

脂肪间充质干细胞外泌体治疗创伤性中枢神经系统损伤

刘闯¹, 谭龙旺², 周禾山¹, 张弛¹<https://doi.org/10.12307/2023.630>

投稿日期: 2022-07-04

采用日期: 2022-08-19

修回日期: 2022-09-02

在线日期: 2022-10-13

中图分类号:

R459.9; R363; R364

文章编号:

2095-4344(2023)19-03061-09

文献标识码: A

文章快速阅读: 脂肪间充质干细胞外泌体治疗创伤性中枢神经系统的损伤

文章特点—

△文章阐述了创伤性中枢神经系统损伤的病理特点, 回顾了既往临床前研究中脂肪间充质干细胞外泌体治疗创伤性中枢神经系统损伤的作用和机制, 总结了这些实验的成果和局限性。

创伤性中枢神经系统损伤的病理特点

机械外力导致原发性损伤
级联反应导致的继发性损伤

脂肪间充质干细胞外泌体治疗创伤性脑损伤

调控小胶质细胞/巨噬细胞表型
肺腺癌转移相关转录本1的神经保护作用

脂肪间充质干细胞外泌体治疗脊髓损伤

调控小胶质细胞/巨噬细胞表型
抑制神经炎症和凋亡
促进神经修复再生

总结与展望

文题释义:

创伤性中枢神经系统损伤: 中枢神经系统遭受机械暴力所致的损伤, 在病理阶段上可分为机械暴力直接作用于损伤局部的原发性损伤和损伤局部微环境改变引起一系列级联反应而导致幸存神经组织再次受损的继发性损伤。包括了创伤性脑损伤和脊髓损伤。

脂肪间充质干细胞外泌体: 脂肪间充质干细胞外囊泡的一种, 直径为30–150 nm, 由细胞内多囊泡出芽形成, 可与细胞膜融合释放至细胞外基质中, 通过胞吞、膜融合、受体结合3种方式作用于靶细胞, 发挥生物调节作用。

摘要

背景: 脂肪间充质干细胞外泌体具有强大的损伤修复功能、更高的安全性和可通过血脑屏障、取材方便及易于大量生产的特点, 使其在创伤性中枢神经系统损伤的治疗中具有巨大的潜力。

目的: 对近年来应用脂肪间充质干细胞外泌体治疗创伤性中枢神经系统损伤的实验研究做一综述, 评述其研究成果及局限性, 对未来发展进行展望并提供作者的个人建议。

方法: 第一作者采用中国知网、万方、PubMed和Web of Science 数据库, 以“脂肪、间充质干细胞、外泌体、创伤性中枢神经系统损伤、脊髓损伤、创伤性脑损伤、病理”及“Adipose, mesenchymal stem cells, exosomes, traumatic central nervous system injury, spinal cord injury, traumatic brain injury, pathology”为检索词检索相关文献, 纳入符合标准的42篇文献进行综述。

结果与结论: ①通过总结相关文献结论, 脂肪间充质干细胞外泌体主要通过以下机制治疗创伤性中枢神经系统损伤: 通过核转录因子kB、MAPK等通路抑制损伤区炎症, 通过JNK3/c-jun及SRSF2-PKCδII-Bcl2途径抗神经元凋亡, 通过环磷酸腺苷反应元件结合蛋白、神经丝蛋白、生长相关蛋白43、胶质纤维酸性蛋白和髓鞘碱性蛋白途径促进神经再生。②但目前以上研究成果均来自临床前实验, 脂肪间充质干细胞中过表达的miR-133b在文章中的神经保护作用与其他研究中的结论有差异, 需要进一步验证; 脂肪间充质干细胞外泌体在创伤性中枢神经系统损伤领域中可能存在导致肥胖和脑出血的风险, 临床安全性有待进一步评估; 目前研究对脂肪间充质干细胞外泌体的生物成分及治疗机制挖掘不够深入; 脂肪间充质干细胞外泌体的标准化制备、储存、运输及给药策略(包括时间、途径及剂量)目前无统一共识。③综合而言, 脂肪间充质干细胞外泌体在创伤性中枢神经系统损伤中具有巨大的应用潜力, 未来应加强该领域的临床前研究成果并逐步过渡到临床前研究中, 以期对创伤性中枢神经系统损伤提供一种新的疗法。

关键词: 创伤性中枢神经系统损伤; 脂肪; 间充质干细胞; 外泌体; 脊髓损伤; 创伤性脑损伤; 小胶质细胞; 长链非编码RNA; 微小RNA

Adipose-derived mesenchymal stem cell exosomes for treating traumatic central nervous system injury

Liu Chuang¹, Tan Longwang², Zhou Heshan¹, Zhang Chi¹

¹Shaanxi University of Traditional Chinese Medicine, Xianyang 712000, Shaanxi Province, China; ²Department of Spine Orthopedics, Affiliated Hospital of Shaanxi University of Traditional Chinese Medicine, Xianyang 712000, Shaanxi Province, China

Liu Chuang, Master candidate, Shaanxi University of Traditional Chinese Medicine, Xianyang 712000, Shaanxi Province, China

Corresponding author: Tan Longwang, Professor, Chief physician, Master's supervisor, Department of Spine Orthopedics, Affiliated Hospital of Shaanxi University of Traditional Chinese Medicine, Xianyang 712000, Shaanxi Province, China

¹陕西中医药大学, 陕西省咸阳市 712000; ²陕西中医药大学附属医院脊柱骨科, 陕西省咸阳市 712000

第一作者: 刘闯, 男, 1995年生, 陕西省西安市人, 汉族, 陕西中医药大学第一临床医学院在读硕士, 主要从事脊柱脊髓疾病的临床与基础研究。

通讯作者: 谭龙旺, 教授, 主任医师, 硕士生导师, 陕西中医药大学第一附属医院脊柱骨科主任。陕西中医药大学附属医院脊柱骨科, 陕西省咸阳市 712000

<https://orcid.org/0000-0002-0028-7959> (刘闯); <https://orcid.org/0000-0003-1745-2057> (谭龙旺)

基金资助: 国家自然科学基金项目(81774349), 基金负责人: 谭龙旺

引用本文: 刘闯, 谭龙旺, 周禾山, 张弛. 脂肪间充质干细胞外泌体治疗创伤性中枢神经系统损伤 [J]. 中国组织工程研究, 2023, 27(19):3061-3069.



Abstract

BACKGROUND: Adipose-derived mesenchymal stem cell exosomes have the characteristics of strong damage repair function, high safety, passing blood-brain barrier, convenient material acquisition, and easy mass production, which makes it has the great potential in the treatment of traumatic central nervous system injuries.

OBJECTIVE: To review the experimental research on the application of adipose-derived mesenchymal stem cell exosomes in the treatment of traumatic central nervous system injury in recent years, its research achievements and limitations, prospect the future development, and provide personal suggestions.

METHODS: CNKI, WanFang, PubMed, and Web of Science databases were searched for relevant articles using "adipose, mesenchymal stem cells, exosomes, traumatic central nervous system injury, spinal cord injury, traumatic brain injury, pathology" as the search terms in Chinese and English. Totally 42 articles that met the criteria were included for review.

RESULTS AND CONCLUSION: (1) By summarizing relevant literature conclusions, adipose-derived mesenchymal stem cell exosomes are used to treat traumatic central nervous system injury through the following mechanisms: inhibiting inflammation in the injured area through nuclear factor-kB, MAPK and other pathways, inhibiting neuronal apoptosis through JNK3/c-jun, SRSF2-PKCδII-Bcl2 pathways, and promoting nerve regeneration through cAMP-response element binding protein, neurofilament protein, growth-associated protein 43, glial fibrillary acidic protein, and myelin basic protein pathways. (2) Existing problems: the above research results are from preclinical experiments. The neuroprotective effect of miR-133b overexpressed in adipose mesenchymal stem cells in this paper is inconsistent with the conclusions of other studies, and needs further verification. Adipose-derived mesenchymal stem cell exosomes may have the risk of obesity and cerebral hemorrhage in the field of traumatic central nervous system injury, and their safety needs further study. The biological components and therapeutic mechanisms of adipose derived mesenchymal stem cell exosomes are not well explored. At present, there is no unified consensus on the standardized preparation, storage, transportation and administration strategies (including time, route and dose) of adipose mesenchymal stem cell exosomes. (3) In conclusion, adipose derived stem cell exosomes have a great application potential in traumatic central nervous system injury. Preclinical research in this field should be strengthened and gradually transferred to clinical research, so as to provide a new treatment for traumatic central nervous system injury.

Key words: traumatic central nervous system injury; adipose; mesenchymal stem cell; exosome; spinal cord injury; traumatic brain injury; microglia; long noncoding RNA; microRNA

Funding: the National Natural Science Foundation of China, No. 81774349 (to TLW)

How to cite this article: LIU C, TAN LW, ZHOU HS, ZHANG C. Adipose-derived mesenchymal stem cell exosomes for treating traumatic central nervous system injury. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu. 2023;27(19):3061-3069.

0 引言 Introduction

哺乳动物的中枢神经系统包括大脑和脊髓，结构非常复杂。创伤性中枢神经系统损伤包括创伤性脑损伤和脊髓损伤，常见于交通事故、高空坠落和暴力事件^[1-2]。创伤性中枢神经系统损伤在病理阶段上可分为机械外力直接作用于损伤局部导致神经、血管等实质组织受损的原发性损伤和损伤局部微环境改变后引起一系列级联反应而导致神经二次受损的继发性损伤^[3]。

尽管与其他神经系统疾病相比，创伤性中枢神经系统损伤的年发病率偏低，但极高的致残率和死亡率给患者带来了毁灭性打击，巨额的医疗费用和终身护理进一步加重了患者和家属的经济负担及心理负担^[2, 4]。同时创伤性脑损伤也被怀疑是阿尔茨海默病、肌萎缩侧索硬化及帕金森病等神经退行性疾病的潜在危险因素^[5-7]。

对于创伤性中枢神经系统损伤而言，目前的治疗方式主要包括了手术减压（开颅减压、椎板减压）、物理疗法（高渗疗法、低温疗法、高压给氧）以及甲强龙、谷氨酸拮抗剂、自由基清除剂和黄体酮等药物治疗和康复治疗，但这些治疗方式均不能取得理想的疗效^[4, 8]。因此，开发新的治疗中枢神经系统损伤及其后遗症的替代疗法是目前亟待解决的问题。

间充质干细胞是具有自我更新功能的多能祖细胞，可分化成多种中胚层、外胚层和内胚层细胞，例如神经元、神经胶质细胞、骨细胞、脂肪细胞和肝细胞等^[9]。间充质干细胞的易获得性和低免疫原性以及较少的伦理限制使其与其他类型的干细胞相比得到更多的关注，被认为是治疗创伤性疾病比较理想的干细胞^[10]。

在间充质干细胞的治疗领域里，骨髓间充质干细胞在以往得到了最多的关注，但最近的研究表明较骨髓间充质干细胞取材方便且创伤更小的脂肪间充质干细胞是组织修复和再生的有效疗法，可治疗各种组织损伤，但与最初认为的细胞替代疗法不同，脂肪间充质干细胞通过旁分泌作用分泌多种细胞因子来减轻损伤组织的炎性反应、降低功能细胞的凋亡和促进组织再生^[11]，目前认为脂肪间充质干细胞外泌体在脂肪间充质干细胞旁分泌作用中起主导作用。

脂肪间充质干细胞外泌体的生物成分包括了蛋白质、脂质和核酸，从源细胞被释放后，外泌体通过与靶细胞上受体的相

互作用、内吞或与靶细胞膜直接融合 3 种方式将生物成分释放到靶细胞中，调控靶细胞的生命活动^[12]。与脂肪间充质干细胞相比，脂肪间充质干细胞外泌体更稳定，无成瘤、成栓风险和免疫排斥问题^[13]。脂肪间充质干细胞外泌体作为无细胞疗法的代表在组织损伤领域逐渐被重视，其丰富的内容物、强大的损伤修复功能以及更高的安全性和可通过血脑屏障的特点使其在中枢神经系统损伤的治疗中有着巨大的潜力。

文章综述了脂肪间充质干细胞外泌体治疗创伤性中枢神经系统损伤临床前实验的疗效和机制，总结了这些研究中的成果和不足，为进一步研究和未来临床转化提供了建议。

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 2022 年 7 月进行检索。

1.1.2 检索文献时限 文献发表时限为 2013-2022 年。

1.1.3 检索数据库 中国知网、万方、PubMed 和 Web of Science 数据库。

1.1.4 检索词 中文检索词包括“脂肪、间充质干细胞、外泌体、创伤性中枢神经系统损伤、脊髓损伤、创伤性脑损伤、病理”，英文检索词包括“Adipose, mesenchymal stem cells, exosomes, traumatic central nervous system injury, spinal cord injury, traumatic brain injury, pathology”。

1.1.5 检索文献类型 研究原著和综述。

1.1.6 手工检索情况 未进行手工检索。

1.1.7 检索策略 以 PubMed 数据库检索策略为例，见图 1。

#1 Adipose [Title/Abstract]
#2 mesenchymal stem cells [Title/Abstract]
#3 exosomes [Title/Abstract]
#4 #1 AND #2 AND #3
#5 traumatic central nervous system injury [Title/Abstract]
#6 spinal cord injury [Title/Abstract]
#7 traumatic brain injury [Title/Abstract]
#8 #5 OR #6 OR #7
#9 #4 AND #8
#10 pathology [Title]
#11 #8 AND #10

图 1 | PubMed 数据库检索策略图

1.1.8 检索文献数量 初步检索到中文文献 144 篇，英文文献 314 篇。

1.2 入组标准

1.2.1 纳入标准 ①与脂肪间充质干细胞治疗创伤性中枢神经系统损伤有关的文章；②与创伤性中枢神经系统损伤病理机制有关的文章；③与脂肪间充质干细胞外泌体生理特性相关的文章；④对相似文章尽量选取时间临近者。

1.2.2 排除标准 ①排除内容重复的文章；②排除相同研究类型的文章；③排除年限久远的文章。

1.3 文献质量评价与数据的提取 文献内容及观点创新，能够体现该领域最新研究进展且科学严谨的文献为重点纳入的文献，与研究内容和目的无关及质量低的不纳入此次研究。文献检索由第一作者独立完成，共检索得到文献 458 篇，通过阅读文章题目、摘要进行初步筛选及精读后共纳入 42 篇文献，其中英文文献 27 篇，中文文献 15 篇。文献筛选流程图，见图 2。

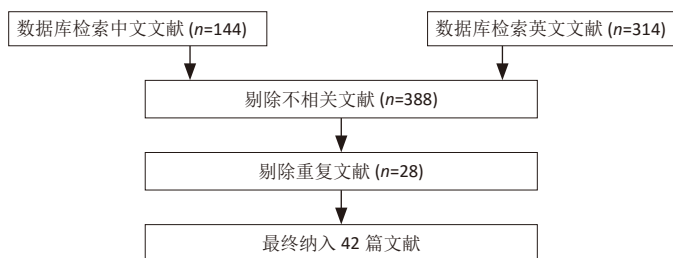


图 2 | 文献检索流程图

2 结果 Results

2.1 创伤性中枢神经系统损伤的病理 创伤性中枢神经系统损伤包括了创伤性脑损伤和脊髓损伤^[14]，在病理阶段上均可分为机械外力直接作用于损伤局部导致神经、血管等实质组织受损的原发性损伤和损伤局部微环境改变引起一系列级联反应而导致幸存神经组织再次受损的继发性损伤。

大脑的解剖结构异常精密，具有极其庞杂的神经、血管网络，细胞类型多种多样，如神经元细胞、星形胶质细胞、少突胶质细胞、小胶质细胞以及这些细胞的多种亚型。因其解剖结构的复杂，创伤性脑损伤后的病理机制同样非常复杂，目前对此知之甚少。总的来讲，创伤性脑损伤的病理阶段可分为原发性损伤和继发性损伤^[15]。原发性损伤是指头部最初遭受到的机械打击所导致的损伤，可能是开放性、穿透性损伤，也可能是闭合性损伤^[16]；损伤可以是局灶性的，也可以是弥漫性的，导致广泛的轴突损伤。创伤可能会导致神经元、星形胶质细胞和少突胶质细胞受损甚至死亡，也可能发生血管破裂、轴突切断/脱髓鞘。原发性损伤后损伤局部的微环境随时间推移发生一系列变化，血脑屏障功能丧失，血管破损血液连同外周免疫细胞渗入脑实质，造成炎症环境，组织水肿导致颅内压升高进而压迫动脉，脑血流量因此减少最终导致脑缺血，神经递质过度释放导致兴奋性毒性， Ca^{2+} 、 Na^+ 、 K^+ 失衡、乳酸和自由基堆积、ATP 亏空及大量细胞因子释放等一系列复杂的级联反应导致幸存神经组织持续受损，损伤区域扩大，最终导致不可逆的后遗症发生甚至死亡^[16-18]。

脊髓损伤的病理与创伤性脑损伤病理类似，原发性损伤同样涉及损伤局部神经组织和血管受损、一系列神经细胞损伤或死亡^[19]。继发性损伤涉及组织水肿、神经炎症、兴奋性毒性、ATP 亏空、 Na^+ 、 K^+ 失衡、 Ca^{2+} 过载、自由基堆积、乳酸堆积及能量摄取障碍等一系列病理级联反应^[20]，最终导致神经元持续死亡、轴突脱髓鞘、脊髓空洞形成等病理改变^[21]。

2.2 脂肪间充质干细胞外泌体治疗创伤性脑损伤 脂肪间充质干细胞外泌体在大鼠创伤性脑损伤后通过多条信号通路发挥调控小胶质细胞/巨噬细胞表型、抑制神经炎症、抑制神经元凋亡、促进神经再生的作用。

2.2.1 脂肪间充质干细胞外泌体调控小胶质细胞/巨噬细胞表型 创伤性脑损伤后，神经炎症作为对各种刺激和有害分子的反应，被认为是继发性损伤的关键机制。小胶质细胞/巨噬细胞属于中枢神经系统固有免疫细胞，约以 1 次/h 的频率与神经元突触直接接触监测中枢神经系统状态，当发生感染、创伤时，小胶质细胞/巨噬细胞被迅速激活介导炎症反应。原发性脑损伤后细胞破裂，细胞碎片作为抗原激活小胶质细胞/巨噬细胞，使其从高度分枝样静息状态的 M0 表型活化为阿米巴样促炎状态的 M1 表型，分泌白细胞介素 6 及肿瘤坏死因子 α 等大量炎症因子，对邻近区域的神经元细胞、其他神经胶质细胞造成进一步损伤，在炎症后期，小胶质细胞/巨噬细胞活化为抑制炎症状态的 M2 表型，发挥组织修复作用。因此，抑制 M1 型小胶质细胞/巨噬细胞活化，促进 M2 型小胶质细胞/巨噬细胞表达可能是减轻神经炎症、发挥神经保护作用的有效方法。已有多项研究证实脂肪间充质干细胞外泌体在抑制小胶质细胞/巨噬细胞活化，调控小胶质细胞/巨噬细胞表型中发挥重要作用^[22-24]。

在一项细胞实验中，FENG 等^[25]将脂肪间充质干细胞外泌体与脂多糖刺激的小鼠小胶质细胞系 BV2 细胞共培养，再将 BV2 细胞上清液与人神经母细胞瘤细胞株 SH-SY5Y 细胞共培养，研究证明脂肪间充质干细胞外泌体可以通过抑制核转录因子 κB 和 MAPK 信号通路的激活来抑制 BV2 细胞的活化，从而减弱肿瘤坏死因子 α 、白细胞介素 6、白细胞介素 1β 、诱导型一氧化氮合酶和 Cox2 等炎症因子的基因表达和蛋白分泌，并保护神经细胞免受活化的 BV2 细胞所分泌的炎症因子损伤。对于未经受脂多糖干预的 BV2 细胞而言，外泌体的预处理未使其炎症因子的基因转录和蛋白质分泌增加，这证明脂肪间充质干细胞外泌体可能仅在活化的 BV2 细胞中起作用，这或许意味着更少的不良作用；该研究的局限之处在于关于巨噬细胞极化的信号通路还有很多，如 Notch、JAK/STAT 和 TLRs 信号通路^[26]，该研究只验证了核转录因子 κB 和 MAPK 信号通路，在未来的研究中可进一步探索其他信号机制，而且该研究只是细胞实验，尚未得到临床转化。在一项动物实验研究中，CHEN 等^[27]给创伤性脑损伤大鼠侧脑室局部显微注射人脂肪间充质干细胞外泌体，发现人脂肪间充质干细胞外泌体能促进创伤性脑损伤大鼠功能恢复、抑制损伤区神经炎症、减少神经元凋亡以及促进神经元细胞和星形胶质细胞再生。

有研究发现，人脂肪间充质干细胞外泌体主要是被损伤区域中的小胶质细胞/巨噬细胞吸收，并显著抑制了 M1 型小胶质细胞/巨噬细胞促炎细胞因子的形成，促进了 M2 型小胶质细胞/巨噬细胞抑炎细胞因子的表达。在体外研究中，研究者发现用人脂肪间充质干细胞外泌体预处理抑制了脂多糖刺激下 M1 型小胶质细胞的阿米巴样形态改变。分子水平研究发现核转录因子 κB 通路和 MAPK 信号通路在小胶质细胞/巨噬细胞由 M0 型向 M1 型诱导的过程中被激活，人脂肪间充质干细胞外泌体抑制了这 2 条通路。总之，人脂肪间充质干细胞外泌体通过抑制核转录因子 κB 、MAPK 信号通路来调控小胶质细胞活化和表型以及炎症介质的释放，发挥神经保护作用。

尽管脂肪间充质干细胞外泌体调控小胶质细胞/巨噬细胞表型的能力已经得到了验证，但它进入小胶质细胞/巨噬细胞的具体途径目前仍不明晰，对该问题的进一步探索或许有助于增强小胶质细胞/巨噬细胞摄取脂肪间充质干细胞外泌体的能

力,使脂肪间充质干细胞外泌体特异性靶向小胶质细胞/巨噬细胞,提高用药效率和治疗精度。目前的重点主要是脂肪间充质干细胞外泌体和小胶质细胞/巨噬细胞表型之间的关系,但脂肪间充质干细胞外泌体对小胶质细胞/巨噬细胞的吞噬能力的影响、对神经元和其他神经胶质细胞的影响仍需进一步研究。此外,有研究表明脂肪间充质干细胞外泌体对小胶质细胞/巨噬细胞表型的调节能力与其所来源的脂肪间充质干细胞状态密切相关。炎症因子的预处理可激活脂肪间充质干细胞并诱导具有抑制 M1 表型、促进 M2 表型能力的外泌体释放,这意味着脂肪间充质干细胞外泌体调节小胶质细胞/巨噬细胞分化的能力不是组成性的,而是来自炎症微环境的激活。因此,在促炎环境下培养的脂肪间充质干细胞外泌体可能会对神经炎症有更好的抑制作用,这为脂肪间充质干细胞外泌体的标准化制备提供了一种思路。关于脂肪间充质干细胞外泌体的给药时间也需要进一步研究,过早的给药可能不利于损伤区域死亡细胞碎片的清除和降解,过迟的给药可能会导致炎症因子大量释放,对损伤周围的神经元及其他胶质细胞造成严重的继发性伤害。

2.2.2 脂肪间充质干细胞外泌体中肺腺癌转移相关转录本 1 (metastasis associated in lung denocarcinoma transcript 1, MALAT1) 的神经保护作用 脂肪间充质干细胞外泌体治疗创伤性脑损伤在细胞实验和动物实验中已被证实疗效确切,进一步深入研究外泌体的具体生物成分在创伤性脑损伤治疗中的作用将对提高外泌体的临床应用效率大有裨益,也是精准医学思想的体现。皮下脂肪间充质干细胞主要应用于再生医学, MALAT1 属于长链非编码 RNA,在皮下脂肪间充质干细胞外泌体中表达较高,可通过多靶点、多通路发挥创伤性脑损伤的治疗作用,具有巨大的应用潜力。

神经营养受体酪氨酸激酶 3 (NRTK3) 也称为原肌球蛋白受体激酶 C (TrkC),神经元和神经胶质细胞中的 TrkC 水平受选择性剪接调节,产生 2 种剪接变体:全长受体 (TrkC_FL) 和缺乏激酶结构域的截短受体 (TrkC_T1)。截短受体通过 TrkC 显著抑制 NT3 的信号传导。TrkC 作为膜结合受体,与神经生长因子 NT3 结合后,会发生自身磷酸化,然后进一步磷酸化丝裂原活化蛋白激酶 (MAPK aka ERK) 途径的成员。有研究表明 NT3-TrkC 通路的激活可减轻神经损伤、增强神经修复。

MOSS 等^[28]向创伤性脑损伤模型小鼠鼻内途径递送入脂肪间充质干细胞外泌体,证明了人脂肪间充质干细胞外泌体经鼻内途径给药后可被大脑损伤区神经元细胞和小胶质细胞摄取,以 MALAT1 依赖方式调节神经元和小胶质细胞 TrkC_FL 表达,改善神经元线粒体功能,调控炎症基因降低炎症因子白细胞介素 β 水平,激活 NT3-TrkC 通路、MAPK 通路并促进神经恢复。在其他类似研究中,侧脑室给药的外泌体绝大多数都被小胶质细胞摄取,该研究发现外泌体主要被同侧海马齿状回的 IBA1⁺ 小胶质细胞和 MAP2⁺ 神经元摄取,这可能是由于给药方式不同导致的,意味着不同的给药方式或许可以调控外泌体在损伤区内不同类型细胞中的分布,也意味着建立统一、规范的给药途径的重要性。此外,该研究还发现有无 MALAT1 的外泌体在脑内细胞中分布基本一致,意味着 MALAT1 与外泌体在脑内细胞中的分布无关;含有 MALAT1 的外泌体可降低损伤区的炎症标志物,但没有 MALAT1 的外泌体也能降低损伤区的炎症标志物,作用没前者明显,这意味着外泌体中发挥抗炎作用的生物成分可能有很多, MALAT1 在其中非常重要。值得注意的是,研究者发现从远期 (创伤性脑损伤后 7 周) 来看,假手术组、创伤性脑损伤组、无 MALAT1 外泌体组和有 MALAT1 外泌体组的 TrkC_FL 表达无显著性差异。这意味着 MALAT1 在创伤性脑损伤慢性期可能

对 NT3-TrkC-MAPK 途径没有益处,提示 MALAT1 应当在损伤早期应用。

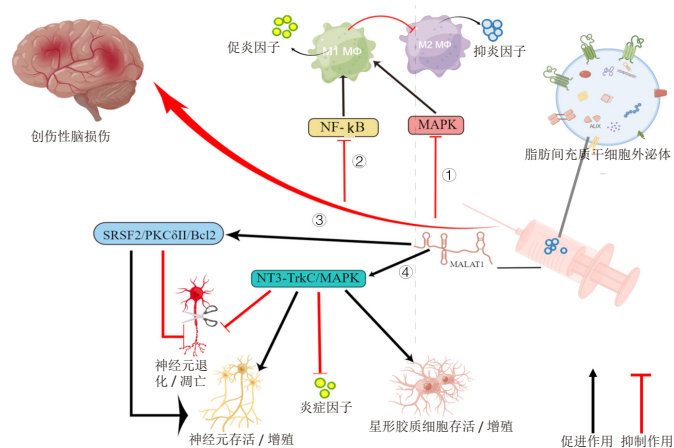
PATEL 等^[29]将含有或缺失 MALAT1 的人脂肪间充质干细胞外泌体静脉内给予受轻度皮质冲击后的大鼠,接受含有 MALAT1 的人脂肪间充质干细胞外泌体治疗的大鼠运动功能显著恢复,脑皮质损伤减少,用缺乏 MALAT1 的外泌体或缺乏外泌体的培养基处理显示出有限的运动恢复效果;体内成像显示外泌体在给药 1 h 后主要被脾脏和大脑摄取;基因测序表明, MALAT1 调节大脑和脾脏中 mRNA 与 ncRNA 的表达,参与炎症反应、细胞凋亡和细胞存活、MAPK 通路的信号转导和基因转录。值得注意的是,该研究通过静脉给药的方式使得一部分外泌体进入脾脏,这可能意味着外泌体的过滤和消除,但还可能意味着免疫相互作用。作为免疫器官,脾脏是外周巨噬细胞和单核细胞的来源之一,损伤后脾脏释放免疫细胞从而浸润到损伤区,阻断炎症单核细胞进入大脑损伤区,可以起到抑制神经炎症、减少皮质损伤和改善认知的作用。外泌体进入脾脏后可能会抑制这些免疫细胞释放到循环中,减少通过被破坏掉的血脑屏障的炎症细胞数量,降低外周免疫细胞引起的继发性损伤,因此脾脏同样也可能是人脂肪间充质干细胞外泌体治疗创伤性脑损伤的靶器官。

以往研究认为,通过靠近创伤性脑损伤损伤区给药 (如侧脑室或鼻内给药) 可提高药物递送效率,发挥更好的治疗效果,但这种给药方式可能会降低药物对其他靶器官的治疗作用,进而降低综合治疗效果。有研究表明,交替剪接的蛋白激酶 II (PK-C δ II) 通过 HT22 神经元细胞中的 B 细胞淋巴瘤 2 基因 (Bcl2) 增强神经元存活。EL BASSIT 等^[30]在细胞实验中证明脂肪间充质干细胞外泌体中 MALAT1 募集富含丝氨酸-精氨酸的剪接因子 2 (SRSF2),使得激酶可以有效地磷酸化 SRSF2,促进 PKC δ II 的可变剪接从而增加神经元存活率。此外,研究者还发现用胰岛素处理脂肪间充质干细胞外泌体后可以显著增加 MALAT1 和 SRSF2 的关联,提高 HT22 细胞损伤后的存活和增殖,但并未揭示这种增强的机制,未来可进一步研究胰岛素如何增强 MALAT1 和 SRSF2 的关联。

脂肪间充质干细胞外泌体中的 MALAT1 在创伤性脑损伤领域以大脑和脾脏为靶器官,在神经元细胞和小胶质细胞中发挥作用,通过介导炎症反应、氧化应激、NT3-TrkC 信号通路、MAPK 信号通路和 SRSF2-PKC δ II-Bcl2 信号通路发挥抑制神经炎症和神经细胞凋亡、增强神经元存活和增殖的作用。目前对于 MALAT1 的研究全部集中在细胞研究和动物研究,虽然取得了乐观的结果,但对临床试验是否有效并不可知,距离临床转化仍有很长的路要走。此综述的几项动物实验中,模型大鼠的脑损伤程度也不一致,有的仅对大鼠进行了轻度的皮质冲击,这导致目前对脂肪间充质干细胞外泌体治疗中重度创伤性脑损伤的研究还很不充分。

一些动物实验中 MALAT1 的给药途径包括了侧脑室、鼻内及静脉给药等,侧脑室给药和鼻内给药可能会提高药物靶向损伤区的效率,静脉给药虽然会被机体的一部分脏器截留,但同时也意味着药物靶向了更多的器官,尤其是与免疫相关的脾脏,这或许会提高药物的综合疗效,因此具体哪种给药方式最佳目前并无定论。MALAT1 的给药时间也是需要明确的一个问题,早期给药似乎可以发挥更好的作用, MALAT1 在创伤性脑损伤晚期可能对 NT3-TrkC 途径没有益处,但这需要进一步的验证。此外,该综述中对 MALAT1 的研究都是通过含有 MALAT1 的外泌体和不含 MALAT1 的外泌体进行对比的,如果从外泌体中分离出 MALAT1 单独给药,它还能否发挥同外泌体中其他成分一起给药的作用并不可知。因此,应当进一步研究 MALAT1 单独给药的

作用。然而，还有研究发现高血糖环境下 LncRNA MALAT1 通过激活 miR-7641/TPR 轴促进脑血管内皮细胞凋亡，从而加剧脑血管疾病引起的神经损伤^[31]。创伤性脑损伤本身就包括了大脑的血管损伤，这意味着 MALAT1 的应用可能具有一定的风险，或许会加重创伤性脑损伤患者的脑血管损伤，尤其是对糖尿病患者而言。脂肪间充质干细胞外泌体治疗创伤性脑损伤机制见图 3。



图注：①脂肪间充质干细胞外泌体通过抑制 MAPK 通路调节小胶质细胞/巨噬细胞表型，抑制 M1 型表达，促进 M2 型表达；②脂肪间充质干细胞外泌体通过抑制 NF-kB 通路调节小胶质细胞/巨噬细胞表型，抑制 M1 型表达，促进 M2 型表达；③过表达 MALAT1 的脂肪间充质干细胞外泌体激活 SRSF2/PKCδII/Bcl2 途径，抑制神经元凋亡，促进神经元再生；④过表达 MALAT1 的脂肪间充质干细胞外泌体激活 NT3-TrkC/MAPK 途径，抑制损伤区炎症和神经元凋亡，促进神经元和星形胶质细胞再生。NF-kB 为核因子 kappaB；MAPK 为丝裂原活化蛋白激酶；TrkC 为原肌球蛋白受体激酶；MALAT1 为肺腺癌转移相关转录本 1；NT3 为神经营养因子 3；SRSF2 为丝氨酸-精氨酸的剪接因子 2；PKCδII 为交替剪接的蛋白激酶 II；Bcl2 为 B 细胞淋巴瘤 2 基因

图 3 | 脂肪间充质干细胞外泌体治疗创伤性脑损伤

脂肪间充质干细胞外泌体治疗创伤性脑损伤相关实验研究汇总，见表 1。

2.3 脂肪间充质干细胞外泌体治疗脊髓损伤 脂肪间充质干细胞外泌体在大鼠脊髓损伤中通过多条信号通路发挥调控小胶质细胞/巨噬细胞表型、抑制神经炎症、抑制神经元凋亡、促进神经再生的作用。

2.3.1 脂肪间充质干细胞外泌体调控小胶质细胞/巨噬细胞表型与创伤性脑损伤相似，脊髓损伤后神经炎症是继发性损伤的关键机制。对小胶质细胞/巨噬细胞表型的调控有利于抑制神经炎症、改善脊髓损伤区微环境、促进神经修复。脂肪间充质干细胞外泌体及其生物成分在脊髓损伤后小胶质细胞/巨噬细胞表型的调控中发挥了有利的作用。

SUNG 等^[32] 将人硬膜外脂肪间充质干细胞外泌体通过静脉注射到脊髓损伤模型大鼠中，改善了脊髓损伤大鼠的运动功能。Iba-1 也称为同种异体移植炎症因子，是一种在小胶质细胞/巨噬细胞中特异表达的基因。外泌体治疗可降低脊髓损伤后升高的 Iba-1 表达水平，抑制小胶质细胞/巨噬细胞的形态转变为阿米巴样 (M1 促炎型)，抑制脊髓损伤后促炎因子白细胞介素 1β、白细胞介素 2 和肿瘤坏死因子 α 的水平，提高抗炎因子白细胞介素 10 和白细胞介素 13 的水平。RNA 测序揭示了外泌体给药后免疫反应和炎症反应相关基因表达发生变化。总之，该实验证明人硬膜外脂肪间充质干细胞外泌体可以抑制小胶质细胞/巨噬细胞的 M1 表型，改变免疫反应和炎症反应相关基因，

表 1 | 脂肪间充质干细胞外泌体治疗创伤性脑损伤的研究汇总

第一作者	发表年份	实验模型	实验结果	实验结论
FENG ^[25]	2019	脂多糖诱导的 BV-2 细胞 SH-SY5Y 细胞	IL-1β、IL-6、TNF-α、iNOS 和 Cox2 的基因表达及 IL-6、TNF-α 分泌下调 BV-2 细胞 P65、ERK、JNK 和 P38 磷酸化水平下降 SH-SY5Y 细胞大量存活	ADSC-Exo 抑制 NF-kB 和 MAPK 信号通路来抑制 BV2 细胞的活化，减轻炎症，发挥神经保护作用
CHEN ^[27]	2020	创伤性脑损伤大鼠	大鼠运动功能部分恢复； 损伤区促炎因子下调、抗炎因子上调； M1 型阿米巴样形态小胶质细胞数量下调 神经元及星形胶质细胞数量增加 P65 和 P38 磷酸化水平明显降低，P65 核定位显著降低	ADSC-Exo 促进神经元及星形胶质细胞增殖，抑制 NF-kB、MAPK 信号通路来调控小胶质细胞表型，改善神经炎症
MOSS ^[28]	2021	创伤性脑损伤小鼠 脂多糖诱导的永生小胶质细胞	小鼠运动和认知能力显著改善 外泌体主要被小胶质细胞和神经元摄取 IL-1β 水平下调 神经元线粒体损伤得到修复 神经元和小胶质细胞 TrkC FL 表达增加 ERK 磷酸化水平显著增加	人 ADSC-Exo 的 MALAT1 激活 NT3-TrkC FL-MAPK 通路改善神经元线粒体功能，降低 IL-1β，促进神经恢复
PATEL ^[29]	2018	创伤性脑损伤大鼠	运动功能显著恢复，脑皮质损伤减少 外泌体迁移到脾脏、大脑 炎症反应、细胞凋亡/存活、MAPK 通路相关基因改变	ADSC-Exo 中的 MALAT1 调节大脑和脾脏中 mRNA 与 ncRNA 的表达，激活 MAPK 信号通路，促进功能恢复
EL BASSIT ^[30]	2016	HT22 细胞	神经元存活率增加 磷酸化 SRSF2、PKCδII、Bcl2 表达上调	ADSC-Exo 中的 MALAT1 募集 SRSF2 促进 PKCδII 的选择性剪接，再通过 Bcl2 途径促进神经元存活

表注：ADSC-Exo 为脂肪间充质干细胞外泌体；IL-1β 为白细胞介素 1β；IL-6 为白细胞介素 6；TNF-α 为肿瘤坏死因子 α；iNOS 为诱导型一氧化氮合酶；Cox2 为环氧化酶 2；BV-2 细胞为小鼠小胶质细胞系细胞；P65 为核因子 κB p65；ERK 为细胞外调节蛋白激酶；JNK 为氨基末端激酶；P38 为核因子 κB p38；SH-SY5Y 细胞为人神经母细胞瘤细胞株细胞；NF-kB 为核因子 kappaB；MAPK 为丝裂原活化蛋白激酶；TrkC FL 为原肌球蛋白受体激酶 C 全长受体；MALAT1 为肺腺癌转移相关转录本 1；NT3 为神经营养因子 3；mRNA 为信使 RNA；ncRNA 为非编码 RNA；SRSF2 为丝氨酸-精氨酸的剪接因子 2；PKCδII 为交替剪接的蛋白激酶 II；Bcl2 为 B 细胞淋巴瘤 2 基因

调节促炎因子和抗炎因子水平，抑制神经炎症，促进脊髓损伤大鼠功能恢复。值得注意的是，高外泌体组大鼠在接受治疗的 28 d 后，平均体质量较对照组、损伤组、低外泌体组明显增加，这可能意味着人硬膜外脂肪间充质干细胞外泌体会带来肥胖不良反应。

陈浩贤等^[33] 发现，脂肪间充质干细胞外泌体可以抑制脊髓损伤大鼠损伤组织中 M1 型小胶质细胞/巨噬细胞标志物白细胞介素 1β、白细胞介素 6、诱导型一氧化氮合酶等促炎因子的表达，促进 M2 型小胶质细胞/巨噬细胞标志物白细胞介素 4、白细胞介素 10 及 Arg-1 等抗炎因子的表达，并下调和胶质瘢痕形成密切相关的胶质纤维酸性蛋白、Vimentin 蛋白水平。研究证明脂肪间充质干细胞外泌体通过调节小胶质细胞/巨噬细胞表型、抑制胶质瘢痕形成来改善脊髓损伤大鼠的运动能力。SHAO 等^[34] 研究了脂肪间充质干细胞在缺氧状态下分泌的外泌体对脊髓损伤的治疗效果，高通量测序显示 LncGm37494 在缺氧外泌体中的表达明显高于正常外泌体，LncGm37494 过表达下调 miR-130b-3p 的表达进而上调 PPARγ 的表达，从而使小胶

质细胞由 M1 型极化至 M2 型。来自过表达脂肪间充质干细胞的 IncGm37494 的外泌体显示出与缺氧状态下培养的脂肪间充质干细胞外泌体相似的治疗效果。该研究证明缺氧状态下培养的脂肪间充质干细胞外泌体比正常培养的脂肪间充质干细胞外泌体在将小胶质细胞 / 巨噬细胞从 M1 型极化为 M2 型、抑制炎症因子表达以及促进功能恢复方面更为有效, 可能是过表达的 LncGm37494 通过 miR-130b-3p/PPAR γ 途径发挥作用。该研究在大鼠脊髓损伤模型建立后立即由尾静脉给药, 治疗窗口短, 在临床中几乎不存在给脊髓损伤患者在损伤后立即给药的条件, 在未来研究中应进一步延长治疗窗口, 增加临床应用可能。

脂肪间充质干细胞外泌体在脊髓损伤后调控小胶质细胞 / 巨噬细胞表型, 下调促炎因子表达、上调抗炎因子表达, 改善损伤区炎症微环境, 减少瘢痕组织, 为神经修复和再生提供可能, 并改善脊髓损伤大鼠的运动功能。需要注意的是脂肪间充质干细胞外泌体还可能存在肥胖等不良反应, 但这需要进一步验证。目前开展的几项研究都是临床前研究, 且治疗窗口短, 与临床实际不符, 在未来的研究中应将治疗窗口延长至 24-48 h, 为临床转化做准备。除了 IncGm37494 之外, 脂肪间充质干细胞外泌体中还有哪些生物成分参与了小胶质细胞 / 巨噬细胞的极化, 以及脂肪间充质干细胞外泌体下调胶质纤维酸性蛋白阳性 + 星形胶质细胞的分子机制也是未来需要研究的内容。

2.3.2 脂肪间充质干细胞外泌体抑制神经元炎症和凋亡 神经元凋亡是脊髓损伤后的主要病理事件, 抑制神经元凋亡对脊髓损伤的恢复至关重要。脂肪间充质干细胞外泌体中含有丰富的生物成分, 可通过多通路来抑制脊髓损伤后神经元的炎症和凋亡。

HUANG 等^[35]发现低氧条件下 miR-511-3p 过表达的脂肪间充质干细胞外泌体下调了脂多糖损伤的 PC12 细胞中凋亡相关基因 Bax、Caspase3 表达水平, 上调了抗凋亡基因 Bcl-2 的表达, 抑制 TRAF6 从而减少炎症相关因子诱导型一氧化氮合酶、环氧合酶 2、肿瘤坏死因子 α 、白细胞介素 6 和白细胞介素 1 β 的表达, 缓解脂多糖诱导的 PC12 细胞凋亡和炎症。鞘氨醇-1-磷酸 (tyrosine protein kinase C, TrkC)/S1P 受体 3(S1PR3) 可能是脊髓损伤临床治疗的一个有希望的靶点, 研究发现 S1P 可诱导核转录因子 κ B p65 的磷酸化和核转录因子 κ B 核转位的激活, 从而促进炎症反应^[36]。脂多糖处理显著增加 S1PR3 浓度, 但 miR-511-3p 治疗减弱了这种作用, 将 miR-511-3p 模拟物静脉注射到脊髓损伤模型大鼠中, 损伤组织炎症减轻并且大鼠神经功能部分恢复。

因此, 脂肪间充质干细胞来源的过表达 miR-511-3p 的外泌体通过 TRAF6 和 S1P/核转录因子 κ B 途径减轻神经炎症、抑制神经元凋亡、促进神经功能恢复。LIANG 等^[37]在体外建立神经元-葡萄糖剥夺和再灌注模型, 以模拟脊髓损伤后的缺氧环境。研究发现缺氧条件下脂肪间充质干细胞外泌体显著减少了神经元凋亡。在大鼠脊髓损伤模型中发现脂肪间充质干细胞外泌体可以显著减少损伤部位的空洞体积, 促进大鼠后肢的功能恢复。通过 RNA 测序分析及免疫荧光和蛋白质印迹检测, 证明脂肪间充质干细胞外泌体中 miR-499a-5p 通过靶向 JNK3 调节 JNK3/c-jun 凋亡信号通路。该研究表明缺氧条件下脂肪间充质干细胞外泌体通过递送 miR-499a-5p 抑制 JNK3/c-jun 凋亡信号通路, 从而减少脊髓损伤后神经元凋亡。需要注意的是, 缺氧条件下脂肪间充质干细胞外泌体中表达量改变的生物成分很多, 不能排除其他生物成分同样对神经元起到抗凋亡作用。

脂肪间充质干细胞外泌体向损伤区递送 miR-511-3p、miR-499a-5p 等生物成分, 通过 TRAF6 信号通路、S1P/S1PR3/核转录因子 κ B 信号通路和 JNK3/c-jun 凋亡信号通路发挥抗神经炎症

和凋亡的作用, 并促进神经元增殖和存活。但已开展的实验以细胞实验为主, 在动物或者临床试验中, 脂肪间充质干细胞外泌体及其生物活性成分在复杂的体内环境中, 能否如同细胞实验一样顺利被神经元细胞摄取从而发挥抗凋亡作用或直接被其他类型细胞摄取从而发挥有利或有害作用并不得知。进一步开展动物实验并逐步向临床试验过渡是接下来应关注的方向。

2.3.3 脂肪间充质干细胞外泌体促进神经修复再生 脊髓损伤后神经有效再生并促进功能恢复是治疗的终极目标, 过表达 miR-133b 的脂肪间充质干细胞外泌体可通过多个途径发挥神经再生作用。REN 等^[38]研究发现 miR-133b 转染脂肪间充质干细胞后, 干细胞所分泌的外泌体中 miR-133b 显著上升。脊髓损伤后, 脊髓组织中的 RhoA 显著增高, 富集 miR-133b 的脂肪间充质干细胞外泌体降低了损伤组织中 RhoA 的水平, 促进损伤部位轴突再生^[39]。此外, 富集 miR-133b 的脂肪间充质干细胞外泌体还显著提高了损伤脊髓中促神经再生相关蛋白的水平, 包括了神经丝 (NF)、生长相关蛋白 43(GAP43)、胶质纤维酸性蛋白 (GFAP) 和髓鞘碱性蛋白 (MBP)。cAMP-CREB-BDNF 信号通路具有促进轴突再生、修复受损神经细胞、恢复神经功能的作用^[40], 过表达 miR-133b 的脂肪间充质干细胞外泌体提高了磷酸化 CREB(p-CREB) 的水平, 可能是通过 cAMP-CREB-BDNF 通路促进了神经再生, 但这需要进一步验证。需要注意的是, 该实验并未从行为学角度去评价脊髓损伤大鼠的功能恢复, 过表达 miR-133b 的脂肪间充质干细胞外泌体的具体治疗效果如何并不可知。此外, 过表达 miR-133b 的脂肪间充质干细胞外泌体还提高了磷酸化 STAT3(p-STAT3) 的水平, 但以往研究表明, STAT3 磷酸化水平增加不利于神经修复, 抑制 p-STAT3 水平可以起到神经保护作用^[41], 这似乎暗示过表达 miR-133b 的脂肪间充质干细胞外泌体在神经保护中具有双面性。调节性 T 细胞 (Treg) 可分泌白介素 10 抑制炎症反应和神经元损伤。叉头盒蛋白 3(FOXP3) 是 Treg 细胞的标志蛋白, FOXP3 下调会抑制 Treg 表达, 进而导致神经元的炎症损伤。也有研究发现, 抑制 miR-133b 的表达可上调 FOXP3 蛋白, 减弱黑质的炎症反应, 抑制神经元凋亡, 发挥神经保护作用^[42]。因此, miR-133b 在神经再生中具体扮演什么角色还有待进一步研究。

脂肪间充质干细胞外泌体治疗脊髓损伤, 相关研究结果汇总见表 2。脂肪间充质干细胞外泌体治疗脊髓损伤机制见图 4。

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 创伤性中枢神经系统损伤对患者造成了毁灭性打击, 当前的主要治疗手段无论是手术治疗、物理治疗、药物治疗还是康复治疗都不能取得理想的疗效。脂肪间充质干细胞外泌体在创伤性中枢神经系统损伤的治疗中表现出了巨大的潜力, 虽然存在一定问题, 但仍有望成为创伤性中枢神经系统损伤新的治疗手段。

在创伤性脑损伤治疗中, 脂肪间充质干细胞外泌体调控小胶质细胞 / 巨噬细胞的表型, 抑制促炎的 M1 型表达, 促进抗炎的 M2 型表达, 改善损伤区域的微环境, 发挥抑制神经炎症、保护神经功能的作用。但脂肪间充质干细胞外泌体进入小胶质细胞 / 巨噬细胞的具体途径目前仍不明晰, 并且脂肪间充质干细胞外泌体对小胶质细胞 / 巨噬细胞的吞噬能力是否产生影响、对神经元和其他神经胶质细胞是否产生影响目前知之甚少。脂肪间充质干细胞外泌体中的 MALAT1 在创伤性脑损伤领域以大脑和脾脏为靶器官, 在神经元细胞和小胶质细胞中发挥作用, 通过介导炎症反应、氧化应激、NT3-TrkC 信号通路、MAPK 信号通路和 SRSF2-PKC δ -Bcl2 信号通路发挥抑制神经炎症和神经

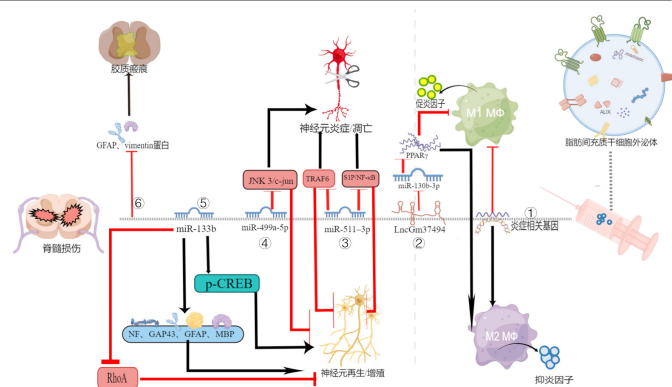
表 2 | 脂肪间充质干细胞外泌体治疗脊髓损伤

第一作者	发表年份	实验模型	实验结果	实验结论
SUNG ^[32]	2022	脊髓损伤大鼠	大鼠运动功能得到改善； Iba-1 下调； 阿米巴样小胶质细胞 / 巨噬细胞减少； IL-1β、IL-2、TNF-α 下调； IL-10、IL-13 上调； 免疫和炎症相关基因发生变化	人硬膜外 ADSC-Exo 调节免疫和炎症相关基因，抑制小胶质细胞 / 巨噬细胞 M1 表型，改善损伤环境炎症
陈浩贤 ^[33]	2022	脊髓损伤大鼠	大鼠后肢运动功能改善； IL-1β、IL-6、iNOS 下调； IL-4、IL-10、Arg-1 上调； GFAP 下调	ADSC-Exo 促进小胶质细胞 / 巨噬细胞活化为 M2 型，下调瘢痕相关蛋白，抑制脊髓损伤炎症和瘢痕形成
SHAO ^[34]	2020	脊髓损伤大鼠 BV-2 细胞	大鼠运动功能得到改善 LncGm37494 过表达； IL-1β、IL-6、TNF-α 下调； iNOS、Iba-1 下调，Arg1 上调； miR-130b-3p 下调，PPARγ 上调；	ADSC-Exos 递送 LncGm37494 抑制 miR-130b-3p 进而促进 PPARγ 表达将小胶质细胞 / 巨噬细胞从 M1 转化到 M2 型，抑制炎症，改善运动功能
HUANG ^[35]	2022	PC12 细胞； 脊髓损伤大鼠	大鼠运动功能改善 Bax、Caspase3 表达下调， Bcl-2 表达上调； TRAF6 下调，iNOS、COX-2、 TNF-α、IL-6 和 IL-1 表达下调； IκBα 和 p65 磷酸化水平下调	低氧处理的 ADSC-Exo 递送 miR-5113p 靶向 TRAF6/S1P/NF-κB 途径抑制炎症和神经凋亡，促进神经再生，改善脊髓损伤
LIANG ^[37]	2022	PC12 细胞； SHS-Y5Y 细胞； 脊髓损伤大鼠	神经元存活率增加； 大鼠脊髓空洞减少，后肢功能改善； JNK3、p-c-jun、裂解的胱天蛋白酶 3 表达下调	ADSC-Exo 通过递送 miR-499a-5p 靶向 JNK 3/c-jun 凋亡信号通路抑制神经元死亡
REN ^[38]	2019	脊髓损伤大鼠	miR-133b 过表达； RhoA 下调； NF、GAP43、GFAP、MBP、p-CREB 上调	过表达 miR-133b 的 ADSC-Exo 通过 CREB-、NF、GAP43、GFAP 和 MBP 相关途径促进 SCI 神经再生

表注：ADSC-Exo 为脂肪间充质干细胞外泌体；Iba-1 为小胶质细胞标记物；IL-1β 为白细胞介素 1β；IL-2 为白细胞介素 2；TNF-α 为肿瘤坏死因子 α；IL-10 为白细胞介素 10；IL-13 为白细胞介素 13；IL-6 为白细胞介素 6；iNOS 为诱导型一氧化氮合酶；IL-4 为白细胞介素 4；Arg-1 为精氨酸酶 1；GFAP 为胶质纤维酸性蛋白；LncGm37494 为长链非编码 RNA Gm37494；miR-130b-3p 为微小 RNA 130b-3p；PPARγ 为过氧化物酶体增殖物激活受体 γ；Bax 为 Bcl-2 相关 X 基因；Caspase3 为半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶 3；Bcl-2 为 B 淋巴细胞瘤 2 基因；TRAF6 为肿瘤坏死因子受体相关因子 6；COX-2 为环氧合酶 2；IL-1 为白细胞介素 1；IκBα 为蛋白 κB-α；p65 为核因子 κB p65；miR-499a-5p 为微小 RNA 499a-5p；JNK 3 为氨基末端激酶 3；p-c-jun 为磷酸化氨基末端激酶；miR-133b 为微小 RNA 133b；RhoA 为 Ras 同源基因家族成员 A；NF 为神经丝蛋白；GAP43 为生长相关蛋白 43；MBP 为髓鞘碱性蛋白；p-CREB 为磷酸化环腺苷酸应答元件结合蛋白

细胞凋亡、增强神经元存活和增殖的作用。但目前对于 MALAT1 的研究全部集中在细胞研究和动物研究，距离临床转化仍有很长的路要走。MALAT1 的给药途径包括了侧脑室给药、鼻内给药、静脉给药等，具体哪种给药方式最佳目前并无定论。MALAT1 的最佳给药时间也是研究的空白。此外，MALAT1 的应用可能具有一定的风险，或许会加重创伤性脑损伤患者的脑血管损伤，尤其是对糖尿病患者而言。

在脊髓损伤的治疗中，脂肪间充质干细胞外泌体在脊髓损伤后调控小胶质细胞 / 巨噬细胞表型，抑制损伤区炎症，减少瘢痕组织，改善脊髓损伤大鼠的运动功能。但目前开展的几项研究都是临床前研究，且治疗窗口短，不符合临床实际。脂肪间充质干细胞外泌体向损伤区递送 miR-511-3p、miR-499a-5p 等



图注：①为 ADSC-Exo 调节免疫和炎症相关基因，抑制小胶质细胞 / 巨噬细胞 M1 表型，改善损伤环境炎症；②为 ADSC-Exos 递送 LncGm37494 抑制 miR-130b-3p 进而促进 PPARγ 表达，抑制 M1 小胶质细胞 / 巨噬细胞活化，促进 M2 型表达，抑制损伤区炎症；③为 ADSC-Exo 递送 miR-511-3p 靶向 TRAF6/S1P/NF-κB 途径抑制炎症和神经凋亡，促进神经再生；④为 ADSC-Exo 通过递送 miR-499a-5p 靶向 JNK 3/c-jun 凋亡信号通路抑制神经元死亡，促进神经再生；⑤为过表达 miR-133b 的 ADSC-Exo 通过抑制 RhoA，促进 CREB、NF、GAP43、GFAP 和 MBP 表达促进 SCI 神经再生；⑥为 ADSC-Exo 抑制 GFAP、vimentin 蛋白表达减轻脊髓损伤胶质瘢痕。GFAP 为胶质纤维酸性蛋白；vimentin 为波形蛋白；LncGm37494 为长链非编码 RNA Gm37494；miR-130b-3p 为微小 RNA 130b-3p；PPARγ 为过氧化物酶体增殖物激活受体 γ；TRAF6 为肿瘤坏死因子受体相关因子 6；miR-499a-5p 为微小 RNA 499a-5p；miR-133b 为微小 RNA 133b；JNK 3 为氨基末端激酶 3；c-jun 为氨基末端激酶；RhoA 为 Ras 同源基因家族成员 A；NF 为神经丝；GAP43 为生长相关蛋白 43；MBP 为髓鞘碱性蛋白；p-CREB 为磷酸化环腺苷酸应答元件结合蛋白

图 4 | 脂肪间充质干细胞外泌体治疗脊髓损伤机制图

生物成分，通过 TRAF6 信号通路、S1P/S1PR3/核转录因子 κB 信号通路和 JNK3/c-jun 凋亡信号通路发挥抗神经炎症和凋亡的作用，促进神经元增殖和存活。但这些基本都是在细胞实验中得出的结论，且细胞实验里外泌体只与神经细胞共培养，在动物或者临床试验中，脂肪间充质干细胞外泌体及其生物活性成分在复杂的体内环境中还能否顺利被神经细胞摄取从而发挥治疗作用并不得知。过表达 miR-133b 的脂肪间充质干细胞外泌体可能通过 cAMP-CREB-BDNF、神经丝蛋白、生长相关蛋白 43，胶质纤维酸性蛋白和髓鞘碱性蛋白相关的信号通路促进脊髓损伤动物神经功能的恢复。但过表达 miR-133b 的脂肪间充质干细胞外泌体还提高了磷酸化 STAT3(p-STAT3) 的水平，这并不利于神经保护，同样也有研究发现，抑制 miR-133b 的表达可上调 FOXP3 蛋白，减弱黑质的炎症反应，抑制神经元凋亡，发挥神经保护功能。因此，miR-133b 在神经再生中具体扮演什么角色还有待进一步研究。

3.2 该篇综述区别于他篇特点 作者对脂肪间充质干细胞外泌体治疗创伤性中枢神经系统损伤做一综述，归纳总结脂肪间充质干细胞外泌体在创伤性中枢神经系统损伤领域的治疗作用和治疗机制，评价这些疗法的优势以及局限性，便于其他研究者快速了解该领域并为未来的研究提供了作者的建议。

3.3 综述的局限性 该篇综述总结了脂肪间充质干细胞外泌体治疗创伤性中枢神经系统损伤的研究进展，但所有的研究都是临床前研究，距离临床应用还有很长的路要走。

3.4 综述的重要意义 该篇综述重点阐述了在目前研究背景下，应用脂肪间充质干细胞外泌体治疗创伤性中枢神经系统损伤的各种方案，并指出了各方案存在的局限性，探讨了下一步可能的研究方向，为未来的研究进行了展望。

3.5 课题专家组对未来的意见 已有的研究证实脂肪间充质干细胞外泌体在创伤性中枢神经系统损伤中具有巨大的应用潜力，但仍存在以下问题需要进一步解决。

(1) 目前的实验均为临床前研究，大量实验还停留在细胞实验阶段，距离临床转化还很遥远，应当逐步向临床试验过渡使研究成果落地，但这需要大量的临床前研究作为支撑。在临床前研究中，应当适当延长治疗窗口时间，如在损伤后 24-48 h 给予治疗，使其更符合临床实际。

(2) 尽管以往认为脂肪间充质干细胞外泌体非常安全，但仍需要重视其潜在的不良副作用，已有实验发现高密度人硬膜外脂肪间充质干细胞外泌体外泌体可能具有导致肥胖的风险，且过表达 MALAT1 的脂肪间充质干细胞外泌体可能会加重创伤性脑损伤患者的脑血管损伤，尤其是对糖尿病患者而言。脂肪间充质干细胞外泌体剂量过高、内容物的过表达可能会导致一定的不良副作用，且对于某些本身具有基础疾病患者而言其安全性可能会大打折扣。因此脂肪间充质干细胞外泌体的不良副作用和安全性是值得研究的一个方向。

(3) 以往认为脂肪间充质干细胞外泌体静脉给药会导致药物靶向损伤区的数量下降，鼻内给药、侧脑室给药、损伤局部直接给药都旨在提高药物的应用效率，但这些给药方式可能会使药物绕过重要的靶器官（如脾脏），反而可能降低综合疗效。可能不同类型、不同程度、不同阶段的创伤性中枢神经系统损伤的最佳给药方式不尽相同，对于脂肪间充质干细胞外泌体给药方式需要进一步研究。

(4) 目前发现脂肪间充质干细胞外泌体主要是被小胶质细胞/巨噬细胞和神经元细胞摄取，脂肪间充质干细胞外泌体进入这些细胞的机制需要进一步研究。脂肪间充质干细胞外泌体被靶细胞摄取的机制如果明确，可能会提高脂肪间充质干细胞外泌体的靶向效率，也可能使脂肪间充质干细胞外泌体进入原本无法进入的细胞，扩大治疗范围。

(5) 对于神经元细胞而言，脂肪间充质干细胞外泌体越早给药可能会越早发挥抑制凋亡、促进再生的作用，但对于小胶质细胞/巨噬细胞而言，过早的给药可能会抑制小胶质细胞/巨噬细胞清除微环境中的损伤碎片反而不利于微环境的改善。因此，对脂肪间充质干细胞外泌体进行修饰，使其在某一时机只被“最适合”的细胞特异性摄取（如早期给药只被神经元细胞特异性摄取，而不被小胶质细胞/巨噬细胞摄取）将是一项很有趣也很有挑战性的研究，但这无疑将极大地提高脂肪间充质干细胞外泌体的治疗效果。

(6) 目前对脂肪间充质干细胞外泌体的研究还不够深入，多数研究停留在整个外泌体囊泡层面，对其内部丰富的生物成分缺乏进一步研究，在未来应顺着此方向深入挖掘。

(7) 关于该领域脂肪间充质干细胞外泌体的治疗机制目前主要集中在炎症抑制方面，研究最多的是对小胶质细胞/巨噬细胞极化方向的调控。不多的几项研究揭示了脂肪间充质干细胞外泌体在抑制神经元凋亡、促进神经再生方面具有一定的作用，未来应继续深入研究脂肪间充质干细胞外泌体在本领域的治疗机制。

(8) 脂肪间充质干细胞外泌体的取材问题。SUNG 等^[32] 从人硬膜外脂肪组织衍生的脂肪间充质干细胞中分离出外泌体，将其用于脊髓损伤大鼠的治疗，虽然该实验并未与其他部位来源的脂肪组织提取出的外泌体进行对比，不能证明硬膜外脂肪组织中提取的外泌体治疗效果更好，但是否从靠近病变区域的脂肪组织中提取的外泌体治疗效果更优，也是未来可以研究的方向。

(9) 不同的预处理方式和不同的培养环境（如缺氧）会影响外泌体生物成分的表达，如何对特定的疾病选择过表达特定内容物的外泌体以达到最优的治疗效果同样是值得研究的问题。

(10) 外泌体的标准化生产问题，包括了取材、培养、提取、扩增以及储存，如何确保某一型号不同批次甚至不同生产商的外泌体具有相同的、稳定的生物效能是其走向临床转化和商业应用的巨大挑战。

致谢：感谢 figdraw 科研绘图网站为文章提供图片素材。

作者贡献：文章设计、数据分析及撰写论文者为刘闯。资料收集者为刘闯、周禾山和张驰。通讯作者审核。

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。

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。

版权转让：文章出版前全体作者与编辑部签署了文章版权转让协议。

出版规范：文章撰写遵守了《系统综述和荟萃分析报告规范》(PRISMA 声明)；出版前经过专业反剽窃文献检测系统进行 3 次文字和图表查重；经小同行外审专家双盲审稿，同行评议认为符合期刊发稿宗旨。

4 参考文献 References

- [1] MICHINAGA S, KOYAMA Y. Pathophysiological responses and roles of astrocytes in traumatic brain injury. *Int J Mol Sci.* 2021;22(12):6418.
- [2] GOLESTANI A, SHOBEIRI P, SADEGHI-NAINI M, et al. Epidemiology of traumatic spinal cord injury in developing countries from 2009 to 2020: a systematic review and meta-analysis. *Neuroepidemiology.* 2022;1-21.
- [3] XU L, YE X, WANG Q, et al. T-cell infiltration, contribution and regulation in the central nervous system post-traumatic injury. *Cell Proliferat.* 2021;54(8):e13092.
- [4] COURTINE G, SOFRONIEW MV. Spinal cord repair: advances in biology and technology. *Nat Med.* 2019; 25(6):898-908.
- [5] RAMOS-CEJUDO J, WISNIEWSKI T, MARMAR C, et al. Traumatic brain injury and Alzheimer's disease: the cerebrovascular link. *Ebiomedicine.* 2018;28:21-30.
- [6] VANITALLIE TB. Traumatic brain injury (TBI) in collision sports: possible mechanisms of transformation into chronic traumatic encephalopathy (CTE). *Metabolism.* 2019;100:153943.
- [7] DELIC V, BECK KD, PANG K CH, et al. Biological links between traumatic brain injury and Parkinson's disease. *Acta Neuropathol Com.* 2020; 8(1):45.
- [8] AERTKER BM, BEDI S, COX CS. Strategies for CNS repair following TBI. *Exp Neurol.* 2016;275 Pt3:411-426.
- [9] 黄梁江, 陈红. 干细胞的临床研究与转化 [J]. *内科急危重症杂志*, 2020,26(2):104-108.
- [10] 曾贵荣, 杨柳, 罗桂芳, 等. 间充质干细胞治疗的生物安全研究进展 [J]. *中国比较医学杂志*, 2020,30(11):140-145.
- [11] LI Y, CHENG Q, HU G, et al. Extracellular vesicles in mesenchymal stromal cells: a novel therapeutic strategy for stroke (Review). *Exp Ther Med.* 2018;15(5):4067-4079.
- [12] H RASHED M, BAYRAKTAR EK, HELAL G, et al. Exosomes: from garbage bins to promising therapeutic targets. *Int J Mol Sci.* 2017;18(3):538.

- [13] 王雪, 刘阳, 徐剑峰, 等. 脐带间充质干细胞来源外泌体对脑出血模型小鼠海马神经元的保护作用 [J]. 中国组织工程研究, 2022, 26(31):4928-4934.
- [14] MUKAI T, SEI K, NAGAMURA-INOUE T. Mesenchymal stromal cells: cell-based therapies for traumatic central nervous system injuries. *J Integr Neurosci*. 2022;21(2):44.
- [15] WILLING AE, DAS M, HOWELL M, et al. Potential of mesenchymal stem cells alone, or in combination, to treat traumatic brain injury. *Cns Neurosci Ther*. 2020;26(6):616-627.
- [16] 刘溪林, 周梦良, 江晓春, 等. 创伤性脑损伤后认知功能障碍的研究进展 [J]. 创伤外科杂志, 2020, 22(10):791-792.
- [17] LADAK AA, ENAM SA, IBRAHIM MT. A review of the molecular mechanisms of traumatic brain injury. *World Neurosurg*. 2019;131:126-132.
- [18] NG SY, LEE AY W. Traumatic brain injuries: pathophysiology and potential therapeutic targets. *Front Cell Neurosci*. 2019;13:528.
- [19] 冯世庆. 脊髓损伤基础研究的现状和展望 [J]. 中华实验外科杂志, 2021, 38(7):1193-1198.
- [20] 孙秀敏, 庞卯, 冯丰, 等. 功能高分子材料促进脊髓损伤后再生修复的研究进展 [J]. 功能高分子学报, 2021, 34(4):301-319.
- [21] 陶新, 徐逸, 宋志文, 等. Hippo 信号通路参与脊髓损伤的调控 [J]. 中国组织工程研究, 2023, 27(4):619-625.
- [22] 吴林, 张斌, 王倩梅, 等. 脂肪间充质干细胞来源外泌体对 M1 型巨噬细胞向 M2 型转化的影响 [J]. 解放军医药杂志, 2019, 31(3):1-7.
- [23] HAO X, GUO Y, WANG R, et al. Exosomes from adipose-derived mesenchymal stem cells promote survival of fat grafts by regulating macrophage polarization via let-7c. *Acta Bioch Bioph Sin*. 2021;53(4):501-510.
- [24] 赵汇, 尚倩雯, 白杨, 等. ADSC 来源外泌体的分离鉴定及在诱导 M2 巨噬细胞极化、抑制巨噬细胞炎症中的作用研究 [C]. // 2016 第十一届全国免疫学学术大会论文集, 2016:171-172.
- [25] FENG N, JIA Y, HUANG X. Exosomes from adipose-derived stem cells alleviate neural injury caused by microglia activation via suppressing NF- κ B and MAPK pathway. *J Neuroimmunol*. 2019;334:576996.
- [26] 李红蓉, 孙颖, 常成成, 等. Notch 信号通路调节巨噬细胞极化研究进展 [J]. 医学研究生学报, 2015, 28(12):1316-1321.
- [27] CHEN Y, LI J, MA B, et al. MSC-derived exosomes promote recovery from traumatic brain injury via microglia/macrophages in rat. *Aging*. 2020;12(18):18274-18296.
- [28] MOSS LD, SODE D, PATEL R, et al. Intranasal delivery of exosomes from human adipose derived stem cells at forty-eight hours post injury reduces motor and cognitive impairments following traumatic brain injury. *Neurochem Int*. 2021;150:105173.
- [29] PATEL NA, MOSS LD, LEE J, et al. Long noncoding RNA MALAT1 in exosomes drives regenerative function and modulates inflammation-linked networks following traumatic brain injury. *J Neuroinflamm*. 2018;15(1):204.
- [30] EL BASSIT G, PATEL RS, CARTER G, et al. MALAT1 in human adipose stem cells modulates survival and alternative splicing of PKC δ II in HT22 cells. *Endocrinology*. 2016;158(1):1819-2016.
- [31] CHE F, HAN Y, FU J, et al. LncRNA MALAT1 induced by hyperglycemia promotes microvascular endothelial cell apoptosis through activation of the miR-7641/TPR axis to exacerbate neurologic damage caused by cerebral small vessel disease. *Ann Transl Med*. 2021;9(24):1762.
- [32] SUNG SE, SEO MS, KIM YI, et al. Human epidural AD-MSC exosomes improve function recovery after spinal cord injury in rats. *Biomedicines*. 2022;10(3):678.
- [33] 陈浩贤, 严利军, 安永刚, 等. 脂肪间充质干细胞来源外泌体对脊髓损伤大鼠巨噬细胞极化及胶质瘢痕形成的影响 [J]. 四川医学, 2022, 43(4):333-338.
- [34] SHAO M, JIN M, XU S, et al. Exosomes from long noncoding RNA-Gm37494-ADSCs repair spinal cord injury via shifting microglial M1/M2 polarization. *Inflammation*. 2020;43(4):1536-1547.
- [35] HUANG T, JIA Z, FANG L, et al. Extracellular vesicle-derived miR-511-3p from hypoxia preconditioned adipose mesenchymal stem cells ameliorates spinal cord injury through the TRAF6/S1P axis. *Brain Res Bull*. 2022;180:73-85.
- [36] ZHENG Z, ZENG Y, REN K, et al. S1P promotes inflammation-induced tube formation by HLECs via the S1PR1/NF- κ B pathway. *Int Immunopharmacol*. 2019;66:224-235.
- [37] LIANG Y, WU JH, ZHU JH, et al. Exosomes secreted by hypoxia-preconditioned adipose-derived mesenchymal stem cells reduce neuronal apoptosis in rats with spinal cord injury. *J Neurotrauma*. 2022;39(9-10):701-714.
- [38] REN ZW, ZHOU JG, XIONG ZK, et al. Effect of exosomes derived from MiR-133b-modified ADSCs on the recovery of neurological function after SCI. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2019;23(1):52-60.
- [39] 梅运运, 张建军, 王东. 高压氧联合 NgR 基因沉默骨髓间充质干细胞移植治疗大鼠脊髓损伤 [J]. 中国组织工程研究, 2022, 26(1):12-19.
- [40] 喻斌, 阮鸣, 许立, 等. 川芎注射液通过 cAMP-CREB-BDNF 通路改善卒中后抑郁大鼠神经功能 [J]. 中国药理学通报, 2022(8):1246-1251.
- [41] 王煜, 赵岚, 阚伯红, 等. 针刺对 SAMP8 小鼠神经干细胞活性、STAT3 蛋白水平的影响及作用机制 [J]. 中国老年学杂志, 2022, 42(9):2196-2201.
- [42] 颜博, 岳宗伟, 李华坚, 等. 抑制 miR-133b 通过靶向 FOXP3 对 PD 大鼠调节性 T 淋巴细胞、炎症反应和神经元凋亡的影响 [J]. 免疫学杂志, 2022, 38(1):59-66.

(责任编辑: WJ, ZN, ZH)