

外泌体在阿尔兹海默病发生发展及其治疗中的作用

丁燕飞¹ 凌云翔¹ 蔡婕² 玉素江·图荪托合提¹ 徐淑君^{1*}

(¹宁波大学医学院, 浙江省病理生理学技术研究重点实验室, 宁波 315211; ²宁波市妇女儿童医院, 宁波 315000)

摘要 阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)是一种记忆和认知功能进行性丧失的神经退行性疾病, 目前仍缺乏对其发病机制的理解以及有效治疗手段。受损神经细胞衍生的外泌体可以将miRNA、 β 淀粉样蛋白(amyloid- β , A β)、淀粉样前体蛋白(amyloid precursor protein, APP)等转移到邻近神经元加速周边神经元的死亡; 胶质细胞通过外泌体调节A β 产生、寡聚化和A β 降解; 间充质干细胞(mesenchymal stem cell, MSCs)通过外泌体释放脑啡肽酶(neprilysin, NEP)、miRNA、鞘脂激活蛋白原, 从而起到抑制神经炎症、促进A β 降解、改善AD的作用。外泌体的研究是AD研究的热点之一, 该文综述了外泌体的形成以及其在AD发生、发展和治疗中的作用。

关键词 阿尔茨海默病; 外泌体; miRNA; β -淀粉样蛋白; 淀粉样前体蛋白

The Role of Exosomes in the Progress and Treatment of Alzheimer's Disease

Ding Yanfei¹, Ling Yunxiang¹, Cai Jie², Tusuntohti Yusupjan¹, Xu Shujun^{1*}

(¹School of Medicine, Ningbo University, Zhejiang Provincial Key Laboratory of Pathophysiology, Ningbo 315211, China;

²Ningbo Women and Children's Hospital, Ningbo 315000, China)

Abstract Alzheimer's disease (AD) is a neurodegenerative disease with progressive decrease in memory and cognitive function. Until now, the mechanism of its pathogenesis is still unclear and the effective treatment is still lack. Damaged neuronal cell-derived exosomes transfer miRNA, amyloid- β (A β), amyloid precursor protein (APP) to adjacent neurons which accelerate the death of nearby neurons. Glial cell-derived exosomes regulate the production, oligomerization and degradation of A β . Mesenchymal Stem Cells release neprilysin, miRNA, neurotrophic factors through exosomes. These factors inhibit neuroinflammation, promote the degradation of A β and then prevent the progress of AD. At present, the study of exosomes is one of the hotspots of AD researches. This paper reviews the formation of exosomes and its underlying role in the progress and treatment of Alzheimer's disease.

Keywords Alzheimer's disease; exosome; miRNA; amyloid- β ; amyloid precursor protein

阿尔兹海默病(Alzheimer's disease, AD)是一种记忆和认知功能进行性丧失的不可逆的神经障碍, 其典型病理特征是神经纤维缠结(neurofibrillary

tangles, NFTs)和以 β 淀粉样蛋白(amyloid- β , A β)为核心的老年斑在脑内聚集^[1]。AD患者的预期寿命较短, 诊断后通常为3至10年, 不到3%的人生存超过

收稿日期: 2019-03-28 接受日期: 2019-05-13

国家自然科学基金(批准号: 81771166)、浙江省自然科学基金(批准号: LY16H090001)、宁波市自然科学基金(批准号: 2015A610211、2015A610199)、宁波市生命健康科技创新团队-重大精神疾病转化医学(批准号: 2015C110026)和宁波大学王宽诚幸福基金资助和浙江省病理生理学技术研究重点实验室开放基金(批准号: 201813)资助的课题

*通讯作者。Tel: 0574-87609594, E-mail: xushujun@nbu.edu.cn

Received: March 28, 2019 Accepted: May 13, 2019

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.81771166), the Natural Science Foundation of Zhejiang Province (Grant No.LY16H090001), the Natural Science Foundation of Ningbo (Grant No.2015A610211, 2015A610199), the Ningbo municipal innovation team of life science and health (Grant No.2015C110026), the K.C.Wong Magna Fund in Ningbo University and the Zhejiang Provincial Key Laboratory of Pathophysiology(Grant No.201813)

*Corresponding author. Tel: +86-574-87609594, E-mail: xushujun@nbu.edu.cn

网络出版时间: 2019-07-16 17:20:12 URL: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20190716.1720.036.html>

14年^[2]。随着人口老龄化, AD的发病人数逐年上升, 然而AD的发病机理仍然不明, 目前仍然缺乏有效治疗手段。

研究发现, 淀粉样蛋白斑块中有外泌体的异常积聚^[3]。外泌体是具有磷脂双分子层膜结构的细胞外囊泡, 直径范围为30~100 nm^[4]。外泌体的内容物有多样化的特点, 包括蛋白质、脂质、非编码RNA和其它分子, 其内容物与其亲本细胞密切相关, 外泌体可以将这些物质转运至邻近的或远处的细胞中^[5]。外泌体通过与膜融合或内吞作用被受体细胞摄取^[6-7]。在外泌体的作用下, 受体细胞会改变自身的蛋白质、脂质和核酸的水平^[8]。因此, 外泌体的存在表明细胞之间的信息传递可以不通过细胞与细胞的直接接触, 这是一种细胞间通讯的新形式。有趣的是, 已经证明神经系统的许多细胞可以以细胞外囊泡的形式释放外泌体。外泌体在维持髓鞘和细胞间通信等方面有重要作用^[9-10]。在AD中, 一方面, 受损的神经细胞衍生的外泌体可以将淀粉样前体蛋白(amyloid precursor protein, APP)、 γ/β 分泌酶、A β 肽、C末端APP和tau蛋白等转移到邻近神经元, 从而导致AD传播^[11]。另一方面, 外泌体在促进A β 清除方面也有明显的积极作用。例如外泌体分泌的因子可以通过内吞途径将与之相结合的A β 转运至小胶质细胞的溶酶体中, 并在小胶质细胞的溶酶体中降解^[1]。此外间充质干细胞(mesenchymal stem cell, MSCs)可以通过外泌体释放脑啡肽酶(neprilysin, NEP)、miRNA、鞘脂激活蛋白原等起到改善AD的作用。因此, 外泌体在AD中的作用引起了广泛关注。本文主要阐述外泌体的形成与分选机制以及其在AD发生发展和治疗过程中的作用。

1 外泌体的形成与分选机制

外泌体来自于内体系统, 目前认为在多泡体(multivesicle body, MVB)内形成腔内囊泡(intralumenal vesicles, ILV)是外泌体生物发生的开始。内体可以被分为早期内体、晚期内体和再循环内体, 内体膜出芽形成ILV。在此过程中, 细胞溶质蛋白、核酸和脂质等被分选进入这些小囊泡中。含有大量小囊泡的晚期内体被称为MVB。MVB与溶酶体融合, 其内容物被降解, 或者与细胞膜融合而作为外泌体被释放到细胞外^[12]。ILV的形成需要两个不同的过程, 首先内体膜富集四跨膜蛋白

(tetraspanins), 四跨膜蛋白也称为四跨膜蛋白超家族(transmembrane 4 superfamily, TM4SF), 是在所有多细胞真核生物中存在的膜蛋白家族。其中蛋白CD9和CD63被认为是在外泌体形成中起关键作用的两个四跨膜蛋白^[13], Hurwitz SN等^[14]的实验证明, CD63敲除后外泌体的分泌明显减少。然后, 内体蛋白分选转运装置(endosomal sorting complex required for transport, ESCRT)被募集到ILV形成的位点处^[15]。目前已经确定有四种不同的ESCRT, ESCRT 0、I、II和III^[16]。ESCRT 0识别内体膜外部的泛素化蛋白^[17]。ESCRT I和II在各种刺激下被募集到早期内体的胞质侧, 例如肝细胞生长因子调节的酪氨酸激酶底物(hepatocyte growth factor-regulated tyrosine kinase substrate, HRS)和内吞蛋白的细胞质尾部的泛素化和/或弯曲的膜拓扑结构能够刺激ESCRT募集^[18-20]。ESCRT I将泛素化的内容物结合在内体上, 接着ESCRT II被激活^[19]。ESCRT III通过程序性细胞死亡6相互作用蛋白(programmed cell death 6 interacting protein, PDCD6IP)被募集, 并与肿瘤易感基因101(TSG101)结合, 作为ESCRT I复合物的一部分^[21-22]。去泛素化酶在将内容物分选入ILV之前从载体蛋白中去除泛素标签。虽然通常认为ESCRT介导的通路是外泌体生物发生的主要途径, 但是目前提出了其他不依赖于ESCRT的外泌体形成途径。有研究表明, 外泌体的形成可能与富含神经酰胺的膜脂质区有关, 内容物在内体膜上被分离成不同的亚结构域, 与外泌体相关结构域可以不依赖于ESCRT向内体腔内转移, 这一过程需要鞘脂神经酰胺。纯化的外泌体富含神经酰胺, 并且抑制中性鞘脂酶后外泌体的释放减少^[23]。除此之外, 目前已知miRNA诱导的沉默复合物(miRNA-induced silencing complex, miRISC)与异质核糖核蛋白(heterogeneous nuclear ribonucleoprotein, hnRNP)参与miRNA分选入外泌体的过程。hnRNP-PA2B1可以识别miRNA序列3'部分的GGAG基序, 一旦被识别, 特定的miRNA随后便被包装入外泌体中^[24]。Argonaute (Ago)蛋白是RISC的一部分, 介导靶miRNA的切割。当Ago被敲除时, RISC中的与miRNA的5'末端结合的主要成分被破坏, 减少了某些特定的miRNA的转运, 例如Ago敲除后, HEK293T细胞衍生的外泌体中的miR-451和miR-150转运减少^[25]。

2 外泌体在AD发生发展中的作用

神经元与胶质细胞之间的通信和信号传导,是维持中枢神经系统稳态和功能的基础^[26]。外泌体是一种新型的通讯方式,神经元与胶质细胞均可释放和摄取外泌体,神经元与胶质细胞释放的外泌体在神经系统中发挥着重要作用。各项研究表明,神经细胞和胶质细胞衍生的外泌体内含有丰富的miRNA、蛋白质和脂质,外泌体的内容物可以调节AD的发生与发展(图1)。

2.1 神经元衍生的外泌体在AD中的调节作用

A β 由APP经过 γ -分泌酶和 β -分泌酶切割形成。 β -分泌酶的表达和活性水平的升高可能启动或加速AD中淀粉样蛋白肽的积累^[27]。目前已证明,某些特异性miRNA与APP和 β -分泌酶3'-UTR内的互补位点结合,从而影响APP和 β -分泌酶的表达,例如miR-193b可以与APP中3'-UTR的UGACCG序列结合,miR-101同样可以与APP中的3'-UTR的特异序列结合,从而下调APP的表达;miR-29c可以与 β -分泌酶中3'-UTR中3种特异性序列结合,从而减少 β -分泌酶的表达。因此,神经元衍生的外泌体可以通过释放miR-193b, miR-101、miR-29c等以减少APP和 β -分泌酶的含量,进而影响A β 的产生,预防AD的发生^[28-31]。临床研究发现,轻度认知功能障碍(mild cognitive impairment, MCI)和阿尔茨海默型痴呆(dementia of Alzheimer-type, DAT)患者血液中外泌体miR-193b的含量都比对照组低,并且DAT患者血液中外泌体miR-193b含量较MCI患者下降更多。此外, DAT患者脑脊液中的外泌体miR-193b含量低于对照组,表明miR-193b可作为诊断AD的生物标志物^[31]。与野生型小鼠相比,过量表达人APP的转基因小鼠的大脑释放的外泌体具有高水平的全长APP和C末端APP。并且受损的神经元细胞衍生的外泌体可以将APP、 γ/β 分泌酶、A β 肽和C末端APP转移到邻近神经元^[11]。故AD患者的大脑中受损神经元衍生的外泌体可能促进AD的发生发展。

AD的发生与炎症有关,炎症可能会增加细胞损伤并导致神经元死亡。Toll样受体(Toll-like receptor, TLR)是一种先天免疫受体,当它被激活时可通过MyD88依赖性或非依赖性途径激活下游信号分子,最终导致炎症因子释放^[8]。并且TLR的多态性可能与晚发性阿尔茨海默病的易感性有关^[32]。在过去几十年中,已经在脑中的各种细胞中发现了TLR。目

前已知死亡神经元可以释放含有let-7 miRNA的外泌体,当周边的神经元摄取含有let-7 miRNA的外泌体后,可以激活TLR7,并通过进一步激活其下游信号分子,从而促进炎症因子释放,最终导致神经元死亡^[33]。由此,阻断死亡神经元释放含有let-7 miRNA的外泌体以减轻AD患者脑内的炎症反应,可能是AD治疗的一条有效途径。

糖鞘脂(glycosphingolipids, GSL)是一组聚糖连接的膜脂,定位于细胞与外泌体膜的外层, Kohei Yuyama等^[34]研究表明,与细胞相比,外泌体中含有更丰富的GSL。收集小鼠神经元、星形胶质细胞和小胶质细胞的原代培养物中的外泌体,分析这几类神经细胞衍生的外泌体上GSL的含量,发现神经元外泌体中的GSL含量显著高于神经胶质细胞外泌体^[35]。体内外实验都表明,A β 可以识别GSL并与之结合,用神经酰胺糖内切酶(endoglycoceramidase, EGCase)去除神经元外泌体上的GSL后,将减少神经元外泌体与A β 的结合^[1]。GSL与A β 结合,可以促进A β 被小胶质细胞摄取和降解^[35]。

2.2 胶质细胞衍生的外泌体在AD中的调节作用

A β 可以分为单体、寡聚体和纤维状A β ,其中可溶性的寡聚体A β 是导致AD认知功能障碍和神经退变的主要因素^[36],小胶质细胞衍生的外泌体与可溶性A β 的产生、寡聚化和降解都密切相关(图1)。

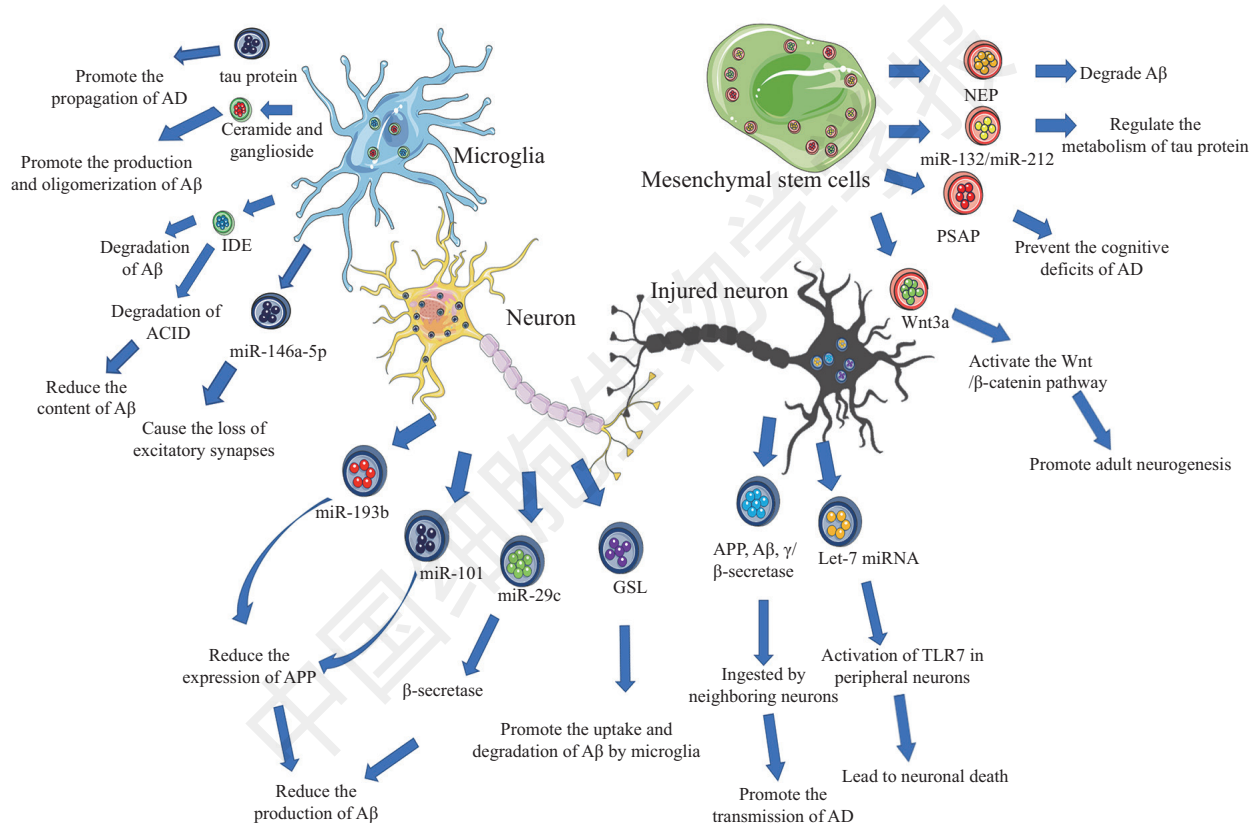
目前研究发现,小胶质细胞分泌的外泌体内有胰岛素降解酶(insulin-degrading enzyme, IDE)^[37],IDE是一种已知的可在体内外有效降解A β 单体的锌金属肽酶^[38-39]。有证据显示,IDE-KO小鼠中,A β 清除率减少95%以上,并且IDE-KO小鼠中的内源性脑A β 水平也升高^[40]。另外IDE减少A β 还可能通过降解APP细胞内结构域(amyloid- β precursor protein intracellular domain, AICD)来实现。AICD是APP经 γ/β 分泌酶水解后产生的,它反过来又可以进细胞核增加APP的产生^[41]。Dieter Edbauer等^[42]证明,IDE可以有效降解AICD,IDE的过表达可以增加AICD的降解,从而间接影响A β 的产生。因此,小胶质细胞衍生的外泌体中的IDE可以直接降解A β 或通过降解AICD减少APP的含量,继而减少A β 的产生。

小胶质细胞分泌的外泌体参与A β 的降解,然而当小胶质细胞被过度激活转变为反应性小胶质细胞后,其分泌的外泌体还参与A β 的形成和寡聚化。小胶质细胞衍生的外泌体的脂筏中富含磷脂酰丝氨酸

(phosphatidylserine, PS)、神经酰胺(ceramide)和神经节苷脂(ganglioside)等, 这些脂质可以增加淀粉样蛋白的形成^[43-44]。神经酰胺类似物可以调节切割APP所需要的 γ -分泌酶进而促进 $A\beta_{42}$ 的产生^[45]。神经酰胺和神经节苷脂可以加速 $A\beta$ 的寡聚化^[45-46]。富含PS、神经酰胺、神经节苷脂等脂质的外泌体可以促进不溶性 $A\beta$ 转变为可溶性 $A\beta$ 或抑制可溶性 $A\beta$ 转化为不溶性 $A\beta$, 从而使细胞外可溶性 $A\beta$ 含量增加。可溶性 $A\beta$ 被小胶质细胞内吞, 当内吞的 $A\beta$ 过多而超过小胶质细胞的降解能力时, 小胶质细胞又可以通过外泌体的形式将过多的 $A\beta$ 释放到细胞外^[44], 从而促

进AD的发生与发展。此外, 小胶质细胞被激活后, 能释放富含miRNA的外泌体, 例如miR-146a-5p, 这是一种小胶质细胞特异性miRNA, 其能够调节受体神经元中突触蛋白的水平, 导致兴奋性突触丢失^[47]。无论从小鼠原代培养物中分离出来的小胶质细胞衍生的外泌体, 还是来源于MCI或AD患者脑脊液的小胶质细胞的外泌体都有强烈的神经毒性^[44]。

小胶质细胞分泌的外泌体不仅在 $A\beta$ 含量的调节中起作用, 还在tau蛋白的扩散中起重要作用。病理性tau蛋白的聚集是AD的主要标志之一^[48]。Asai, H等^[49]的研究表明, 在AD小鼠模型中, 小胶质细胞可



神经元衍生的外泌体会释放多种物质, 其中miR-193b、miR-101、miR-29c分别靶向淀粉样前体蛋白(APP)和 β -分泌酶, 减少 $A\beta$ 的产生, 糖鞘脂(GSL)会促进小胶质细胞摄取 $A\beta$; 其中损伤的神经元外泌体会释放APP、 γ/β 分泌酶、 $A\beta$ 以促进AD传播, Let-7 miRNA会结合Toll样受体(TLR7)促进周边神经元的死亡; 小胶质细胞分泌胰岛素降解酶(IDE)促进 $A\beta$ 降解, 活化的小胶质细胞衍生的外泌体含有miR-146a-5p、tau蛋白导致兴奋性突触丢失和AD的传播, 其胞膜上富含脂质可以促进 $A\beta$ 的产生与寡聚化; 间充质干细胞的外泌体分泌脑啡肽酶(NEP)、鞘脂激活蛋白原(PSAP)、miR-132/ miR-212、Wnt3a, 可以通过降解 $A\beta$, 促进海马神经元成熟、调节tau蛋白的代谢和成体神经元发生来调节AD。

Neuron-derived exosomes release a variety of substances, of which miR-193b, miR-101, and miR-29c regulate amyloid precursor protein (APP) and beta-secretase, and then reduce $A\beta$ production. Glycosphingolipids (GSL) promote the uptake of $A\beta$ by microglia; The injured neuron release exosomes containing APP, γ/β secretase, and $A\beta$, which will promote the transmission of AD. The released Let-7 miRNAs will bind to Toll-like receptors (TLR7) to promote peripheral neuronal death. Microglia secrete exosomes containing insulin degrading enzyme (IDE) which will contribute to $A\beta$ degradation. Reactive microglia-derived exosomes contain miR-146a-5p and tau protein which will cause excitatory synapse loss and transmission of AD. The lipids in the exosomes from microglia will promote $A\beta$ production and oligomerization. Exosomes from mesenchymal stem cells secrete enkephalinase (NEP), saposin (PSAP), miR-132/ miR-212, Wnt3a, which can regulate AD through increasing the degradation of $A\beta$, promoting maturation of hippocampal neuron, regulating the metabolism of tau protein and adult neuron production.

图1 外泌体在阿尔兹海默病中的作用机制

Fig.1 The role and the underlying mechanism of exosomes in Alzheimer's disease

以对含tau蛋白的外泌体进行摄取降解, 但是其又可以以外泌体的形式释放tau蛋白, 这些外泌体进一步被神经元摄取, 从而导致AD的传播。并且实验证明抑制活化的小胶质细胞分泌外泌体可以减少tau蛋白的扩散。所以抑制小胶质细胞分泌的含tau蛋白的外泌体可能是AD治疗的靶标。

3 MSCs衍生的外泌体在AD治疗中的潜在作用及机制

MSCs衍生的外泌体内存在多种功能性miRNA, 例如MSCs衍生的外泌体含有miR-132/miR-212^[50-51]。在AD脑中miR-132/miR-212的含量减少^[52]。Smith等^[53-54]研究显示, miR-132/miR-212缺乏的小鼠, 由于自噬功能障碍会导致磷酸化的tau蛋白清除减少, 使磷酸化tau蛋白在细胞内聚集, 形成有神经毒性的NFTs。miR-132/miR-212缺乏的小鼠长期记忆形成和维持障碍。用miR-132处理AD小鼠可以改善tau蛋白的代谢并部分恢复AD小鼠的记忆功能障碍。因此, MSCs衍生外泌体中的miR-132/miR-212可能通过调节tau蛋白的代谢起到改善AD的作用。

MSCs的外泌体中含有NEP, 这是一种能够降解A β 的酶^[55]。与野生型小鼠相比, NEP缺陷小鼠脑内A β 沉积显著增多。此外, 与同年龄的没有认知障碍的狗相比, 具有认知障碍的老年狗的NEP mRNA水平降低80%。人NEP基因位于染色体3q25.1-q25.2中, 队列和Meta研究表明, NEP多态性与AD相关^[56]。这些研究表明, MSCs衍生的外泌体中的NEP可通过减少A β 的沉积起到改善AD的作用。

MSCs的外泌体中存在鞘脂激活蛋白原 (prosa-posin, PSAP), 这是一种多功能蛋白质^[57]。海马等脑区中有PSAP的强表达, 其可以在体内发挥神经保护作用, 并认为PSAP缺乏与认知功能障碍相关^[58]。Hui-ling Gao等^[59]的实验表明, PSAP显著降低了AD小鼠脑中APP的含量, 减轻了A β 诱导的tau蛋白的磷酸化和神经炎症反应, 减少了小胶质细胞的过度活化, 并且其可以调节海马神经元中与凋亡相关的蛋白的表达, 影响神经细胞的再生, 改善AD小鼠的认知功能障碍。

Wnt3a是一种由WNT3A基因编码的蛋白质, Wnt3a蛋白可以激活Wnt/ β -catenin信号传导途径, 这是调节成体神经发生的主要信号传导通路之一^[60]。Wnt3a及其活性形式可以促进神经前体细胞(neural

precursor cells, NPC)扩增和分化为突触活性神经元, 而Wnt3a的缺失抑制NPC向神经元的分化^[60]。在AD小鼠模型中, 海马DG中的Wnt3a过表达使成体神经发生恢复至正常水平^[61]。目前证实, MSCs外泌体含有Wnt3a蛋白^[62]。基于这些发现, MSCs衍生的含有Wnt3a的外泌体可以作为改善AD的靶点。

MSCs是治疗神经退行性疾病的潜在方法。然而, MSCs移植中可能出现肿瘤形成、细胞排斥和血栓形成等风险^[11]。使用MSCs衍生的外泌体与直接使用MSCs相比, 具有几个潜在的优势。首先, 外泌体的使用避免了突变或损坏的基因组DNA转移的可能性。其次, 外泌体较小, 容易循环, 而MSCs太大并不容易通过毛细血管循环。第三, 输注的MSCs的剂量在移植后迅速减少, 然而MSCs衍生的外泌体的运用可以使受体细胞获得更高剂量的效应因子。使用MSCs衍生的外泌体的缺点是它们是静态的并且在移植细胞内不能再生^[63]。各种研究表明, MSCs衍生的外泌体通过细胞之间蛋白质、miRNA的交换, 起到了降解A β , 促进成体神经元的发生, 改善AD患者的学习记忆能力的作用(表1)。然而, MSCs衍生的外泌体在AD中的保护作用所涉及的具体机制仍有待于进一步的研究。

4 展望

AD是一种复杂的神经退行性疾病, 它的发生和发展涉及各种因素。外泌体在AD调节中起了重要的作用。各种不同细胞分泌的外泌体内含有的miRNA、蛋白质、脂质可以从神经炎症、A β 降解等多方面调节AD的发病与进展^[11]。因此, 一方面外泌体可能是诊断AD的潜在生物标志物。例如, 在AD病人的脑脊液和血液中, 外泌体miR-193b含量显著减少, miR-193b可以抑制APP的表达, 其含量与A β 负相关, 表明血液中外泌体miR-193b可作为诊断AD的生物标志物^[31]。另一方面外泌体为AD的治疗提供了新的思路。应用各种调节因素使细胞分泌含特定物质的外泌体不失为一种有效的方法。如前所述, IDE可以降解单体A β , 目前研究表明, 他汀类药物可以通过刺激与外泌体相关的IDE的分泌, 从而促进小胶质细胞降解细胞外A β ^[37]。此外, 外泌体可以作为靶向AD治疗的各种分子的生物载体。通过外泌体全身给药的方式可以将功能性siRNA成功递送到AD小鼠脑中以改善AD^[64]。

表1 外泌体在阿尔兹海默病中的作用机制

Table 1 Mechanism of exosomes in the progress of Alzheimer's disease

外泌体 Exosomes	细胞来源 Cell source	作用方式和机理 Mode of action and mechanism	参考文献 References
miR-193b	Neuron	Reduce the expression of APP and A β production	[31]
miR-101	Neuron	Reduce the expression of APP and A β production	[30]
miR-29c	Neuron	Reduce the expression of BACE1 and A β production	[28-29]
GSL	Neuron	Reduce amyloid load, promote the uptake and degradation of A β by microglia	[34-35]
APP, A β , γ / β -secretase	Injured neuron	Ingested by neighboring neurons and promote the transmission of AD	[11]
Let-7miRNA	Death neuron	Activation of TLR7 in peripheral neurons and then lead to neuronal death	[33]
IDE	Microglia	Degradation of A β and ACID, reduce the content of A β	[37,40-42]
Ceramide and ganglioside	Reactive microglia	Promote the production and oligomerization of A β	[43-46]
miR-146a-5p	Reactive microglia	Cause the loss of excitatory synapses	[47]
tau protein	Reactive microglia	Promote the transmission of AD	[49]
miR-132/miR-212	Mesenchymal stem cells	Regulate the metabolism of tau protein	[50-53]
NEP	Mesenchymal stem cells	Degrade A β	[55-56]
PSAP	Mesenchymal stem cells	Promote the maturation of hippocampal neuron and prevent the occurrence of AD	[57-59]
Wnt3a	Mesenchymal stem cells	Activate the Wnt / β -catenin pathway and promote NPC proliferation/differentiation into neurons contain active synapses	[61-62]

APP: 淀粉样前体蛋白; GSL: 糖鞘脂; IDE: 胰岛素降解酶; ACID: APP细胞内结构域; NEP: 脑啡肽酶; PSAP: 鞘脂激活蛋白原。

APP: amyloid precursor protein; GSL: glycosphingolipids; IDE: insulin-degrading enzyme; ACID: amyloid- β precursor protein intracellular domain; NEP: neprilysin; PSAP: prosaposin.

外泌体用于治疗的潜在优点有: (1)外泌体来源于自身细胞, 所以不容易引起机体的免疫反应; (2)外泌体可以通过受体介导的内吞作用通过血脑屏障, 故可以提高外泌体内物质在脑中的生物利用率; (3)外泌体为纳米尺寸, 这降低了微血管血栓形成的可能性; (4)外泌体可以被过滤灭菌, 故减少了感染的机会^[11]。尽管外泌体在AD的诊断和治疗中有潜在优点, 但将其应用于临床仍有待进一步解决的问题: (1)如何精确诱导细胞分泌含特定物质的外泌体的机制目前并不清楚; (2)如何最大效率地将生物活性物质加载到外泌体中; (3)如何使外泌体选择性地靶向细胞并精确释放其内容物。(4)应用外泌体治疗的生物安全性也需要进一步的明确。总之, 外泌体在AD中的作用及机制的研究将为阿尔兹海默病的诊断和治疗提供新的方向。

参考文献 (References)

- 1 Yuyama K, Igarashi Y. Exosomes as carriers of Alzheimer's amyloid-ss. *Front in neurosci* 2017; 11: 229.
- 2 Molsa PK, Marttila RJ, Rinne UK. Long-term survival and predictors of mortality in Alzheimer's disease and multi-infarct dementia. *Acta Neurol Scand* 1995; 91(3): 159-64.
- 3 Rajendran L, Honsho M, Zahn TR, Keller P, Geiger KD, Verkade P, *et al.* Alzheimer's disease beta-amyloid peptides are released in association with exosomes. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006; 103(30): 11172-7.
- 4 Kourembanas S. Exosomes: vehicles of intercellular signaling, biomarkers, and vectors of cell therapy. *Annu Rev Physiol* 2015; 77: 13-27.
- 5 Kalani A, Tyagi A, Tyagi N. Exosomes: mediators of neurodegeneration, neuroprotection and therapeutics. *Mol Neurobiol* 2014; 49(1): 590-600.
- 6 Montecalvo A, Larregina AT, Shufesky WJ, Stolz DB, Sullivan ML, Karlsson JM, *et al.* Mechanism of transfer of functional microRNAs between mouse dendritic cells via exosomes. *Blood* 2012; 119(3): 756-66.
- 7 Escreve C, Keller S, Altevogt P, Costa J. Interaction and uptake of exosomes by ovarian cancer cells. *BMC cancer* 2011; 11: 108.
- 8 Li D, Li YP, Li YX, Zhu XH, Du XG, Zhou M, *et al.* Effect of regulatory network of exosomes and microRNAs on neurodegenerative diseases. *Chin Med J (Engl)* 2018; 131(18): 2216-25.
- 9 Kramer-Albers EM, Bretz N, Tenzer S, Winterstein C, Mobius W, Berger H, *et al.* Oligodendrocytes secrete exosomes containing major myelin and stress-protective proteins: Trophic support for axons? *Proteomics. Proteomics Clin Appl* 2007; 1(11): 1446-61.
- 10 Frohlich D, Kuo WP, Fruhbeis C, Sun JJ, Zehendner CM, Luhmann HJ, *et al.* Multifaceted effects of oligodendroglial exosomes on neurons: impact on neuronal firing rate, signal transduction and gene regulation. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 2014; 369(1652).
- 11 Reza-Zaldivar EE, Hernandez-Sapiens MA, Minjarez B, Gutierrez-Mercado YK, Marquez-Aguirre AL, Canales-Aguirre AA. Potential effects of MSC-derived exosomes in neuroplasticity in

- Alzheimer's disease. *Front Cell Neurosci* 2018; 12: 317.
- 12 Grant BD, Donaldson JG. Pathways and mechanisms of endocytic recycling. *Nature reviews. Nat Rev Mol Cell Biol* 2009; 10(9): 597-608.
- 13 Pols MS, Klumperman J. Trafficking and function of the tetraspanin CD63. *Exp Cell Res* 2009; 315(9): 1584-92.
- 14 Hurwitz SN, Nkosi D, Conlon MM, York SB, Liu X, Tremblay DC, *et al.* CD63 regulates Epstein-Barr virus LMP1 exosomal packaging, enhancement of vesicle production, and noncanonical NF-kappaB signaling. *J Virol* 2017; 91(5): pii: e02251-16.
- 15 Colombo M, Moita C, van Niel G, Kowal J, Vigneron J, Benaroch P, *et al.* Analysis of ESCRT functions in exosome biogenesis, composition and secretion highlights the heterogeneity of extracellular vesicles. *J Cell Sci* 2013; 126(Pt24): 5553-65.
- 16 Henne WM, Buchkovich NJ, Emr SD. The ESCRT pathway. *Dev Cell* 2011; 21(1): 77-91.
- 17 Raiborg C, Stenmark H. The ESCRT machinery in endosomal sorting of ubiquitylated membrane proteins. *Nature* 2009; 458(7237): 445-52.
- 18 Razi M, Futter CE. Distinct roles for Tsg101 and Hrs in multivesicular body formation and inward vesiculation. *Mol Biol Cell* 2006; 17(8): 3469-83.
- 19 Katzmann DJ, Babst M, Emr SD. Ubiquitin-dependent sorting into the multivesicular body pathway requires the function of a conserved endosomal protein sorting complex, ESCRT-I. *Cell* 2001; 106(2): 145-55.
- 20 Bache KG, Brech A, Mehlum A, Stenmark H. Hrs regulates multivesicular body formation via ESCRT recruitment to endosomes. *J Cell Biol* 2003; 162(3): 435-42.
- 21 Baietti MF, Zhang Z, Mortier E, Melchior A, Degeest G, Geeraerts A, *et al.* Syndecan-syntenin-ALIX regulates the biogenesis of exosomes. *Nat cell Biol* 2012; 14(7): 677-85.
- 22 Matsuo H, Chevallier J, Mayran N, Le Blanc I, Ferguson C, Faure J, *et al.* Role of LBPA and Alix in multivesicular liposome formation and endosome organization. *Science* 2004; 303(5657): 531-4.
- 23 Trajkovic K, Hsu C, Chiantia S, Rajendran L, Wenzel D, Wieland F, *et al.* Ceramide triggers budding of exosome vesicles into multivesicular endosomes. *Science* 2008; 319(5867): 1244-7.
- 24 Villarroya-Beltri C, Gutierrez-Vazquez C, Sanchez-Cabo F, Perez-Hernandez D, Vazquez J, Martin-Cofreces N, *et al.* Sumoylated hnRNPA2B1 controls the sorting of miRNAs into exosomes through binding to specific motifs. *Nat Commun* 2013; 4: 2980.
- 25 Guduric-Fuchs J, O'Connor A, Camp B, O'Neill CL, Medina RJ, Simpson DA. Selective extracellular vesicle-mediated export of an overlapping set of microRNAs from multiple cell types. *BMC genomics* 2012; 13: 357.
- 26 Zagrean AM, Hermann DM, Opris I, Zagrean L, Popa-Wagner A. Multicellular crosstalk between exosomes and the neurovascular unit after cerebral ischemia. *Therapeutic Implications. Front Neurosci* 2018; 12: 811.
- 27 Holsinger RM, McLean CA, Beyreuther K, Masters CL, Evin G. Increased expression of the amyloid precursor beta-secretase in Alzheimer's disease. *Ann Neurol* 2002; 51(6): 783-6.
- 28 Lei X, Lei L, Zhang Z, Zhang Z, Cheng Y. Downregulated miR-29c correlates with increased BACE1 expression in sporadic Alzheimer's disease. *Int J Clin Exp Pathol* 2015; 8(2): 1565-74.
- 29 Yang G, Song Y, Zhou X, Deng Y, Liu T, Weng G, *et al.* MicroRNA-29c targets beta-site amyloid precursor protein-cleaving enzyme 1 and has a neuroprotective role *in vitro* and *in vivo* *Mol Med Rep* 2015; 12(2): 3081-8.
- 30 Long JM, Lahiri DK. MicroRNA-101 downregulates Alzheimer's amyloid-beta precursor protein levels in human cell cultures and is differentially expressed. *Biochem Biophys Res Commun* 2011; 404(4): 889-95.
- 31 Liu CG, Song J, Zhang YQ, Wang PC. MicroRNA-193b is a regulator of amyloid precursor protein in the blood and cerebrospinal fluid derived exosomal microRNA-193b is a biomarker of Alzheimer's disease. *Mol Med Rep* 2014; 10(5): 2395-400.
- 32 Sohrabifar N, Ghahesouran J, Talebi M, Ghojzadeh M, Mohaddes Ardebili SM. Association of CLU and TLR2 gene polymorphisms with late-onset *alzheimer* disease in a northwestern Iranian population. *Turk J Med Sci* 2015; 45(5): 1082-6.
- 33 Winkler CW, Taylor KG, Peterson KE. Location is everything: let-7b microRNA and TLR7 signaling results in a painful TRP. *Sci Signal* 2014; 7: pe14.
- 34 Kohei Y, Hui S, Shota S, Susumu M, Megumi O, Hidetoshi T, *et al.* Decreased amyloid- β pathologies by intracerebral loading of glycosphingolipid-enriched exosomes in Alzheimer model mice. *J Biol Chem* 2014; 289(35): 24488-98.
- 35 Yuyama K, Sun H, Usuki S, Sakai S, Hanamatsu H, Mioka T, *et al.* A potential function for neuronal exosomes: sequestering intracerebral amyloid-beta peptide. *FEBS Lett* 2015; 589(1): 84-8.
- 36 Ding Y, Bao X, Lao L, Ling Y, Wang Q, Xu S, *et al.* p-Hydroxybenzyl alcohol prevents memory deficits by increasing neurotrophic factors and decreasing inflammatory factors in a mice model of Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis* 2019; 67(3): 1007-19.
- 37 Tamboli IY, Barth E, Christian L, Siepmann M, Kumar S, Singh S, *et al.* Statins promote the degradation of extracellular amyloid {beta}-peptide by microglia via stimulation of exosome-associated insulin-degrading enzyme (IDE) secretion. *J Biol Chem* 2010; 285(48): 37405-14.
- 38 Selkoe DJ. Clearing the brain's amyloid cobwebs. *Neuron* 2001; 32(2): 177-80.
- 39 Qiu WQ, Walsh DM, Ye Z, Vekrellis K, Zhang J, Podlisny MB, *et al.* Insulin-degrading enzyme regulates extracellular levels of amyloid beta-protein by degradation. *J Biol Chem* 1998; 273(49): 32730-8.
- 40 Zhang Y, Wang P. Age-related increase of insulin-degrading enzyme is inversely correlated with cognitive function in APP^{swe}/PS1^{DE9} mice. *Med Sci Monit* 2018; 24: 2446-55.
- 41 Krasinski CA, Zheng Q, Ivancic VA, Spratt DE, Lazo ND. The longest amyloid-beta precursor protein intracellular domain produced with Abeta42 forms beta-sheet-containing monomers that self-assemble and are proteolyzed by insulin-degrading enzyme. *ACS Chem Neurosci* 2018; 9(12):2892-7.
- 42 Edbauer D, Willem M, Lammich S, Steiner H, Haass C. Insulin-degrading enzyme rapidly removes the β -Amyloid precursor protein intracellular domain (AICD). *J Biol Chem* 2002; 277(16): 13389-93.
- 43 Paolicelli RC, Bergamini G, Rajendran L. Cell-to-cell communication by extracellular vesicles: focus on microglia. *Neuroscience* 2019; 405:148-157.

- 44 Joshi P, Turola E, Ruiz A, Bergami A, Libera DD, Benussi L, *et al.* Microglia convert aggregated amyloid-beta into neurotoxic forms through the shedding of microvesicles. *Cell Death Differ* 2014; 21(4): 582-93.
- 45 Takasugi N, Sasaki T, Shinohara M, Iwatsubo T, Tomita T. Synthetic ceramide analogues increase amyloid-beta 42 production by modulating gamma-secretase activity. *Biochem Biophys Res Commun* 2015; 457(2): 194-9.
- 46 Yanagisawa K. GM1 ganglioside and Alzheimer's disease. *Glycoconj J* 2015; 32(3-4): 87-91.
- 47 Prada I, Gabrielli M, Turola E, Iorio A, D'Arrigo G, Parolisi R, *et al.* Glia-to-neuron transfer of miRNAs via extracellular vesicles: a new mechanism underlying inflammation-induced synaptic alterations. *Acta Neuropathol* 2018; 135(4): 529-50.
- 48 Wu XL, Pina-Crespo J, Zhang YW, Chen XC, Xu HX. Tau-mediated neurodegeneration and potential implications in diagnosis and treatment of Alzheimer's disease. *Chin Med J (Engl)* 2017; 130(24): 2978-90.
- 49 Asai H, Ikezu S, Tsunoda S, Medalla M, Luebke J, Haydar T, *et al.* Depletion of microglia and inhibition of exosome synthesis halt tau propagation. *Nat Neurosci* 2015; 18(11): 1584-93.
- 50 Ma T, Chen Y, Chen Y, Meng Q, Sun J, Shao L, *et al.* MicroRNA-132, delivered by mesenchymal stem cell-derived exosomes, promote angiogenesis in myocardial infarction. *Stem Cells Int* 2018; 2018: 3290372.
- 51 Yang Y, Cai Y, Zhang Y, Liu J, Xu Z. Exosomes secreted by adipose-derived stem cells contribute to angiogenesis of brain microvascular endothelial cells following oxygen-glucose deprivation *in vitro* through microRNA-181b/TRPM7 Axis. *J Mol Neurosci* 2018; 65(1): 74-83.
- 52 Hernandez-Rapp J, Rainone S, Goupil C, Dorval V, Smith PY, Saint-Pierre M, *et al.* MicroRNA-132/212 deficiency enhances Abeta production and senile plaque deposition in Alzheimer's disease triple transgenic mice. *Sci Rep* 2016; 6: 30953.
- 53 Smith PY, Hernandez-Rapp J, Jolivet F, Lecours C, Bisht K, Goupil C, *et al.* MiR-132/212 deficiency impairs tau metabolism and promotes pathological aggregation *in vivo*. *Hum Mol Genet* 2015; 24(23): 6721-35.
- 54 Gao Y, Tan L, Yu JT, Tan L. Tau in Alzheimer's disease: Mechanisms and therapeutic strategies. *Curr Alzheimer Res* 2018; 15(3): 283-300.
- 55 Katsuda T, Tsuchiya R, Kosaka N, Yoshioka Y, Takagaki K, Oki K, *et al.* Human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells secrete functional neprilysin-bound exosomes. *Sci Rep* 2013; 3: 1197.
- 56 Zhang H, Liu D, Wang Y, Huang H, Zhao Y, Zhou H. Meta-analysis of expression and function of neprilysin in Alzheimer's disease. *Neurosci Lett* 2017; 657: 69-76.
- 57 Li N, Sarojini H, An J, Wang E. Prosaposin in the secretome of marrow stroma-derived neural progenitor cells protects neural cells from apoptotic death. *J Neurochem* 2010; 112(6): 1527-38.
- 58 Morishita M, Nabeka H, Shimokawa T, Miyawaki K, Doihara T, Saito S, *et al.* Temporal changes in prosaposin expression in the rat dentate gyrus after birth. *PLoS One* 2014; 9(5): e95883.
- 59 Gao HL, Li C, Nabeka H, Shimokawa T, Wang ZY, Cao YM, *et al.* An 18-mer peptide derived from prosaposin ameliorates the effects of Abeta1-42 neurotoxicity on hippocampal neurogenesis and memory deficit in mice. *J Alzheimers Dis* 2016; 53(3): 1173-92.
- 60 Yin ZS, Zhang H, Wang W, Hua XY, Hu Y, Zhang SQ, *et al.* Wnt-3a protein promote neuronal differentiation of neural stem cells derived from adult mouse spinal cord. *Neurol Res* 2007; 29(8): 847-54.
- 61 Shruster A, Offen D. Targeting neurogenesis ameliorates danger assessment in a mouse model of Alzheimer's disease. *Behav Brain Res* 2014; 261: 193-201.
- 62 McBride JD, Rodriguez-Menocal L, Guzman W, Candanedo A, Garcia-Contreras M, Badiavas EV. Bone marrow mesenchymal stem cell-derived CD63⁺ exosomes transport Wnt3a exteriorly and enhance dermal fibroblast proliferation, migration, and angiogenesis *in vitro*. *Stem Cells Dev* 2017; 26(19): 1384-98.
- 63 Phinney DG, Pittenger MF. Concise review: MSC-derived exosomes for cell-free therapy. *Stem cells (Dayton, Ohio)* 2017; 35(4): 851-8.
- 64 Chen JJ, Zhao B, Zhao J, Li S. Potential roles of exosomal microRNAs as diagnostic biomarkers and therapeutic application in Alzheimer's disease. *Neural Plast* 2017; 2017: 7027380.