用提供了思路。

另外,外泌体最常见的组成物之一是遗传物质的存在,如miRNA,负责通过mRNA降解或抑制其翻译来调控特定基因,而很多疾病,包括帕金森病都表现出基因表达失调,特别是在miRNA水平。一些miRNAs被认为是 α -突触核蛋白调节剂,例如,干扰miR-433与成纤维细胞生长因子20 mRNA结合导致成纤维细胞生长因子20水平的增加,这反过来也增加了 α -突触核蛋白在细胞中的水平^[110]。此外,还发现其他miRNAs可以调节神经炎症相关基因的表达,例如miR-155在上调 α -突触核蛋白纤维的炎症反应中起着关键作用,这是因为miR-155是诸如白细胞介素1、白细胞介素6、肿瘤坏死因子 α 和一氧化氮合酶等促炎分子的调节因子,可导致其上调^[111]。而由miR-17、miR-18a、miR-19a/b、miR-20a和miR-90a形成的miRNA簇存在于间充质干细胞来源外泌体中,被描述为神经突起重塑和神经发生的重要调节剂,以及轴突生长和中枢神经系统恢复的刺激剂^[112]。同样,mimic-miR-124能促进脑室下区神经发生,并且能观察到6-羟基多巴胺处理下帕金森病模型小鼠行为的改善^[113];miR-155在帕金森病小胶质细胞的激活中起着关键作用,从而导致神经炎症^[114];miR-126的过度表达导致胰岛素样生长因子信号传导损伤,增加了多巴胺能神经元对帕金森病神经毒素6-羟基多巴胺的易感性,当使用沉默miR-126(antago-miR-126),会发生相反的情况,从而产生胰岛素样生长因子所引起的神经保护作用^[115]。

2.3 外泌体应用于中医药治疗帕金森病中的前景 近年来,中医药在整体观及辨证论治的独特理论体系指导下,凭借可靠的临床疗效越来越被人们所接受,外泌体相关研究也逐渐应用于中医药领域,但有关外泌体联合中医药治疗帕金森病的研究尚缺乏。然而目前中医药对于帕金森病的治疗具有改善帕金森病症状,减轻西药不良反应,发挥增效减毒的作用^[116],并且课题组前期已经证明,经补阳还五汤有效成分处理的大鼠骨髓间充质干细胞产生的外泌体,能够激活血管内皮生长因子、上调microRNA-126表达、降低miR-221与miR-222表达,从而促进

脑缺血组织血管新生,进而减少缺血性损伤^[117]。这一研究为间充质干细胞源性外泌体作为中药载体应用于帕金森病提供了依据。

3 总结与展望 Summary and prospects

3.1 既往他人在该领域研究的贡献和存在的问题 目前外泌体及间充质干细胞源性外泌体在帕金森病的应用中具有巨大潜力,因为它们可以跨越血脑屏障,具有低免疫原性、进行细胞间通讯、物质运输及作为药物载体等特点,并且具有促进神经再生、减少神经炎症、抑制多巴胺能神经元凋亡等作用。但仍存在以下挑战:①需对外泌体及间充质干细胞源性外泌体的结构、功能进行深入研究,以及对其在帕金森病发病机制中的作用进一步探索;②中医药对帕金森病的疗效值得肯定,但具体的作用靶点及调控机制仍需深究;③由于帕金森病患者的多巴胺能神经元丢失、变性是多因素交互作用下造成的,神经毒素诱导的帕金森病动物模型并不能完全模拟人类患者的病理生理机制,因此无法准确预知已在动物实验中取得的成功能否真正治愈帕金森病或减缓其病程,并且关于外泌体及间充质干细胞源性外泌体在帕金森病中的研究仍偏少,未来仍需高质量动物及临床研究的支持。

3.2 区别于他人他篇的特点 外泌体及间充质干细胞源性外泌体在脑血管疾病等神经系统疾病中的应用已被广泛探讨,外泌体在帕金森病的诊治方面也有过探讨,但随着近年来研究的深入,该综述从外泌体在帕金森病中的发病机制、作为诊断标志物及药物递送载体方面的相关研究进行归纳整理,尤其是对间充质干细胞源性外泌体在抑制多巴胺神经元凋亡,发挥神经保护改善帕金森病的研究进行了论述。

3.3 综述的局限性 以主题词结合自由词进行检索无法保证可以搜索到所有相关的文献,可能会遗漏研究,但尽可能对该领域的重要研究及成果进行论述。

3.4 综述的重要意义 帕金森病作为一种发病率逐年上升的神经退行性疾病,给患者、家庭及社会带来沉重负担,尽管目前的药物及外科治疗在改善帕金森病患者生活质量方面取得一定进展,但未能阻止疾病进展,并且其背后的分子和细胞机制仍未完全明了。而外泌体,尤其是间充质干细胞源性外泌体被认为是治疗帕金森病的一种很有前途的治疗工具。通过本文综述外泌体及间充质干细胞源性外泌体在帕金森病中的研究进展,希望能为帕金森病的诊治提供新思路以及一定的理论依据。

致谢:感谢张运克导师的指导与帮助。

作者贡献:张运克、卫宇帆负责构思设计,卫宇帆、樊飞燕、李双利参与文献收集,卫宇帆负责文章写作总结,樊飞燕、李双利负责文章校对,张运克负责项目指导。全体作者都阅读并同意最终的文本。

经费支持:该文章接受了“国家自然科学基金(81974564)”及“河南省科技创新杰出人才项目(2018JR0006)”的资助。所有作者声明,经费支持没有影响文章观点和对研究数据客观结果的统计分析及其报道。

利益冲突:文章的全部作者声明,在课题研究和文章撰写过程中不存在利益冲突。

写作指南:该研究遵守《系统综述和荟萃分析报告规范》(PRISMA指南)。

文章查重:文章出版前已经过专业反剽窃文献检测系统进行3次查重。

文章外审:文章经小同行外审专家双盲外审,同行评议认为文章符合期刊发表宗旨。

文章版权:文章出版前杂志已与全体作者授权人签署了版权相关协议。

开放获取声明:这是一篇开放获取文章,根据《知识共享许可协议》“署名-非商业性使用-相同方式共享4.0”条款,在合理引用的情况下,允许他人以非商业性目的基于原文内容编辑、调整和扩展,同时允许任何用户阅读、下载、拷贝、传递、打印、检索、超级链接该文献,并为之建立索引,用作软件的输入数据或其它任何合法用途。

4 参考文献 References

- [1] KALIA LV, LANG AE. Parkinson's disease. *Lancet*. 2015;386(9996):896-912.
- [2] ARMSTRONG MJ, OKUN MS. Diagnosis and Treatment of Parkinson Disease: A Review. *JAMA*. 2020;323(6):548-560.
- [3] CHEN HX, LIANG FC, GU P, et al. Exosomes derived from mesenchymal stem cells repair a Parkinson's disease model by inducing autophagy. *Cell Death Dis*. 2020;11(4):288.
- [4] BEATRIZ M, VILAÇA R, LOPES C. Exosomes: Innocent Bystanders or Critical Culprits in Neurodegenerative Diseases. *Front Cell Dev Biol*. 2021;9:635104.
- [5] DEHAY B, BOURDENX M, GORRY P, et al. Targeting α -synuclein for treatment of Parkinson's disease: mechanistic and therapeutic considerations. *Lancet Neurol*. 2015;14(8):855-866.
- [6] LI JY, ENGLUND E, HOLTON JL, et al. Lewy bodies in grafted neurons in subjects with Parkinson's disease suggest host-to-graft disease propagation. *Nat Med*. 2008;14(5):501-503.
- [7] HICKMAN S, IZZY S, SEN P, et al. Microglia in neurodegeneration. *Nat Neurosci*. 2018;21(10):1359-1369.
- [8] MCMILLAN KJ, MURRAY TK, BENGIOA-VERGNIOY N, et al. Loss of MicroRNA-7 Regulation Leads to α -Synuclein Accumulation and Dopaminergic Neuronal Loss In Vivo. *Mol Ther*. 2017;25(10):2404-2414.
- [9] CAO XY, LU JM, ZHAO ZQ, et al. MicroRNA biomarkers of Parkinson's disease in serum exosome-like microvesicles. *Neurosci Lett*. 2017;644:94-99.
- [10] OHMACHI T, MITSUHASHI M, TATEBE H, et al. Quantification of brain-derived extracellular vesicles in plasma as a biomarker to diagnose Parkinson's and related diseases. *Parkinsonism Relat Disord*. 2019;61:82-87.
- [11] IZCO M, CARLOS E, ALVAREZ-ERVITI L. The Two Faces of Exosomes in Parkinson's Disease: From Pathology to Therapy. *Neuroscientist*. 2021;1073858421990001.
- [12] YEO RW, LAI RC, ZHANG B, et al. Mesenchymal stem cell: an efficient mass producer of exosomes for drug delivery. *Adv Drug Deliv Rev*. 2013;65(3):336-341.
- [13] DENG H, SUN C, SUN Y, et al. Lipid, Protein, and MicroRNA Composition Within Mesenchymal Stem Cell-Derived Exosomes. *Cell Reprogram*. 2018;20(3):178-186.
- [14] HAN Y, LI X, ZHANG Y, et al. Mesenchymal Stem Cells for Regenerative Medicine. *Cells*. 2019;8(8):886.
- [15] FAN XL, ZHANG Y, LI X, et al. Mechanisms underlying the protective effects of mesenchymal stem cell-based therapy. *Cell Mol Life Sci*. 2020;77(14):2771-2794.
- [16] D'ANGELO M, CIMINI A, CASTELLI V. Insights into the Effects of Mesenchymal Stem Cell-Derived Secretome in Parkinson's Disease. *Int J Mol Sci*. 2020;21(15):5241.
- [17] CODISPOTI B, MARRELLI M, PADUANO F, et al. NANOMETRIC BIO-BANKED MSC-Derived Exosome (NANOBIOME) as a Novel Approach to Regenerative Medicine. *J Clin Med*. 2018;7(10):357.
- [18] BÁTIZ LF, CASTRO MA, BURGOS PV, et al. Exosomes as Novel Regulators of Adult Neurogenic Niches. *Front Cell Neurosci*. 2016;9:501.
- [19] LIEW LC, KATSUDA T, GAILHOUSE L, et al. Mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles: a glimmer of hope in treating Alzheimer's disease. *Int Immunol*. 2017;29(1):11-19.
- [20] LOU G, CHEN Z, ZHENG M, et al. Mesenchymal stem cell-derived exosomes as a new therapeutic strategy for liver diseases. *Exp Mol Med*. 2017;49(6):e346.
- [21] DOYLE LM, WANG MZ. Overview of Extracellular Vesicles, Their Origin, Composition, Purpose, and Methods for Exosome Isolation and Analysis. *Cells*. 2019;8(7):727.
- [22] PEGTEL DM, GOULD SJ. Exosomes. *Annu Rev Biochem*. 2019;88:487-514.
- [23] SUGAYA K, VAIDYA M. Stem Cell Therapies for Neurodegenerative Diseases. *Adv Exp Med Biol*. 2018;1056:61-84.
- [24] PAN BT, JOHNSTONE RM. Fate of the transferrin receptor during maturation of sheep reticulocytes in vitro: selective externalization of the receptor. *Cell*. 1983;33(3):967-978.
- [25] WOLF P. The nature and significance of platelet products in human plasma. *Br J Haematol*. 1967;13(3):269-88.
- [26] JOHNSTONE RM, ADAM M, HAMMOND JR, et al. Vesicle formation during reticulocyte maturation. Association of plasma membrane activities with released vesicles (exosomes). *J Biol Chem*. 1987;262(19): 9412-9420.
- [27] RAPOSO G, NIJMAN HW, STOORVOGEL W, et al. B lymphocytes secrete antigen-presenting vesicles. *J Exp Med*. 1996;183(3):1161-1172.
- [28] VALADI H, EKSTRÖM K, BOSSIOS A, et al. Exosome-mediated transfer of mRNAs and microRNAs is a novel mechanism of genetic exchange between cells. *Nat Cell Biol*. 2007;9(6):654-959.
- [29] ZOMER A, MAYNARD C, VERWEIJ FJ, et al. In Vivo imaging reveals extracellular vesicle-mediated phenocopying of metastatic behavior. *Cell*. 2015;161(5): 1046-1057.
- [30] MELO SA, LUECKE LB, KAHLERT C, et al. Glypican-1 identifies cancer exosomes and detects early pancreatic cancer. *Nature*. 2015;523(7559):177-182.
- [31] HOSHINO A, COSTA-SILVA B, SHEN TL, et al. Tumour exosome integrins determine organotropic metastasis. *Nature*. 2015;527(7578):329-335.
- [32] BRAAK H, DEL TREDICI K, RÜB U, et al. Staging of brain pathology related to sporadic Parkinson's disease. *Neurobiol Aging*. 2003;24(2):197-211.
- [33] DESPLATS P, LEE HJ, BAE EJ, et al. Inclusion formation and neuronal cell death through neuron-to-neuron transmission of alpha-synuclein. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2009;106(31):13010-13015.
- [34] KORDOWER JH, CHU Y, HAUSER RA, et al. Lewy body-like pathology in long-term embryonic nigral transplants in Parkinson's disease. *Nat Med*. 2008;14(5):504-506.
- [35] GUO M, WANG J, ZHAO Y, et al. Microglial exosomes facilitate α -synuclein transmission in Parkinson's disease. *Brain*. 2020;143(5):1476-1497.
- [36] NEMANI VM, LU W, BERGE V, et al. Increased expression of alpha-synuclein reduces neurotransmitter release by inhibiting synaptic vesicle recluster after endocytosis. *Neuron*. 2010;65(1):66-79.
- [37] COOPER AA, GITLER AD, CASHIKAR A, et al. Alpha-synuclein blocks ER-Golgi traffic and Rab1 rescues neuron loss in Parkinson's models. *Science*. 2006;313(5785): 324-328.
- [38] JO E, MCLAURIN J, YIP CM, et al. alpha-Synuclein membrane interactions and lipid specificity. *J Biol Chem*. 2000;275(44):34328-34334.
- [39] DIKIY I, ELIEZER D. Folding and misfolding of alpha-synuclein on membranes. *Biochim Biophys Acta*. 2012;1818(4):1013-1018.
- [40] SERPELL LC, BERRIMAN J, JAKES R, et al. Fiber diffraction of synthetic alpha-synuclein filaments shows amyloid-like cross-beta conformation. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2000;97(9):4897-4902.
- [41] 张美美, 冯涛. α -突触核蛋白致病机制研究进展 [J]. *中华神经科杂志*, 2020, 53(3):227-231.
- [42] RECASENS A, DEHAY B, BOVÉ J, et al. Lewy body extracts from Parkinson disease brains trigger α -synuclein pathology and neurodegeneration in mice and monkeys. *Ann Neurol*. 2014;75(3):351-362.
- [43] DUAN L, XU L, XU X, et al. Exosome-mediated delivery of gene vectors for gene therapy. *Nanoscale*. 2021;13(3):1387-1397.
- [44] SCHOREY JS, BHATNAGAR S. Exosome function: from tumor immunology to pathogen biology. *Traffic*. 2008;9(6):871-881.
- [45] LUK KC, KEHM V, CARROLL J, et al. Pathological α -synuclein transmission initiates Parkinson-like neurodegeneration in nontransgenic mice. *Science*. 2012;338(6109):949-953.
- [46] EMMANOUILIDOU E, MELACHROINO K, ROUMELIOTIS T, et al. Cell-produced alpha-synuclein is secreted in a calcium-dependent manner by exosomes and impacts neuronal survival. *J Neurosci*. 2010; 30(20):6838-6851.
- [47] DANZER KM, KRANICH LR, RUF WP, et al. Exosomal cell-to-cell transmission of alpha synuclein oligomers. *Mol Neurodegener*. 2012;7:42.
- [48] GHIDONI R, BENUSSI L, BINETTI G. Exosomes: the Trojan horses of neurodegeneration. *Med Hypotheses*. 2008;70(6):1226-1227.
- [49] BENVENISTE EN. Role of macrophages/microglia in multiple sclerosis and experimental allergic encephalomyelitis. *J Mol Med (Berl)*. 1997; 75(3):165-173.
- [50] 邵方泽, 梁世倩, 秦鸿雁. 小胶质细胞在帕金森病中的作用及其研究进展 [J]. *神经解剖学杂志*, 2020, 36(5):565-569.
- [51] CHANG C, LANG H, GENG N, et al. Exosomes of BV-2 cells induced by alpha-synuclein: important mediator of neurodegeneration in PD. *Neurosci Lett*. 2013;548:190-195.
- [52] MAROGIANNI C, SOKRATOUS M, DARDIOTIS E, et al. Neurodegeneration and Inflammation-An Interesting Interplay in Parkinson's Disease. *Int J Mol Sci*. 2020; 21(22):8421.
- [53] HAQUE ME, AKTHER M, JAKARIA M, et al. Targeting the microglial NLRP3 inflammasome and its role in Parkinson's disease. *Mov Disord*. 2020;35(1):20-33.
- [54] CYPRIY W, NYMAN TA, MATIKAINEN S. From Inflammasome to Exosome-Does Extracellular Vesicle Secretion Constitute an Inflammasome-Dependent Immune Response? *Front Immunol*. 2018;9:2188.
- [55] SCHULZ J, TAKOUSIS P, WOHLERS I, et al. Meta-analyses identify differentially expressed micrnas in Parkinson's disease. *Ann Neurol*. 2019;85(6):835-851.
- [56] HOSS AG, LABADORF A, BEACH TG, et al. microRNA Profiles in Parkinson's Disease Prefrontal Cortex. *Front Aging Neurosci*. 2016;8:36.
- [57] SINGH A, SEN D. MicroRNAs in Parkinson's disease. *Exp Brain Res*. 2017; 235(8): 2359-2374.
- [58] ADUSUMILLI L, FACCHINELLO N, TEH C, et al. miR-7 Controls the Dopaminergic/Oligodendroglial Fate through Wnt/ β -catenin Signaling Regulation. *Cells*. 2020; 9(3):711.
- [59] ALVAREZ-ERVITI L, SEOW Y, SCHAPIRA AH, et al. Influence of microRNA deregulation on chaperone-mediated autophagy and α -synuclein pathology in Parkinson's disease. *Cell Death Dis*. 2013;4(3):e545.
- [60] CHEN Y, GAO C, SUN Q, et al. MicroRNA-4639 Is a Regulator of DJ-1 Expression and a Potential Early Diagnostic Marker for Parkinson's Disease. *Front Aging Neurosci*. 2017;9:232.
- [61] NIES YH, MOHAMAD NAJIB NH, LIM WL, et al. MicroRNA Dysregulation in Parkinson's Disease: A Narrative Review. *Front Neurosci*. 2021;15: 660379.
- [62] CHO HJ, LIU G, JIN SM, et al. MicroRNA-205 regulates the expression of Parkinson's disease-related leucine-rich repeat kinase 2 protein. *Hum Mol Genet*. 2013;22(3):608-620.
- [63] MAO S, SUN Q, XIAO H, et al. Secreted miR-34a in astrocytic shedding vesicles enhanced the vulnerability of dopaminergic neurons to neurotoxins by targeting Bcl-2. *Protein Cell*. 2015;6(7):529-540.

- [64] WINKLER CW, TAYLOR KG, PETERSON KE. Location is everything: let-7b microRNA and TLR7 signaling results in a painful TRP. *Sci Signal*. 2014;7(327):pe14.
- [65] GUI Y, LIU H, ZHANG L, et al. Altered microRNA profiles in cerebrospinal fluid exosome in Parkinson disease and Alzheimer disease. *Oncotarget*. 2015;6(35):37043-37053.
- [66] MATHEW B, MANSURI MS, WILLIAMS KR, et al. Exosomes as Emerging Biomarker Tools in Neurodegenerative and Neuropsychiatric Disorders-A Proteomics Perspective. *Brain Sci*. 2021;11(2):258.
- [67] JIANG Y, LIU J, CHEN L, et al. Serum secreted miR-137-containing exosomes affects oxidative stress of neurons by regulating OXR1 in Parkinson's disease. *Brain Res*. 2019;1722:146331.
- [68] FEARNLEY JM, LEES AJ. Ageing and Parkinson's disease: substantia nigra regional selectivity. *Brain*. 1991;114(5):2283-2301.
- [69] RASTOGI S, SHARMA V, BHARTI PS, et al. The Evolving Landscape of Exosomes in Neurodegenerative Diseases: Exosomes Characteristics and a Promising Role in Early Diagnosis. *Int J Mol Sci*. 2021;22(1):440.
- [70] YU H, SUN T, AN J, et al. Potential Roles of Exosomes in Parkinson's Disease: From Pathogenesis, Diagnosis, and Treatment to Prognosis. *Front Cell Dev Biol*. 2020;8:86.
- [71] CHANG CW, YANG SY, YANG CC, et al. Plasma and Serum Alpha-Synuclein as a Biomarker of Diagnosis in Patients With Parkinson's Disease. *Front Neurol*. 2020;10:1388.
- [72] ZHAO Y, YANG G. Potential of extracellular vesicles in the Parkinson's disease-Pathological mediators and biomarkers. *Neurochem Int*. 2021;144:104974.
- [73] COOPER JM, WIKLANDER PB, NORDIN JZ, et al. Systemic exosomal siRNA delivery reduced alpha-synuclein aggregates in brains of transgenic mice. *Mov Disord*. 2014;29(12):1476-1485.
- [74] HANEY MJ, KLYACHKO NL, ZHAO Y, et al. Exosomes as drug delivery vehicles for Parkinson's disease therapy. *J Control Release*. 2015;207:18-30.
- [75] PARDRIDGE WM. Drug transport across the blood-brain barrier. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2012;32(11):1959-1972.
- [76] LI W, QIU J, LI XL, et al. BBB pathophysiology-independent delivery of siRNA in traumatic brain injury. *Sci Adv*. 2021;7(1):eabd6889.
- [77] HA D, YANG N, NADITHE V. Exosomes as therapeutic drug carriers and delivery vehicles across biological membranes: current perspectives and future challenges. *Acta Pharm Sin B*. 2016;6(4):287-296.
- [78] TIAN Y, LI S, SONG J, et al. A doxorubicin delivery platform using engineered natural membrane vesicle exosomes for targeted tumor therapy. *Biomaterials*. 2014;35(7):2383-2390.
- [79] CHISTIAKOV DA, CHISTIAKOV AA. α -Synuclein-carrying extracellular vesicles in Parkinson's disease: deadly transmitters. *Acta Neurol Belg*. 2017;117(1):43-51.
- [80] WU X, ZHENG T, ZHANG B. Exosomes in Parkinson's Disease. *Neurosci Bull*. 2017;33(3):331-338.
- [81] HAYNESWORTH SE, BABER MA, CAPLAN AI. Cell surface antigens on human marrow-derived mesenchymal cells are detected by monoclonal antibodies. *Bone*. 1992;13(1):69-80.
- [82] PITTENGER MF, MACKAY AM, BECK SC, et al. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. *Science*. 1999;284(5411):143-147.
- [83] 余思, 刘尧, 陈旭. 间充质干细胞外泌体免疫调节作用及其机制的研究进展 [J]. 中国医科大学学报, 2018,47(10):939-941+947.
- [84] 李超然, 黄桂林, 王帅. 间充质干细胞来源外泌体促进损伤组织修复与再生的应用与进展 [J]. 中国组织工程研究, 2018,22(1):133-139.
- [85] 王康, 智晓东, 王伟. 干细胞来源外泌体修复周围神经损伤的效应 [J]. 中国组织工程研究, 2021,25(19):3083-3089.
- [86] 高振橙, 刘欣. 间充质干细胞外泌体在神经系统疾病修复过程中的作用与应用 [J]. 中国组织工程研究, 2020,24(19):3048-3054.
- [87] TSAI YA, LIU RS, LIRNG JF, et al. Treatment of Spinocerebellar Ataxia With Mesenchymal Stem Cells: A Phase I/IIa Clinical Study. *Cell Transplant*. 2017;26(3):503-512.
- [88] LO FURNO D, MANNINO G, GIUFFRIDA R. Functional role of mesenchymal stem cells in the treatment of chronic neurodegenerative diseases. *J Cell Physiol*. 2018;233(5):3982-3999.
- [89] JANOCKOVA J, SLOVINSKA L, HARVANANOVA D, et al. New therapeutic approaches of mesenchymal stem cells-derived exosomes. *J Biomed Sci*. 2021;28(1):39.
- [90] ISO Y, SPEES JL, SERRANO C, et al. Multipotent human stromal cells improve cardiac function after myocardial infarction in mice without long-term engraftment. *Biochem Biophys Res Commun*. 2007;354(3):700-706.
- [91] DE WINDT TS, VONK LA, SLAPER-CORTENBACH IC, et al. Allogeneic Mesenchymal Stem Cells Stimulate Cartilage Regeneration and Are Safe for Single-Stage Cartilage Repair in Humans upon Mixture with Recycled Autologous Chondrons. *Stem Cells*. 2017;35(1):256-264.
- [92] 陈晨, 黄辉, 胡文佳, 等. 间充质干细胞源性外泌体治疗神经退行性疾病: 应用中的问题及未来前景 [J]. 中国组织工程研究, 2019,23(9):1441-1447.
- [93] MANEK R, MOGHIEB A, YANG Z, et al. Protein Biomarkers and Neuroproteomics Characterization of Microvesicles/Exosomes from Human Cerebrospinal Fluid Following Traumatic Brain Injury. *Mol Neurobiol*. 2018;55(7):6112-6128.
- [94] LI JJ, WANG B, KODALI MC, et al. In vivo evidence for the contribution of peripheral circulating inflammatory exosomes to neuroinflammation. *J Neuroinflammation*. 2018;15(1):8.
- [95] KALANI A, TYAGI A, TYAGI N. Exosomes: mediators of neurodegeneration, neuroprotection and therapeutics. *Mol Neurobiol*. 2014;49(1):590-600.
- [96] 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 Neurosurg*. 2015;122(4):856-867.
- [97] TEIXEIRA FG, CARVALHO MM, NEVES-CARVALHO A, et al. Secretome of mesenchymal progenitors from the umbilical cord acts as modulator of neural/glial proliferation and differentiation. *Stem Cell Rev Rep*. 2015;11(2):288-297.
- [98] ASSUNÇÃO-SILVA RC, MENDES-PINHEIRO B, PATRÍCIO P, et al. Exploiting the impact of the secretome of MSCs isolated from different tissue sources on neuronal differentiation and axonal growth. *Biochimie*. 2018;155:83-91.
- [99] 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 Cereb Blood Flow Metab*. 2013;33(11):1711-1715.
- [100] HAN D, WU C, XIONG Q, et al. Anti-inflammatory Mechanism of Bone Marrow Mesenchymal Stem Cell Transplantation in Rat Model of Spinal Cord Injury. *Cell Biochem Biophys*. 2015;71(3):1341-1347.
- [101] PHINNEY DG, PITTENGER MF. Concise Review: MSC-Derived Exosomes for Cell-Free Therapy. *Stem Cells*. 2017;35(4):851-858.
- [102] LASSO JM, PÉREZ CANO R, CASTRO Y, et al. Xenotransplantation of human adipose-derived stem cells in the regeneration of a rabbit peripheral nerve. *J Plast Reconstr Aesthet Surg*. 2015;68(12):e189-197.
- [103] ZHANG Y, CHOPP M, LIU XS, et al. Exosomes Derived from Mesenchymal Stromal Cells Promote Axonal Growth of Cortical Neurons. *Mol Neurobiol*. 2017;54(4):2659-2673.
- [104] JARMALAVIČIŪTĖ A, TUNAITIS V, PIVORAITĖ U, et al. Exosomes from dental pulp stem cells rescue human dopaminergic neurons from 6-hydroxy-dopamine-induced apoptosis. *Cytotherapy*. 2015;17(7):932-939.
- [105] WANG F, YASUHARA T, SHINGO T, et al. Intravenous administration of mesenchymal stem cells exerts therapeutic effects on parkinsonian model of rats: focusing on neuroprotective effects of stromal cell-derived factor-1 α . *BMC Neurosci*. 2010;11:52.
- [106] COVA L, ARMENTERO MT, ZENARO E, et al. Multiple neurogenic and neurorescue effects of human mesenchymal stem cell after transplantation in an experimental model of Parkinson's disease. *Brain Res*. 2010;1311:12-27.
- [107] TEIXEIRA FG, VILAÇA-FARIA H, DOMINGUES AV, et al. Preclinical Comparison of Stem Cells Secretome and Levodopa Application in a 6-Hydroxydopamine Rat Model of Parkinson's Disease. *Cells*. 2020;9(2):315.
- [108] PIRES AO, MENDES-PINHEIRO B, TEIXEIRA FG, et al. Unveiling the Differences of Secretome of Human Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells, Adipose Tissue-Derived Stem Cells, and Human Umbilical Cord Perivascular Cells: A Proteomic Analysis. *Stem Cells Dev*. 2016;25(14):1073-1083.
- [109] OH SH, KIM HN, PARK HJ, et al. The Cleavage Effect of Mesenchymal Stem Cell and Its Derived Matrix Metalloproteinase-2 on Extracellular α -Synuclein Aggregates in Parkinsonian Models. *Stem Cells Transl Med*. 2017;6(3):949-961.
- [110] WANG G, VAN DER WALT JM, MAYHEW G, et al. Variation in the miRNA-433 binding site of FGF20 confers risk for Parkinson disease by overexpression of alpha-synuclein. *Am J Hum Genet*. 2008;82(2):283-289.
- [111] THOME AD, HARMS AS, VOLPICELLI-DALEY LA, et al. microRNA-155 Regulates Alpha-Synuclein-Induced Inflammatory Responses in Models of Parkinson Disease. *J Neurosci*. 2016;36(8):2383-2390.
- [112] 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. *Stroke*. 2017;48(3):747-753.
- [113] SARAIVA C, PAIVA J, SANTOS T, et al. MicroRNA-124 loaded nanoparticles enhance brain repair in Parkinson's disease. *J Control Release*. 2016;235:291-305.
- [114] VILAÇA-FARIA H, SALGADO AJ, TEIXEIRA FG. Mesenchymal Stem Cells-derived Exosomes: A New Possible Therapeutic Strategy for Parkinson's Disease? *Cells*. 2019;8(2):118.
- [115] KIM W, LEE Y, MCKENNA ND, et al. miR-126 contributes to Parkinson's disease by dysregulating the insulin-like growth factor/phosphoinositide 3-kinase signaling. *Neurobiol Aging*. 2014;35(7):1712-1721.
- [116] 张蕾, 何建成. 何建成教授从肝肾论治帕金森病 [J]. 中华中医药学刊, 2021, 39(2):23-25.
- [117] YANG J, GAO F, ZHANG Y, et al. Buyang Huanwu Decoction (BYHWD) Enhances Angiogenic Effect of Mesenchymal Stem Cell by Upregulating VEGF Expression After Focal Cerebral Ischemia. *J Mol Neurosci*. 2015;56(4):898-906.