

# 外泌体miRNA在缺血性卒中治疗中的研究进展

柴苗<sup>1</sup> 苏刚<sup>2</sup> 高娟<sup>1</sup> 陈玮<sup>1</sup> 董颖<sup>1</sup> 王禾<sup>1</sup> 高欣<sup>1</sup> 张振昶<sup>1\*</sup>

(<sup>1</sup>兰州大学第二医院神经内科, 兰州 730030; <sup>2</sup>兰州大学基础医学院遗传研究所, 兰州 730000)

**摘要** 缺血性卒中引起的神经功能障碍给社会和家庭带来了沉重的经济负担。目前缺血性卒中在临床治疗中仍缺乏特异性治疗手段。外泌体具有良好的相容性且易穿过血脑屏障, 同时其可以将内容物传递给受体细胞, 进而影响受体细胞的生物学功能, 从而可能为缺血性卒中提供新的治疗思路。miRNA作为外泌体内容物的一部分, 引起了广泛的关注。该文就外泌体中的miRNA在缺血性卒中治疗中的研究进展以及外泌体miRNA靶向递送治疗缺血性卒中的潜力进行综述, 为缺血性卒中今后的研究方向以及治疗靶点的选择提供参考。

**关键词** 外泌体; miRNA; 缺血性卒中

## Research Progress of Exosomal miRNA in the Treatment of Ischemic Stroke

CHAI Miao<sup>1</sup>, SU Gang<sup>2</sup>, GAO Juan<sup>1</sup>, CHEN Wei<sup>1</sup>, DONG Ying<sup>1</sup>, WANG He<sup>1</sup>, GAO Xin<sup>1</sup>, ZHANG Zhenchang<sup>1\*</sup>

(<sup>1</sup>Department of Neurology, Lanzhou University Second Hospital, Lanzhou 730030, China;

<sup>2</sup>Institute of Genetics, School of Basic Medical Sciences, Lanzhou University, Lanzhou 730000, China)

**Abstract** The neurological dysfunction caused by ischemic stroke brings heavy economic burden to society and families. However, the specific clinical therapy for ischemic stroke is still lacking at present. Exosomes have good compatibility and can cross the blood-brain barrier easily. At the same time, exosomes can transfer contents to recipient cells, and then affect the biological function of recipient cells, which may provide a new treatment method for ischemic stroke. As a part of exosome contents, miRNA has attracted much attention. This article reviews the research progress and the potential of targeted delivery of exosomal miRNA in the treatment of ischemic stroke, so as to provide reference directions for future research and the selection of therapeutic targets for ischemic stroke.

**Keywords** exosome; miRNA; ischemic stroke

卒中是世界范围内具有高致死率和致残率的疾病, 是仅次于缺血性心脏病的第二大死亡原因<sup>[1]</sup>。卒中可被分为缺血性卒中和出血性卒中, 缺血性卒中是最常见的卒中类型, 在全球范围内其约占所有卒中的62%, 在我国缺血性卒中占比更是高达80%以上<sup>[1-2]</sup>。

由于治疗时间窗的限制, 临床上大多数患者在缺血性卒中急性期未能接受有效治疗, 导致严重的神经功能缺损。对于超过治疗时间窗的缺血性卒中患者, 目前临床上尚缺乏有效的治疗手段, 因此亟需寻求新的治疗方法。血脑屏障的存在使得安全有效地递

收稿日期: 2022-01-09 接受日期: 2022-02-28

国家自然科学基金面上项目(批准号: 31870335)、甘肃省科技厅自然科学基金(批准号: 20JR5RA344)、甘肃省基因功能重点实验室科技重大专项协作项目(批准号: BA2016036)、兰州市科技发展指导性计划(批准号: 2019-ZD-51)和兰州大学第二医院萃英研究生指导教师培育计划(批准号: 201802)资助的课题

\*通讯作者。Tel: 13893647595, E-mail: 13893647595@163.com

Received: January 9, 2022 Accepted: February 28, 2022

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.31870335), the Natural Science Foundation of Gansu Provincial Department of Science and Technology (Grant No.20JR5RA344), the Science and Technology Major Special Collaboration Project of Gansu Provincial Key Laboratory of Gene Function (Grant No.BA2016036), the Lanzhou Science and Technology Development Guiding Plan Project (Grant No.2019-ZD-51), and the Cuiying Graduate Instructor Training Program of the Lanzhou University Second Hospital (Grant No.201802)

\*Corresponding author. Tel: +86-13893647595, E-mail: 13893647595@163.com

送药物成为治疗缺血性卒中的主要困难,外泌体由于其独有的特性,在临床前研究中引起了广泛的关注。微小RNA(microRNA, miRNA)作为外泌体中的遗传物质之一,成为治疗缺血性卒中有潜力的治疗靶点。

## 1 缺血性卒中的治疗现状

缺血性卒中是由于各种原因引起脑部血液供应的减少或中断,并由此导致脑组织缺血缺氧,从而引起神经元死亡和小胶质细胞、星形胶质细胞活化等一系列变化<sup>[3]</sup>。缺血性卒中的病理包括缺血核心区和半暗带的形成,营救缺血半暗带的神经元是卒中治疗的关键。目前,治疗缺血性卒中最有效的方法是进行血管内再灌注,在卒中后实现再灌注的方法包括重组组织型纤溶酶原激活物(recombinant tissue plasminogen activator, rt-PA)静脉内溶栓治疗以及血管内机械取栓治疗<sup>[4]</sup>。然而,rt-PA存在严格的时间窗( $\leq 4.5$  h)限制和溶栓禁忌症,并且有出血转化的风险;而血管内机械取栓仅适用于大动脉闭塞的患者,并且只适用于部分存在溶栓禁忌症的患者<sup>[5-6]</sup>。因此,对于超过急性期治疗时间窗的患者,寻找新的特异性治疗方案对促进其神经功能恢复尤为重要。外泌体由于其携带遗传物质、低免疫原性、良好的组织相容性、高递送效率以及易穿过血脑屏障等特点,在缺血性卒中的治疗中引起了越来越多的关注<sup>[7]</sup>。

## 2 外泌体以及miRNA的概述

外泌体是由活细胞分泌的直径为30~200 nm的单层膜结构的囊泡,包含蛋白质、脂质、核酸以及糖缀合物等,是细胞外囊泡的一种<sup>[8]</sup>。外泌体具有稳定的双分子磷脂结构,可保护其内容物的生物活性免遭破坏。通过将其所包含的内容物传递给邻近或远处的受体细胞并调节受体细胞的功能,外泌体在免疫反应、肿瘤进展、神经变性疾病等中发挥着重要的作用<sup>[9]</sup>。同时,外泌体由于其良好的相容性以及易透过血脑屏障等特性,有望为缺血性卒中提供新的治疗思路<sup>[10]</sup>。

miRNA是内源性产生的长度为21~23个核苷酸的单链非编码RNA分子<sup>[11]</sup>,具有通过抑制信使RNA(messenger RNA, mRNA)表达或促进mRNA降解而在转录后水平调控基因表达的能力<sup>[12]</sup>。miRNA

在细胞生长、增殖、分化与凋亡等生物过程中发挥着重要作用。近年来,随着研究的进展,外泌体中的miRNA引起了越来越多的关注。在动物模型中,miRNA可以被包装成外泌体或微泡并分泌到细胞外微环境中,进行长距离的细胞间通讯<sup>[13]</sup>。大量研究表明,外泌体中miRNA在疾病的诊断、治疗及预后方面发挥着重要的作用<sup>[14-16]</sup>。

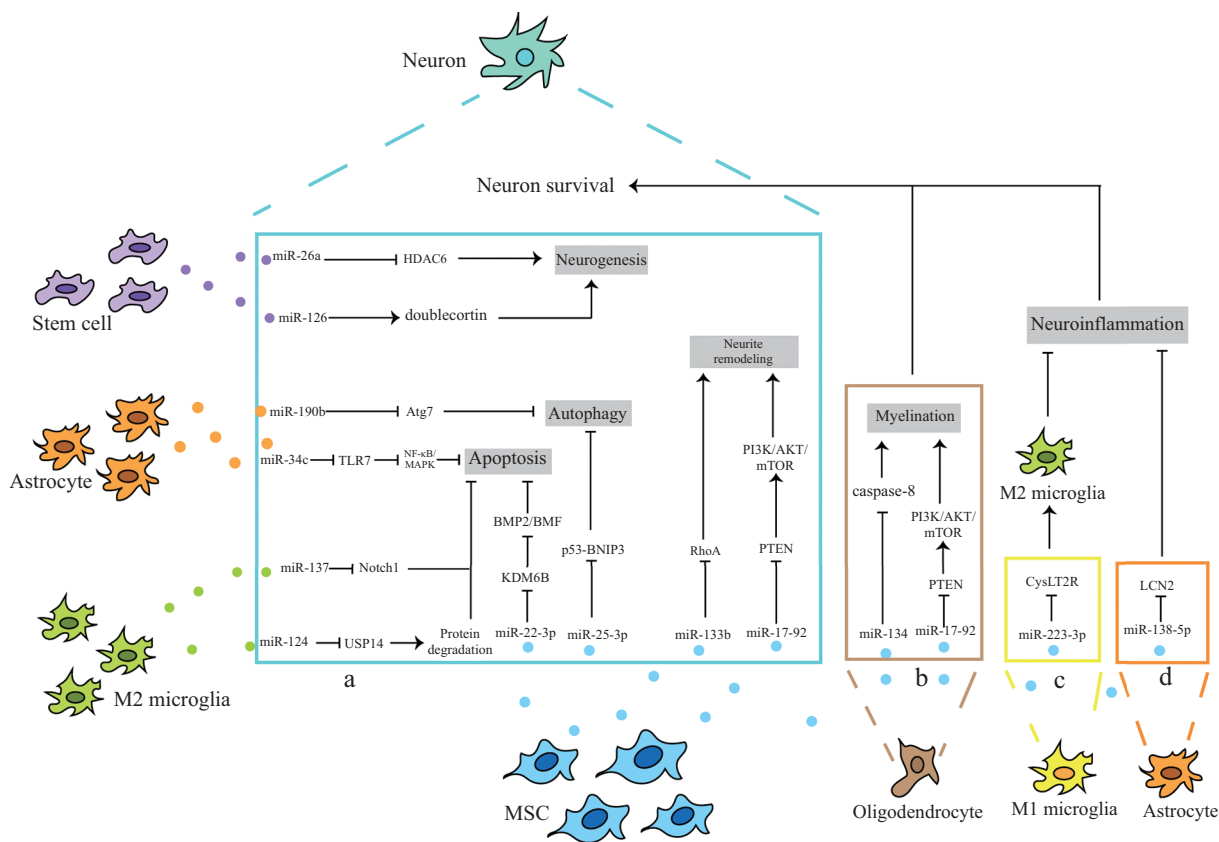
外泌体具有高度异质性,主要表现在大小、内容物、功能和细胞来源这四个方面。细胞微环境及内在生物学的改变可能会影响外泌体及其内容物的含量<sup>[7]</sup>。外泌体包装miRNA不是一个随机的过程,具有活跃的分选机制<sup>[15]</sup>。研究表明,外泌体与亲本细胞的miRNA表达谱不同,高富集的外泌体miRNA可能在疾病进展和治疗中具有重要作用<sup>[9]</sup>。而外泌体中miRNA表达水平在不同的生理条件下也会发生改变。外泌体及其携带的miRNA的这些特性,为外泌体中miRNA成为缺血性卒中有潜力的治疗靶点奠定了基础。

## 3 外泌体中的miRNA对缺血性卒中的治疗

外泌体负载miRNA被用于治疗中枢神经系统疾病已成为热门话题。外泌体可以转运具有生物功能的miRNA,同时由于其固有的生物学特性,使外泌体成为一种新的治疗工具。在缺血性卒中发生后,外泌体中的miRNA通过不同的方式(包括抑制炎症反应、抑制凋亡、抑制自噬以及促进神经突重塑等)发挥神经保护作用(图1)。

### 3.1 抑制炎症反应

神经炎症在缺血性卒中的发生发展过程中发挥着重要作用,炎症反应存在两面性,一方面激活的炎症细胞可以吞噬死细胞或碎片促进组织修复,另一方面,过度激活的炎症反应会进一步加重神经元损伤<sup>[17]</sup>。缺血性卒中发生后,炎症细胞上的Toll样受体4(Toll-like receptor 4, TLR4)被激活,导致神经炎症以及继发性神经元损伤,间充质干细胞(mesenchymal stem cell, MSC)外泌体携带的miR-542-3p通过抑制TLR4减轻神经胶质细胞的炎症反应并减少神经元的凋亡<sup>[18]</sup>。除此之外,骨髓间充质干细胞(bone marrow mesenchymal stem cell, BMSC)外泌体携带的miR-221-3p可通过下调转录激活因子3(activating transcription factor 3, ATF3)减轻大脑中动脉闭塞(middle cerebral artery occlusion, MCAO)小鼠脑组织炎症,减轻缺血性卒中后神经元损伤<sup>[19]</sup>。



a: 不同细胞来源的外泌体中的miRNA通过作用于靶基因来抑制细胞凋亡和自噬, 促进神经突重塑及神经发生, 在缺血性卒中后发挥神经保护作用。b: MSC外泌体中miRNA通过促进髓鞘形成发挥保护作用。c: MSC外泌体中miRNA通过诱导小胶质细胞从M1表型转化为M2表型, 减轻神经炎症及继发性神经损伤。d: MSC外泌体通过miRNA抑制星形胶质细胞的炎症反应。

a: miRNAs in exosomes from different cells inhibit apoptosis and autophagy, promote neurite remodeling and neurogenesis through its target genes, and play a neuroprotective role after ischemic stroke. b: miRNAs in MSC exosomes play a neuroprotective role by promoting myelination. c: miRNAs in MSC exosomes attenuate neuroinflammation and secondary neurological damage by inducing the transformation of microglia from M1 to M2. d: MSC-derived exosomes inhibit astrocyte inflammation via miRNA.

图1 缺血性卒中后外泌体中miRNA发挥神经保护作用的机制(根据参考文献[15]修改)

Fig.1 Mechanism of neuroprotective effect of exosomal miRNA in ischemic stroke (modified from the reference [15])

缺血性卒中发生后, 中枢神经系统的固有免疫细胞小胶质细胞可被极化为“经典激活”促炎M1表型和“替代激活”抗炎M2表型, 从而发挥神经损伤或保护作用<sup>[20]</sup>。ZHAO等<sup>[21]</sup>研究发现, 负载miR-223-3p的MSC外泌体可通过抑制半胱氨酰白三烯受体2(cysteiny leukotriene receptor 2, CysLT2R)的表达, 诱导小胶质细胞从M1表型转化为M2表型, 进而抑制炎症反应。此外, 脂肪源性干细胞(adipose-derived stem cell, ADSC)外泌体中携带的miR-30d-5p可通过抑制自噬促进小胶质细胞转化为M2表型, 减轻缺血性神经损伤后的炎症反应<sup>[22]</sup>。将过表达miR-126的ADSC衍生的外泌体作用于氧糖剥夺(oxygen-glucose deprivation, OGD)后的BV2小胶质细胞, 研究发现该外泌体可抑制BV2细胞的活化和炎症因子的表达, 促进缺血性卒中后神经功能恢复<sup>[23]</sup>。另外, ZHANG等<sup>[24]</sup>研

究发现, 人脐带间充质干细胞(human umbilical cord mesenchymal stem cell, hUMSC)产生的外泌体中的miR-146a-5p可通过抑制IRAK1/TRAF6信号通路减轻小胶质细胞介导的神经炎症反应, 减小梗死体积, 改善缺血性卒中后神经行为缺陷。

缺血性卒中后, 星形胶质细胞被激活为反应性星形胶质细胞, 虽然反应性星形胶质细胞的抗毒性作用限制病变的扩展并释放营养素, 但其对缺血性卒中的炎症反应可加重缺血性病变, 而且胶质瘢痕的形成也阻碍了神经突重塑<sup>[25]</sup>。BMSC来源的外泌体携带的miR-138-5p通过下调脂质运载蛋白2(lipopocalin 2, LCN2)抑制了星形胶质细胞炎症反应, 减轻了缺血性脑损伤<sup>[26]</sup>。此外, SONG等<sup>[27]</sup>通过体内外实验发现, 来自皮质神经元外泌体的miR-181c-3p通过下调星形胶质细胞中趋化因子(C-X-C基序)配体



1(C-X-C motif ligand 1, CXCL1)的表达,抑制星形胶质细胞炎症应答,从而在缺血性脑损伤中发挥保护作用。

### 3.2 抑制凋亡

细胞凋亡是卒中后缺血半暗带内神经元死亡的主要原因<sup>[28]</sup>。ZHANG等<sup>[29]</sup>通过体内外实验证明,ADMSC衍生的外泌体中的miR-22-3p可通过抑制KDM6B的表达进而抑制BMP2/BMF轴,从而减少缺血性卒中后的神经元凋亡。ZHANG等<sup>[30]</sup>研究发现,与人神经干细胞来源的外泌体相比,干扰素- $\gamma$ (interferon- $\gamma$ , IFN- $\gamma$ )诱导的人神经干细胞来源的外泌体在功能上更优,其可显著减少神经细胞凋亡,促进细胞增殖和存活,在缺血性卒中后发挥保护作用,这可能与其外泌体中的miRNA(例如miR-206、miR-133a-3p和miR-3656)有关。SONG等<sup>[31]</sup>研究发现,M2小胶质细胞衍生的外泌体中的miR-124通过抑制下游靶标泛素特异性蛋白酶14(ubiquitin-specific protease 14, USP14)的表达,进而增强蛋白酶体的活性,增加错误折叠蛋白的降解,显著减少卒中后神经元凋亡,促进神经元存活。M2小胶质细胞还可通过其外泌体中的miR-137抑制Notch1表达,从而减少神经元凋亡,改善神经功能缺陷,减轻脑缺血再灌注损伤<sup>[32]</sup>。此外,星形胶质细胞衍生的外泌体中的miR-34c可通过抑制TLR7下调NF- $\kappa$ B/MAPK信号通路,进而抑制N2a细胞(神经母细胞瘤细胞株)凋亡,促进N2a细胞增殖,缓解脑缺血再灌注损伤<sup>[33]</sup>。

### 3.3 抑制自噬

脑缺血引起的氧气和葡萄糖供应不足会导致自噬过程的激活,适当的自噬反应可降解或回收错误折叠的蛋白质和受损的细胞器,然而,过度激活的自噬反应则会进一步加重细胞损伤<sup>[34]</sup>。有研究表明,星形胶质细胞来源的外泌体可通过抑制自噬来改善缺血性卒中后神经元损伤,从而发挥神经保护作用<sup>[35]</sup>。PEI等<sup>[36]</sup>研究发现,星形胶质细胞衍生的外泌体中的miR-190b表达量升高,其可通过靶向自噬相关基因7(autophagy-related gene 7, Atg7)抑制神经元自噬,进而减少OGD诱导的神经元凋亡。通过体外OGD原代神经元模型以及体内小鼠MCAO模型,KUANG等<sup>[37]</sup>研究发现脂肪来源的间充质干细胞(adipose-derived mesenchymal stem cell, ADMSC)分泌的外泌体中的miR-25-3p通过下调p53-BNIP3信号通路,抑制缺血性卒中后受损神经元的自噬通量,从

而诱导神经保护作用。

### 3.4 增强神经重塑

缺血性卒中发生后,大量神经元死亡并出现去神经支配现象,促进神经突生长并建立新的突触连接是神经功能随着时间推移逐步恢复的基础<sup>[38]</sup>。XIN等<sup>[39]</sup>研究发现,暴露于大鼠缺血脑组织提取物的多能间充质干细胞(mesenchymal stem cell, MSC)外泌体中的miR-133b表达水平升高,miR-133b通过外泌体被转移至神经元和星形胶质细胞中,转移的miR-133b显著增加了神经突分支的数量和总长度。该团队通过体内研究进一步发现,MSC外泌体携带的miR-133b通过抑制星形胶质细胞中结缔组织生长因子(connective tissue growth factor, CTGF)和缺血边界区ras同源基因家族成员A(ras homolog family member A, RhoA)的表达以及促进星形胶质细胞释放促神经突生长的外泌体,显著增强了缺血性卒中后缺血边界区的轴突可塑性并促进了突触重塑<sup>[40-41]</sup>。XIN等<sup>[42]</sup>研究还发现,富含miR-17-92簇的MSC外泌体可通过抑制磷酸酶和张力蛋白同源物(phosphatase and tensin homolog, PTEN)的表达进而激活PI3K/AKT/mTOR信号通路,增强轴突延伸,促进缺血性卒中后的神经功能恢复。

### 3.5 促进髓鞘形成

少突胶质细胞是中枢神经系统的髓鞘形成细胞,在缺血性卒中发生时易受损伤。虽然神经元的可塑性使脑组织经历了大量活动依赖性功能重组,导致患者部分神经功能恢复,然而,髓鞘修复对于神经元网络的正常功能和重组至关重要<sup>[43]</sup>。BMSC衍生的外泌体中的miR-134通过负调节caspase-8抑制大鼠少突胶质细胞凋亡,从而发挥神经保护作用<sup>[44]</sup>。XIN等<sup>[42]</sup>研究发现,富含miR-17-92簇的MSC外泌体可通过抑制PTEN进而激活PI3K/AKT/mTOR信号通路,从而增强卒中后的髓鞘形成,促进神经功能恢复。小鼠脑内皮细胞外泌体中的miR-126也可通过增加髓鞘密度改善2型糖尿病合并中风小鼠的神经认知功能<sup>[45]</sup>,但其具体机制目前尚不完全清楚,有待进一步研究。

### 3.6 促进神经发生

卒中造成的损伤会引起梗死区缺血半暗带的神经发生,然而,这种内源性神经发生过程较慢,因此改善其神经发生是缺血性卒中有前途的治疗方法<sup>[46]</sup>。组蛋白去乙酰化酶6(histone deacetylase 6,

HDAC6)是组蛋白去乙酰化酶家族的成员之一,对染色体的结构修饰和基因表达调控发挥着重要作用。缺血性卒中后抑制HDAC6可显著促进神经发生和减轻神经功能缺陷<sup>[47]</sup>。LING等<sup>[48]</sup>研究发现,人类尿源性干细胞来源的外泌体中的miR-26a可通过抑制HDAC6促进神经干细胞的增殖和神经元分化,进而改善缺血性卒中后的神经功能缺损。此外,GENG等<sup>[23]</sup>研究发现,过表达miR-126的ADSC衍生的外泌体通过增加梗死周围区域双皮质素(表明迁移的成神经细胞的指征)的表达量增强神经发生,从而促进缺血性卒中后神经功能恢复。

### 3.7 促进血管生成

在缺血性卒中发生后,促进血管生成有助于神经功能恢复和卒中患者生存率提高<sup>[49]</sup>。研究表明,ADSC来源的外泌体中的miR-181b-5p通过抑制瞬时受体电位褪黑素7(transient receptor potential melastatin 7, TRPM7)促进OGD后脑血管内皮细胞的迁移以及血管生成,从而在缺血性卒中后发挥保护作用<sup>[50]</sup>。除此之外,ADSC外泌体携带的miR-126可通过上调梗死周围区域脑血管内皮细胞标志物vWF的表达来促进血管生成,进而改善缺血性卒中后神经功能恢复<sup>[23]</sup>。白介素-4(interleukin-4, IL-4)可使BV2小胶质细胞极化为M2表型,与对照组相比,M2表型BV2细胞分泌的外泌体中miR-26a的表达量更高,其可通过促进血管生成来改善缺血性卒中造成的损伤<sup>[51]</sup>。WANG等<sup>[52]</sup>研究发现,富含miR-126的内皮祖细胞(endothelial progenitor cell, EPC)释放的外泌体可通过下调c-caspase3和上调血管内皮生长因子受体2(vascular endothelial growth factor receptor 2, VEGFR2)来增加脑血流量和脑血管密度,促进血管生成和神经发生,从而有利于糖尿病合并缺血性卒中小鼠的神经功能恢复。

## 4 工程化外泌体miRNA靶向递送对缺血性卒中的治疗

综上所述,外泌体中miRNA在治疗缺血性卒中方面具有巨大的潜力,为其治疗缺血性卒中的临床应用提供了实验基础。然而,外泌体虽然可以穿过血脑屏障,但细胞产生的天然外泌体脑靶向能力不足,限制了其临床应用<sup>[53]</sup>。研究发现将外泌体的膜进行工程化修饰可以提高其靶向性<sup>[54]</sup>。ZHANG等<sup>[55]</sup>研究发现,与RGDyk环肽结合的外泌体,可与血脑屏障的整合素 $\alpha v\beta 3$ 结合,将装有miR-210的外泌体

递送至缺血脑组织内,进而促进病变区域血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)的表达,改善缺血性卒中后的血管生成。此外,狂犬病毒糖蛋白(rabies virus glycoprotein, RVG)与溶酶体相关膜糖蛋白2b(lysosome-associated membrane glycoprotein 2b, Lamp2b)融合形成的修饰外泌体,可与血脑屏障的乙酰胆碱受体结合,有效地将miR-124递送到缺血性卒中的梗死部位,从而促进神经祖细胞的神经发生,改善卒中的预后<sup>[56]</sup>。因此,工程化外泌体的深入研究,可能为缺血性卒中的治疗提供新的策略。

## 5 小结与展望

缺血性卒中患者通常伴有神经功能障碍,这严重影响了他们的日常生活质量,给家庭和社会带来了巨大的负担。对于那些超过治疗时间窗的缺血性卒中患者,目前尚无有效的治疗方法,因此寻找新的治疗方法非常必要。外泌体中的miRNA可被传递给受体细胞进而影响受体细胞的功能,同时包裹它的外泌体具有良好的相容性、易穿过血脑屏障、可以进行工程化修饰等特点,因此,外泌体中miRNA有望成为缺血性卒中的有效治疗靶点。然而,尽管多项研究表明外泌体中miRNA在治疗缺血性卒中方面有巨大的潜力,但外泌体的最佳细胞来源尚未确定,而且外泌体中miRNA对缺血性卒中发挥保护作用的机制也尚不完全明确。同时外泌体治疗缺血性卒中的研究仍处于早期阶段,在临床应用前需要进行大规模、多中心的临床试验,以确保外泌体治疗临床应用的安全性和有效性。虽然面临诸多的问题,但是外泌体中miRNA治疗缺血性卒中仍有很大的希望,期望随着外泌体研究的进一步发展,其可能成为缺血性卒中基因治疗的新方向。

### 参考文献 (References)

- [1] FEIGIN V L, STARK B A, JOHNSON C O, et al. Global, regional, and national burden of stroke and its risk factors, 1990–2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019 [J]. *Lancet Neurol*, 2021, 20(10): 795–820.
- [2] MA Q, LI R, WANG L, et al. Temporal trend and attributable risk factors of stroke burden in China, 1990–2019: an analysis for the Global Burden of Disease Study 2019 [J]. *Lancet Public Health*, 2021, 6(12): e897–e906.
- [3] PAPANAGIOTOU P, WHITE C J. Endovascular reperfusion strategies for acute stroke [J]. *JACC Cardiovasc Interv*, 2016, 9(4): 307–17.

- [4] WACHTER R, GROSCHEL K. Acute treatment and secondary prophylaxis of ischemic stroke: an excellent example for personalized medicine [J]. *Internist*, 2018, 59(3): 241-51.
- [5] MEYER M, JUENEMANN M, BRAUN T, et al. Impaired cerebrovascular autoregulation in large vessel occlusive stroke after successful mechanical thrombectomy: a prospective cohort study [J]. *J Stroke Cerebrovasc Dis*, 2020, 29(3): 104596.
- [6] NISAR T, HANUMANTHU R, KHANDELWAL P. Symptomatic intracerebral hemorrhage after intravenous thrombolysis: predictive factors and validation of prediction models [J]. *J Stroke Cerebrovasc Dis*, 2019, 28(11): 104360.
- [7] KALLURI R, LEBLEU V S. The biology, function, and biomedical applications of exosomes [J]. *Science*, 2020, 367(6478): eaau6977.
- [8] PEGTEL D M, GOULD S J. Exosomes [J]. *Annu Rev Biochem*, 2019, 88: 487-514.
- [9] ZHANG J, LI S, LI L, et al. Exosome and exosomal microRNA: trafficking, sorting, and function [J]. *Genomics Proteomics Bioinformatics*, 2015, 13(1): 17-24.
- [10] NOZHOORI S, VAIDYA B, ABBRUSCATO T J. Exosomes in ischemic stroke [J]. *Curr Pharm Des*, 2020, 26(42): 5533-45.
- [11] TIWARI A, MUKHERJEE B, DIXIT M. MicroRNA key to angiogenesis regulation: miRNA biology and therapy [J]. *Curr Cancer Drug Targets*, 2018, 18(3): 266-77.
- [12] CORREIA DE SOUSA M, GJORGJIEVA M, DOLICKA D, et al. Deciphering miRNAs' action through miRNA editing [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, doi: 10.3390/ijms20246249.
- [13] CHEN L, HEIKKINEN L, WANG C, et al. Trends in the development of miRNA bioinformatics tools [J]. *Brief Bioinform*, 2019, 20(5): 1836-52.
- [14] CHEN C M, CHU T H, CHOU C C, et al. Exosome-derived microRNAs in oral squamous cell carcinomas impact disease prognosis [J]. *Oral Oncol*, 2021, 120: 105402.
- [15] CUI G H, ZHU J, WANG Y C, et al. Effects of exosomal miRNAs in the diagnosis and treatment of Alzheimer's disease [J]. *Mech Ageing Dev*, 2021, 200: 111593.
- [16] CHEN J, CHOPP M. Exosome therapy for stroke [J]. *Stroke*, 2018, 49(5): 1083-90.
- [17] LAMBERTSEN K L, FINSEN B, CLAUSEN B H. Post-stroke inflammation-target or tool for therapy [J]? *Acta Neuropathol*, 2019, 137(5): 693-714.
- [18] CAI G, CAI G, ZHOU H, et al. Mesenchymal stem cell-derived exosome miR-542-3p suppresses inflammation and prevents cerebral infarction [J]. *Stem Cell Res Ther*, 2021, 12(1): 2.
- [19] AI Z, CHENG C, ZHOU L, et al. Bone marrow mesenchymal stem cells-derived extracellular vesicles carrying microRNA-221-3p protect against ischemic stroke via ATF3 [J]. *Brain Res Bull*, 2021, 172: 220-8.
- [20] ORIHUELA R, MCPHERSON C A, HARRY G J. Microglial M1/M2 polarization and metabolic states [J]. *Br J Pharmacol*, 2016, 173(4): 649-65.
- [21] ZHAO Y, GAN Y, XU G, et al. Exosomes from MSCs overexpressing microRNA-223-3p attenuate cerebral ischemia through inhibiting microglial M1 polarization mediated inflammation [J]. *Life Sci*, 2020, 260: 118403.
- [22] JIANG M, WANG H, JIN M, et al. Exosomes from miR-30d-5p-ADSCs reverse acute ischemic stroke-induced, autophagy-mediated brain injury by promoting M2 microglial/macrophage polarization [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2018, 47(2): 864-78.
- [23] GENG W, TANG H, LUO S, et al. Exosomes from miRNA-126-modified ADSCs promotes functional recovery after stroke in rats by improving neurogenesis and suppressing microglia activation [J]. *Am J Transl Res*, 2019, 11(2): 780-92.
- [24] ZHANG Z, ZOU X, ZHANG R, et al. Human umbilical cord mesenchymal stem cell-derived exosomal miR-146a-5p reduces microglial-mediated neuroinflammation via suppression of the IRAK1/TRAF6 signaling pathway after ischemic stroke [J]. *Ageing*, 2021, 13(2): 3060-79.
- [25] LIU Z, CHOPP M. Astrocytes, therapeutic targets for neuroprotection and neurorestoration in ischemic stroke [J]. *Prog Neurobiol*, 2016, 144: 103-20.
- [26] DENG Y, CHEN D, GAO F, et al. Exosomes derived from microRNA-138-5p-overexpressing bone marrow-derived mesenchymal stem cells confer neuroprotection to astrocytes following ischemic stroke via inhibition of LCN2 [J]. *J Biol Eng*, 2019, 13: 71.
- [27] SONG H, ZHANG X, CHEN R, et al. Cortical neuron-derived exosomal microRNA-181c-3p inhibits neuroinflammation by downregulating CXCL1 in astrocytes of a rat model with ischemic brain injury [J]. *Neuroimmunomodulation*, 2019, 26(5): 217-33.
- [28] RADAK D, KATSIKI N, RESANOVIC I, et al. Apoptosis and acute brain ischemia in ischemic stroke [J]. *Curr Vasc Pharmacol*, 2017, 15(2): 115-22.
- [29] ZHANG Y, LIU J, SU M, et al. Exosomal microRNA-22-3p alleviates cerebral ischemic injury by modulating KDM6B/BMP2/BMF axis [J]. *Stem Cell Res Ther*, 2021, 12(1): 111.
- [30] ZHANG G, ZHU Z, WANG H, et al. Exosomes derived from human neural stem cells stimulated by interferon gamma improve therapeutic ability in ischemic stroke model [J]. *J Adv Res*, 2020, 24: 435-45.
- [31] SONG Y, LI Z, HE T, et al. M2 microglia-derived exosomes protect the mouse brain from ischemia-reperfusion injury via exosomal miR-124 [J]. *Theranostics*, 2019, 9(10): 2910-23.
- [32] ZHANG D, CAI G, LIU K, et al. Microglia exosomal miRNA-137 attenuates ischemic brain injury through targeting Notch1 [J]. *Ageing*, 2021, 13(3): 4079-95.
- [33] WU W, LIU J, YANG C, et al. Astrocyte-derived exosome-transported microRNA-34c is neuroprotective against cerebral ischemia/reperfusion injury via TLR7 and the NF-kappaB/MAPK pathways [J]. *Brain Res Bull*, 2020, 163: 84-94.
- [34] SHI Q, CHENG Q, CHEN C. The Role of autophagy in the pathogenesis of ischemic stroke [J]. *Curr Neuropharmacol*, 2021, 19(5): 629-40.
- [35] PEI X, LI Y, ZHU L, et al. Astrocyte-derived exosomes suppress autophagy and ameliorate neuronal damage in experimental ischemic stroke [J]. *Exp Cell Res*, 2019, 382(2): 111474.
- [36] PEI X, LI Y, ZHU L, et al. Astrocyte-derived exosomes transfer miR-190b to inhibit oxygen and glucose deprivation-induced autophagy and neuronal apoptosis [J]. *Cell Cycle*, 2020, 19(8): 906-17.
- [37] KUANG Y, ZHENG X, ZHANG L, et al. Adipose-derived mesenchymal stem cells reduce autophagy in stroke mice by extracellular vesicle transfer of miR-25 [J]. *J Extracell Vesicles*, 2020,



- 10(1): e12024.
- [38] SHEN L H, XIN H, LI Y, et al. Endogenous tissue plasminogen activator mediates bone marrow stromal cell-induced neurite remodeling after stroke in mice [J]. *Stroke*, 2011, 42(2): 459-64.
- [39] XIN H, LI Y, BULLER B, et al. Exosome-mediated transfer of miR-133b from multipotent mesenchymal stromal cells to neural cells contributes to neurite outgrowth [J]. *Stem Cells*, 2012, 30(7): 1556-64.
- [40] XIN H, LI Y, LIU Z, et al. MiR-133b promotes neural plasticity and functional recovery after treatment of stroke with multipotent mesenchymal stromal cells in rats via transfer of exosome-enriched extracellular particles [J]. *Stem Cells*, 2013, 31(12): 2737-46.
- [41] XIN H, WANG F, LI Y, et al. Secondary release of exosomes from astrocytes contributes to the increase in neural plasticity and improvement of functional recovery after stroke in rats treated with exosomes harvested from microRNA 133b-overexpressing multipotent mesenchymal stromal cells [J]. *Cell Transplant*, 2017, 26(2): 243-57.
- [42] XIN H, LIU Z, BULLER B, et al. MiR-17-92 enriched exosomes derived from multipotent mesenchymal stromal cells enhance axon-myelin remodeling and motor electrophysiological recovery after stroke [J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2021, 41(5): 1131-44.
- [43] JIA W, KAMEN Y, PIVONKOVA H, et al. Neuronal activity-dependent myelin repair after stroke [J]. *Neurosci Lett*, 2019, 703: 139-44.
- [44] XIAO Y, GENG F, WANG G, et al. Bone marrow-derived mesenchymal stem cells-derived exosomes prevent oligodendrocyte apoptosis through exosomal miR-134 by targeting caspase-8 [J]. *J Cell Biochem*, 2018, doi: 10.1002/jcb.27519.
- [45] VENKAT P, CUI C, CHOPP M, et al. MiR-126 mediates brain endothelial cell exosome treatment-induced neurorestorative effects after stroke in type 2 diabetes mellitus mice [J]. *Stroke*, 2019, 50(10): 2865-74.
- [46] MARQUES B L, CARVALHO G A, FREITAS E M M, et al. The role of neurogenesis in neurorepair after ischemic stroke [J]. *Semin Cell Dev Biol*, 2019, 95: 98-110.
- [47] WANG Z, LENG Y, WANG J, et al. Tubastatin A, an HDAC6 inhibitor, alleviates stroke-induced brain infarction and functional deficits: potential roles of  $\alpha$ -tubulin acetylation and FGF-21 up-regulation [J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 19626.
- [48] LING X, ZHANG G, XIA Y, et al. Exosomes from human urine-derived stem cells enhanced neurogenesis via miR-26a/HDAC6 axis after ischaemic stroke [J]. *J Cell Mol Med*, 2020, 24(1): 640-54.
- [49] SUN P, ZHANG K, HASSAN S H, et al. Endothelium-targeted deletion of microRNA-15a/16-1 promotes poststroke angiogenesis and improves long-term neurological recovery [J]. *Circ Res*, 2020, 126(8): 1040-57.
- [50] YANG Y, CAI Y, ZHANG Y, et al. 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]. *J Mol Neurosci*, 2018, 65(1): 74-83.
- [51] TIAN Y, ZHU P, LIU S, et al. IL-4-polarized BV2 microglia cells promote angiogenesis by secreting exosomes [J]. *Adv Clin Exp Med*, 2019, 28(4): 421-30.
- [52] WANG J, CHEN S, ZHANG W, et al. Exosomes from miRNA-126-modified endothelial progenitor cells alleviate brain injury and promote functional recovery after stroke [J]. *CNS Neurosci Ther*, 2020, 26(12): 1255-65.
- [53] TIAN T, ZHANG H X, HE C P, et al. Surface functionalized exosomes as targeted drug delivery vehicles for cerebral ischemia therapy [J]. *Biomaterials*, 2018, 150: 137-49.
- [54] SALUNKHE S, DHEERAJ, BASAK M, et al. Surface functionalization of exosomes for target-specific delivery and in vivo imaging & tracking: strategies and significance [J]. *J Control Release*, 2020, 326: 599-614.
- [55] ZHANG H, WU J, WU J, et al. Exosome-mediated targeted delivery of miR-210 for angiogenic therapy after cerebral ischemia in mice [J]. *J Nanobiotechnology*, 2019, 17(1): 29.
- [56] YANG J, ZHANG X, CHEN X, et al. Exosome mediated delivery of miR-124 promotes neurogenesis after ischemia [J]. *Mol Ther Nucleic Acids*, 2017, 7: 278-87.