

外泌体在医学领域的应用

赵鹏¹ 马文宇²

(1.青海大学 青海西宁 2.青海大学附属医院 青海西宁)

摘要: 外泌体是一种存在于细胞外囊泡中的物质,且其含有多种成分,如蛋白质、脂质和核酸等,是一种双磷脂膜囊泡。外泌体几乎由人体所有的细胞分泌,在各种体液中都能检测到,在细胞间的连接中占有举足轻重的地位。外泌体的作用表现为细胞间的连接,免疫调节,信号传导细胞的再生和分化,形成血管,凋亡,呈递抗原等。并且外泌体所含成分具有明显的特异性,利用此特性,如癌症及病毒感染、多囊卵巢综合征等,其可视为疾病的生物标记,作为诊断之用。外泌体也曾尝试作为载体,将药物输送出去,如一些抗肿瘤药的应用。外泌体在疾病中行使的功能使它在临床上的应用具有很大的优越性。本文主要从外泌体的发现、及其在相关疾病(皮肤创面修复,阿尔茨海默病,肿瘤治疗)的研究进展这2个方面加以阐述。

关键词: 外泌体 exosomes 医学应用

Zhao Peng [1] Ma Wenyu [2]

[1] Qinghai University Xining, Qinghai

[2] Affiliated Hospital of Qinghai University Xining, Qinghai

前言

外泌体(EXO, EXOSOMES)是由直径在 30~100nm 的磷脂双层膜包裹着脂质、蛋白质、核酸等多种生物活性物质,在电镜下观察其状态呈杯状,是参与细胞间物质转运和信息传递的重要物质^[1],由细胞通过旁分泌途径生成并释放到细胞外的囊状小泡。1983 年 Pan 等首次发现包裹代谢的最终产物,并在观察绵羊网织红细胞成熟时释放到细胞外的小囊泡,1987 年 Johnstone 等将其正式命名为“外泌体”^[2-3]。此后发现,几乎所有细胞,包括间充质干细胞(MSCs, Mesenchymal stem cells),都能分泌外泌体,并释放到细胞培养上清液等细胞外环境中,以及包括血液、淋巴液、脑脊液、唾液、尿液、羊水等各种体液^[4]。新研究显示,外泌体在细胞间信号通信中扮演着重要角色,在维持机体正常生理状态和参与疾病进程中起着免疫调节、促进血管再生的作用,同时也起着介导细胞增殖、分化、迁移、凋亡等作用^[5]。

外泌体在受损皮肤的作用及其相关机制:1、近期研究显示,外泌体对受损皮肤组织的具有免疫调节机制,活化的 T 调节细胞可促进伤口愈合,其相关的主要机制是通过减少干扰素- γ 的产生和促炎性 M1 表型巨噬细胞的积聚^[6]。一些外泌体来源于间充质干细胞,其对 B 淋巴细胞的活化、分化、增殖等有调节作用,对 T 淋巴细胞的增殖亦有抑制作用;外泌体可将活化后的 T 淋巴细胞转变为 T 调节表型,从而起到免疫抑制作用^[7-8]。外泌体总体上对炎症反应有抑制作用,但不清楚其分子的具体机理。在组织再生中,炎症因子的调节起着举足轻重的作用;过量的炎症因子可能造成组织破坏^[9]。外泌体可以通过降低炎性细胞因子(包括 TNF- α 、COX-2 等),提高 IL-10 等炎性细胞因子,以缓解因多重刺激而产生的炎症反应^[10,11]。综上所述,外泌体可以通过各种不同的机制,对炎症反应进行调节,进而达到缓解皮肤炎症程度,促进伤口愈合的作用^[12]。2、促进血管在受损皮肤组织中的生成:新生血管的形成是包括伤口愈合和组织修复在内的各种生理和病理过程中的关键步骤。现已有多项研究成果表明:外泌体在不同疾病模型中局部应用可诱发新血管形成。Zhang 等发现体外应用外泌体,可增强人脐静脉内皮细胞增殖、迁移及管路生成;另外,在创面位点上移植外泌体,可诱导新血管的形成与成熟,从而促使皮肤创面愈合^[13]。3、促进肌肤细胞增生与再上皮:通常在肌肤受损后的第 3D 期开始增生阶段。此后纤维细胞出现并开始增生,产生包括纤连蛋白、I 型和 III 型胶原蛋白在内的细胞外基质(ECM)。另外,上皮细胞开始增生,并移至伤处边缘,使创面闭合速度加快,皮肤感染程度降低。所以细胞增生、肌肤重新上皮是肌肤再生必不可少的环节。研究显示,包括富含血小板的血浆(PRP)、HiPSCs 和 HucMSC 在内的不同来源的外泌体都能促进皮肤细胞增殖,加速上皮再生。由 PRP 派生的外泌体在糖尿病大鼠模型中激活 YAP,能有效地促进纤维细胞的增生^[14]。外泌体就其亲代细胞而言,是一种在生理上比较稳定的纳米级别的囊

泡。能直接或间接地通过减少细胞损伤、促进细胞增殖等方式促进肌肤再生^[14]。

外泌体在阿尔茨海默病的治疗的诊断及其相关机制:1、外泌体可用于阿尔茨海默病的诊断:一些生化标志物可早期诊断阿尔茨海默病并预测疾病进展,现已经发现,外泌体可以从大脑合成和释放。这一特点使外泌体成为理想的生物标志物,反映了阿尔茨海默病的病理进展情况。血液中神经元和星形胶质细胞来源的外泌体可作为早期阿尔茨海默病诊断的更可靠的生物标志物。A β 42、T-Tau 和 P-T181-Tau 在神经元来源的外泌体中已被证实是阿尔茨海默病的生物标记^[16]。一些研究人员^[17]发现来自外周血的 N C A M 标记外泌体中的淀粉样蛋白 β 蛋白以及 M i - c r o R N A - 3 8 4 是阿尔茨海默病的潜在诊断标志物。此外,突触前蛋白和神经纤维蛋白 2 α (N R X N 2 α) 已被建议作为认知损伤前几年预测阿尔茨海默病的有效生物标志物,其中一些可能反映阿尔茨海默病的严重程度^[18]。更重要的是,由于外泌体中存在大量小 m i R N A ,小 m i R - N A 的表达谱也被认为是阿尔茨海默病的潜在诊断技术。就目前技术来说,可用的外泌体蛋白标记物的应用以及开发仍然处于初步阶段。外泌体提取过程的优化和标准化仍有待进一步改进,但外泌体作为分子诊断标记物的使用具有良好的应用前景。2、研究发现源自阿尔茨海默病人脑组织的外泌体富含 A β 和 T a u 蛋白,从死后阿尔茨海默病脑中分离出的含有外泌体的 β 寡聚体可被神经元内化,在附近细胞间转移并释放,在受体神经元中诱导细胞毒性^[19]。而外泌体可以穿过血脑屏障,然后通过增强 A β 或 t a u 的清除来延缓疾病的病理的发展过程。Alvarez-Erviti 等^[20]成功设计了加载 s i R N A 的工程化外泌体,以靶向 CNS 细胞并沉默 B A C E 1 的表达,这导致 A β - 4 2 水平显著降低。所以对于阿尔茨海默病的治疗,围绕其关于外泌体靶向药物的研究开发可能成为未来治疗阿尔茨海默病的一种新的治疗手段。3、外泌体对阿尔茨海默病的免疫调节作用:多项研究显示,胶质增生和神经炎症可因淀粉样斑块沉积和 Tau 蛋白过度磷酸化而诱发。小胶质细胞在大脑中扮演着第一道先天免疫防线的角色,是参与神经炎症和神经元损伤的关键细胞。小胶质细胞在激活时呈现出 M1/M2 两种不同的极化表型,而这些小胶质细胞的极化表型可以决定神经炎症的发展方向。含有免疫活性分子的外泌体可以调节免疫反应。比如,外泌体对抑制淋巴细胞的增殖与分化有一定的帮助。Chen 等^[21]研究发现,外泌体能抑制促炎因子 TNF- α 和 IL-1 β 的分泌,使抗炎因子 TGF- β 浓度升高。这些相关研究表明:外泌体在对阿尔茨海默病的治疗中,具有减轻神经炎症、避免神经细胞变性坏死、提高学习记忆能力的免疫调节作用,从而达到减缓病程的作用。4、总而言之,在针对外泌体对阿尔茨海默病作用的研究中,一方面,外泌体是阿尔茨海默病的潜在诊断标志,其应用的前景看好。另外一方面,外

泌体则可能通过人体大脑的血脑屏障,调节阿尔茨海默病的进展。最后,外泌体通过调节免疫调节,减缓了阿尔茨海默病的进展。因此,我们完全可以相信未来应用外泌体治疗以及诊断阿尔茨海默病将成为现实。外泌体为阿尔茨海默病患者提供了新的诊疗策略。

外泌体在肿瘤相关领域的作用:恶性肿瘤的早预防、早诊断和早治疗是精准医学和个体化治疗的关键。基于内容物成分的多样性和稳定性等优势,作为液体活检的重要组成部分,肿瘤外泌体正成为肿瘤标志物相关研究的热点。肿瘤异质性、复发、转移和耐药等依然是肿瘤难治的主要原因,而以手术、化疗和放疗为主的治疗手段,由于靶向性不足、药物和放疗的毒副作用等诸多挑战,导致肿瘤的治疗效果不佳。有研究表明,肿瘤治疗不能仅针对恶性肿瘤细胞,更要考虑到肿瘤微环境的影响^[22]。肿瘤来源的外泌体其具有易通过血脑屏障,以及双分子层脂质结构的稳定性和高效的生物相容性等特征。所以针对肿瘤的靶向治疗,肿瘤外泌体正成为理想的载体。肿瘤化疗和靶向治疗在肿瘤治疗过程中,由于各种缺陷,难以达到预期的疗效,患者也可能因大量药物摄入而产生各种副作用。而外泌体作为药物递送载体具有免疫原性低、长期安全、无细胞毒性等巨大优势^[23]。近年来,科研人员在以外泌体为药物载体,对肿瘤进行靶向治疗方面的研究,取得了大量成果,成果十分突出。但要充分发挥其作为药物载体的相关潜力,还面临着诸多挑战:①肿瘤细胞来源的外泌体含有促进肿瘤生长、侵袭和转移肿瘤的相关支持成分,所以作为肿瘤治疗工具的肿瘤外泌体可能是一把双刃剑,存在一定的安全隐患^[24]。②如果外泌体要大规模用于药物递送,则必须大规模分离高纯度的外泌体。目前还没有明确和理想的方法,能够高纯度的对相关外泌体提取和分离。现有的分离技术只能产生少量的外泌体,大规模生产成本高昂。③外泌体药物具有靶向性,但其靶向稳定性尚未深入研究,可能存在脱靶现象。④作为载体的外泌体的制造、装载效率、纯化、储存、使用、稳定持续时间和剂量的标准仍有待研究。⑤外泌体的来源不同,其生物学作用也不尽相同。不同的细胞类型和培养条件也可能改变体内某些外泌体中的关键调节因子。因此,规范外泌体在临床上的应用刻不容缓。

未来展望:外泌体领域已经取得了极大的发展,同时外泌体已被证明在皮肤修复,阿尔茨海默病以及肿瘤治疗的进展过程中发挥重要作用,尽管这些过程错综复杂,但随着外泌体等新介质及其作用的阐明,人们对外泌体的理解将更加透彻,外泌体的治疗在临床领域及其应用将更加成熟,外泌体很有希望成为人类对抗各种疾病的一种新型手段。

参考文献:

- [1] Kourembanas S. Exosomes: vehicles of intercellular signaling, biomarkers, and vectors of cell therapy [J]. *Annu Rev Physiol*, 2015, 77(1):13–27.
- [2] Pan BT, Johnstone RM. Fate of the transferrin receptor during maturation of sheep reticulocytes in vitro: selective externalization of the receptor [J]. *Cell*, 1983, 33(3):967–978.
- [3] Johnstone RM, Adam M, Hammond JR, et al. Vesicle formation during reticulocyte maturation. Association of plasma membrane activities with released vesicles (exosomes) [J]. *J Biol Chem*, 1987, 262(19):9412–9420.
- [4] Raposo G, Stoorvogel W. Extracellular vesicles: exosomes, microvesicles, and friends [J]. *J Cell Biol*, 2013, 200(4):373–383.
- [5] Tkach M, Thery C. Communication by extracellular vesicles: where we are and where we need to go [J]. *Cell*, 2016, 164(6):1226–1232.
- [6] Lipsky PE. Systemic lupus erythematosus: an autoimmune disease of B cell hyperactivity [J]. *Nat Immunol*, 2001, 2(9):764–766.
- [7] Nosbaum A, Prevel N, Truong H-A, et al. Regulatory T cells facilitate cutaneous wound healing [J]. *J Immunol*, 2016, 196(5):2010–2014.
- [8] Mongui 6 –Tortajada M, Roura S, G  lvez–Mont  n C, et al. Nanosized UCMSC-derived extracellular vesicles but not conditioned

medium exclusively inhibit the inflammatory response of stimulated T cells: implications for nanomedicine [J]. *Theranostics*, 2017, 7(2):270–284.

[9] Hatanaka E, Monteagudo PT, Marrocos MSM, et al. Neutrophils and monocytes as potentially important sources of proinflammatory cytokines in diabetes [J]. *Clin Exp Immunol*, 2006, 146(3):443–447.

[10] Yang J, Liu X X, Fan H, et al. Extracellular vesicles derived from bone marrow mesenchymal stem cells protect against experimental colitis via attenuating colon inflammation, oxidative stress and apoptosis [J]. *Plos One*, 2015, 10(10):e0140551.

[11] Li X, Liu L, Yang J, et al. Exosome derived from human umbilical cord mesenchymal stem cell mediates MiR–181c attenuating burn-induced excessive inflammation [J]. *EBioMedicine*, 2016, 8:72–82.

[12] Zhang J, Guan J, Niu X, et al. Exosomes released from human induced pluripotent stem cells-derived MSCs facilitate cutaneous wound healing by promoting collagen synthesis and angiogenesis [J]. *J Transl Med*, 2015, 13:49.

[13] Zhang B, Wu X, Zhang X, et al. Human umbilical cord mesenchymal stem cell exosomes enhance angiogenesis through the Wnt4/ β -catenin pathway [J]. *Stem Cells Transl Med*, 2015, 4(5):513–522.

[14] Guo SC, Tao SC, Yin WJ, et al. Exosomes derived from platelet-rich plasma promote the re-epithelization of chronic cutaneous wounds via activation of YAP in a diabetic rat model [J]. *Theranostics*, 2017, 7(1):81–96.

[15] Zhang B, Wu X, Zhang X, et al. Human umbilical cord mesenchymal stem cell exosomes enhance angiogenesis through the Wnt4/ β -catenin pathway [J]. *Stem Cells Transl Med*, 2015, 4(5):513–522.

[16] Jia L, Qiu Q, Zhang H, et al. Concordance between the assessment of Abeta42, T-tau, and P-T181-tau in peripheral blood neuronal-derived exosomes and cerebrospinal fluid [J]. *Alzheimer's Dement*, 2019, 15(8):1071.

[17] Li Y, Meng S, Di W, et al. Amyloid- β protein and MicroRNA–384 in NCAM-Labeled exosomes from peripheral blood are potential diagnostic markers for Alzheimer's disease [J]. *CNS Neurosci Ther*, 2022, 28(7):1093.

[18] Goetzl EJ, Abner EL, Jicha GA, et al. Declining level of functionally specialized synaptic proteins in plasma neuronal exosomes with progression of Alzheimer's disease [J]. *FASEB J*, 2018, 32(2):888.

[19] Soares Martins T, Trindade D, Vaz M, et al. Diagnostic and therapeutic potential of exosomes in Alzheimer's disease [J]. *J Neurochem*, 2021, 156(2):162.

[20] Alvarez-erivil L, Seow Y, Yin H, et al. Delivery of siRNA to the mouse brain by systemic injection of targeted exosomes [J]. *Nat Biotechnol*, 2011, 29(4):341.

[21] Chen W, Huang Y, Han J, et al. Immunomodulatory effect of mesenchymal stromal cells-derived exosome [J]. *Immunol Res*, 2012, 51(2):123–128.

[22] Kzhyshkowska J, Bizzarri M, Apte R, et al. Editorial: targeting of cancer cells and tumor microenvironment: perspectives for personalized therapy [J]. *Curr Pharm Des*, 2017, 23(32):4703–4704.

[23] Escudier B, Dorval T, Chaput N, André e F, Caby M P, Novault S, Flament C, Leboulleire C, Borg C, Amigorena S, Boccaccio C, Bonnerot C, Dhellin O, Movassagh M, Piperno S, Robert C, Serra V, Valente N, Le Pecq J B, Spatz A, Lantz O, Tursz T, Angevin E, Zitvogel L. *J Transl Med*, 2005, 3(1):10.

[24] Sun W, Luo J D, Jiang H, Duan D D. *Acta Pharmacol. Sin.*, 2018, 39(4):5342016, 64(4):831.