

. 综 述 .

外泌体微小 RNA 在中枢神经系统疾病诊断中作用的研究进展

田 其 综述 李明昌 审校

【关键词】中枢神经系统疾病;诊断;外泌体;微小 RNA

【文章编号】1009-153X(2019)09-0570-03 【文献标志码】A 【中国图书资料分类号】R 651; R 446.1

中枢神经系统(central nervous system, CNS)疾病是指发生于脑和脊髓的疾病,以感觉、运动、意识、植物神经功能障碍为主要表现。本文就外泌体微小 RNA(microRNA, miRNA)在 CNS 疾病诊断中的作用进行综述,为 CNS 疾病诊断提供新的思路和方法。

1 外泌体简介

1.1 外泌体的一般生物特性及发现过程 外泌体是一种由细胞分泌的、大小 30~150 nm 膜状囊泡,由多泡体与细胞膜融合后释放。在电子显微镜下,外泌体通常表现出杯状或碟状的形态^[1]。其外膜与细胞膜相似,含磷脂双分子层,其内含有蛋白质、脂类、mRNA 等生物活性物质,并且还带有许多非编码 RNA,包括 miRNA、长链非编码 RNA(long non-coding RNA, lncRNA)和环状 RNA(circular RNA, circRNA)。外泌体广泛存在于体液和各种细胞中,随着体循环流动,发挥直接或者间接作用。根据细胞的来源,不同的外泌体具有不同的功能,如诱导细胞增殖、免疫抑制、促进细胞分泌和介导细胞间的信号传递等。外泌体能够稳定地存在于机体内是因为它的外膜可以很好的保护内部的 miRNA、蛋白质等免遭相应酶的降解。但也有研究认为,游离的或者其他囊泡 miRNA 可通过与 Ago2 蛋白结合,诱导 miRNA 沉默复合物的形成,通过防止 miRNA 被降解从而传递到远处的靶细胞^[2]。蛋白质、脂质等可以直接发挥作用,miRNA 进入细胞通过调节基因表达从而发挥作用,mRNA 可通过转录生成蛋白质起作用。1983 年,Johnstone 等^[3]在体外研究网织红细胞向成熟红细胞转化时,通过离心从绵羊红细胞上清液中分离得

到的一种小囊泡,称为外泌体。早期,学者们普遍认为外泌体是一种细胞排泄物,将细胞内的废物排出。直到 1996 年,Raposo 等^[4]发现 B 淋巴细胞分泌的外泌体可以呈递抗原,激活 T 淋巴细胞,参与免疫的调节,对外泌体有了新的认识。2007 年,Valadi 等^[5]在研究鼠和人的肥大细胞中首次提出了外泌体中含有遗传物质 miRNA 和 mRNA,并证明这些物质被受体细胞摄取后能在受体细胞内表达,并表现出正常的生物活性。Thakur 等^[6]发现来源于胰腺的外泌体含有稳定的 DNA 双链结构,这些物质被运送到靶细胞后可以表达,从而对靶细胞进行调控,并指出这些 DNA 可能作为癌症诊断的生物标志物。

1.2 外泌体及其内部 miRNA 的形成过程及转运 目前普遍认为,外泌体的形成主要通过以下方式^[7]:细胞膜内陷形成内吞小体,内吞小体之间相互融合成为早期核内体,在内吞转运复合体(endosome sorting complex required for transport, ESCRT)和有关蛋白的调节下,早期核内体再次内陷,包裹细胞内的物质(其中 miRNA、蛋白质、脂类等被选择性的包裹)形成多个腔内小囊泡,构成多泡体(multivesicular bodies, MVB),MVB 与细胞膜融合后释放外泌体通过自有扩散或者血液向远处传播到达靶细胞。外泌体主要通过以下三种方式进入靶细胞:细胞内吞作用或者直接与靶细胞融合,外泌体表面的配体与细胞膜表面的受体特异性结合,外泌体表面的蛋白经蛋白酶水解后的成分可与靶细胞表面的受体结合,从而将内含物转移到靶细胞内进行调控^[8]。

2 外泌体与 CNS 疾病

2.1 外泌体与脑卒中 研究表明,脑卒中的发生发展及治疗都与外泌体有一定的关系。外泌体在脑卒中发生时就已经出现变化。正常生理情况下,许多 miRNA 参与脑稳态的调节,当发生脑卒中时,这些

miRNA 迅速启动调节作用^[9]。脑卒中后,miRNA 能够影响很多的病理生理过程,如细胞增殖、造血过程、新陈代谢和免疫作用等。研究发现,脑卒中后 miRNA 的表达存在异常。例如,miRNA-223 明显升高,miRNA-223 增加 0.1 倍时,脑卒中的危险性增加 0.7 倍,并且 miR-223 的表达越多,病人预后越差。另外,外周血异常表达的 miR-145、miR-210、miR-107 与缺血性脑卒中的诊断和预后有关。在缺血性脑卒中后,血浆 mi-RNA124 和 mi-RNA9 浓度都会明显升高^[10]。miR-124 和 miR-9 都主要表达于脑组织,特异性高,且后者比前者更高^[11]。此外,有学者发现,与兴奋性中毒相关的 miRNA 有 miR-25、miR-29、miR-21、miR-99a、miR-9、miR-134、miR-124 等。如果及时发现这些变化,将有助于早期诊断脑卒中,以便及时治疗、改善脑卒中的预后。

2.2 外泌体与胶质瘤 肿瘤细胞也可分泌外泌体,通过诱导免疫耐受/免疫抑制逃脱机体的免疫,从而促进肿瘤的发生、发展。与神经胶质瘤相关的间叶细胞分泌的外泌体通过转移 miR-1587 增加神经胶质瘤干细胞的致瘤性^[12]。外泌体可诱导机体产生抗肿瘤反应,例如骨髓基质细胞表达的 miR-146b 抑制神经胶质的生长^[13]。Welton 等^[14]在胶质瘤细胞培养过程中发现培养液的上清液中的外泌体可表达胶质瘤细胞特异性 miRNA,促进血管新生蛋白表达和肿瘤细胞的生长和迁移,使肿瘤细胞免疫逃脱。Katakowski 等^[15]发现 miR-146 可降低神经胶质瘤细胞的活性和入侵,而表皮生长因子受体 mRNA 能够使 miR-146 沉默,从而促进胶质瘤的发展。此外,Yeo 等^[16]利用基因芯片技术筛选出恶性胶质瘤病人体内差异表达最高的几种 miRNA,即 miR-574-3p、miR-320、miR-483-5p、miR-484、miR-197、miR-223 和 miR-146a 等,通过大样本数据证实,这些 miRNA 可作为恶性胶质瘤的生物标志物,特异性诊断恶性胶质瘤。Santangelo 等^[17]发现,与正常脑组织和低级别神经胶质瘤相比,高级别神经胶质瘤组织 miR-21、miR-222 和 miR-124-3p 表达水平明显升高。miR-21、miR-222 和 miR-124-3p 可用来区分肿瘤假性进展和肿瘤真性复发的生物学标记,也可能是一种可靠的神经胶质瘤检测和分级方法,同时也可用于诊断及鉴别非胶质细胞来源的恶性肿瘤。由此看来,胶质瘤病人体液外泌体 miRNA 存在不同程度的变化,有望成为诊断胶质瘤的一种新方法。

2.3 外泌体与其他 CNS 疾病 众所周知,神经细胞可以调节大脑血管的完整性,但因为神经与血管的相

互作用非常复杂,对其理解尚不成熟。Xu 等^[18]通过研究斑马鱼和啮齿类动物的脑细胞发现,神经元通过分泌携带有 miR-132 的外泌体,作用于内皮细胞,维持脑血管的完整性,可作为一种细胞间信号,促进神经血管沟通。Banigan 等^[19]发现精神分裂症病人 miRNA-497 的表达明显高于正常人,双相障碍病人 miRNA-29c 显著升高。阿尔茨海默症病人 miR-9、miR-125b、miR-146a、miR-181c、let-7g-5p、miR-191-5p 明显增高,可作为潜在的生物标志物^[20]。

总之,外泌体作为一种由细胞分泌的、能够通过全身循环和局部扩散作用介导细胞间信息交流的载体,对 CNS 疾病的发生发展和传播以及治疗都有着重要的作用。外泌体源性 miRNA 能通过血脑屏障,稳定且不易被降解,敏感性高,有望成为 CNS 疾病早期诊断指标;但是,需要提高脑脊液或血液样本外泌体的获取效率和分离纯化,减少外泌体在提取过程中的分解。此外,外泌体在 CNS 疾病的发生、发展以及参与疾病的机制等尚需进一步研究。

【参考文献】

[1] EL Andaloussi S, Mäger I, Breakefield XO, *et al.* Extracellular vesicles: biology and emerging therapeutic opportunities [J]. Nat Rev Drug Discov, 2013, 12(5): 347-357.

[2] Arroyo JD, Chevillet JR, Kroh EM, *et al.* Argonaute2 complexes carry a population of circulating microRNAs independent of vesicles in human plasma [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2011, 108(12): 5003-5008.

[3] Johnstone RM, Bianchini A, Teng K. Reticulocyte maturation and exosome release: transferrin receptor containing exosomes shows multiple plasma membrane functions [J]. Blood, 1989, 74(5): 1844-1851.

[4] Raposo G, Nijman HW, Stoorvogel W, *et al.* B lymphocytes secrete antigen-presenting vesicles [J]. J Exp Med, 1996, 183(3): 1161-1172.

[5] Valadi H, Ekstrom K, Bossios A, *et al.* Exosome-mediated transfer of mRNAs and microRNAs is a novel mechanism of genetic exchange between cells [J]. Nat Cell Biol, 2007, 9 (6): 654-659.

[6] Thakur BK, Zhang H, Becker A, *et al.* Double-stranded DNA in exosomes: a novel biomarker in cancer detection [J]. Cell Res, 2014, 24(6): 766-769.

[7] Stoorvogel W. Functional transfer of microRNA by exosomes [J]. Blood, 2012, 119(3): 646-648.

[8] Urbanelli L, Magini A, Buratta S, *et al.* Signaling pathways in exosomes biogenesis, secretion and fate [J]. *Genes (Basel)*, 2013, 4(2): 152-170.

[9] Christensen M, Schratt G M. microRNA involvement in developmental and functional aspects of the nervous system and in neurological diseases [J]. *Neurosci Lett*, 2009, 466(2): 55-62.

[10] Rainer TH, Leung LY, Chan C, *et al.* Plasma miR-124-3p and miR-16 concentrations as prognostic markers in acute stroke [J]. *Clin Biochem*, 2016, 49(9): 663-668.

[11] Ji Q, Ji Y, Peng J, *et al.* Increased brain-specific MiR-9 and MiR-124 in the serum exosomes of acute ischemic stroke patients [J]. *PLoS One*, 2016, 11(9): e163645.

[12] Figueroa J, Phillips L M, Shahar T, *et al.* Exosomes from glioma-associated mesenchymal stem cells increase the tumorigenicity of glioma stem-like cells via transfer of miR-1587 [J]. *Cancer Res*, 2017, 77(21): 5808-5819.

[13] Katakowski M, Buller B, Zheng X, *et al.* Exosomes from marrow stromal cells expressing miR-146b inhibit glioma growth [J]. *Cancer Lett*, 2013, 335(1): 201-204.

[14] Welton JL, Khanna S, Giles PJ, *et al.* Proteomics analysis of bladder cancer exosomes [J]. *Mol Cell Proteomics*, 2010, 9(6): 1324-1338.

[15] Katakowski M, Buller B, Zheng X, *et al.* Exosomes from marrow stromal cells expressing miR-146b inhibit glioma growth [J]. *Cancer Lett*, 2013, 335(1): 201-204.

[16] Yeo RW, Lai RC, Zhang B, *et al.* Mesenchymal stem cell: an efficient mass producer of exosomes for drug delivery [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2013, 65(3): 336-341.

[17] Santangelo A, Imbruce P, Gardenghi B, *et al.* A microRNA signature from serum exosomes of patients with glioma as complementary diagnostic biomarker [J]. *J Neurooncol*, 2018, 136(1): 51-62.

[18] Xu B, Zhang Y, Du XF, *et al.* Neurons secrete miR-132-containing exosomes to regulate brain vascular integrity [J]. *Cell Res*, 2017, 27(7): 882-897.

[19] Banigan MG, Kao PF, Kozubek JA, *et al.* Differential expression of exosomal microRNAs in prefrontal cortices of schizophrenia and bipolar disorder patients [J]. *PLoS One*, 2013, 8(1): e48814.

[20] Kumar S, Reddy PH. Are circulating microRNAs peripheral biomarkers for Alzheimer's disease [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2016, 1862(9): 1617-1627.

(2018-04-07 收稿, 2018-12-25 修回)

(上接第 542 页)

综上所述,经鼻中隔黏膜下蝶窦入路神经内镜下垂体腺瘤切除术效果及安全性均良好,术后鼻腔通气功能、嗅觉及生活质量复旧迅速,有利于其实现快速康复。

【参考文献】

[1] 张文华,谢 蒙,王 旋,等. 内镜手术与显微手术治疗垂体腺瘤疗效的 Meta 分析[J]. *中国临床神经外科杂志*, 2015, 20(2): 78-80.

[2] 程 友,薛 飞,王天友,等. 经鼻蝶入路垂体瘤切除术后鼻腔并发症的分析及处置[J]. *中国耳鼻咽喉头颈外科*, 2017, 24(9): 475-478.

[3] Thompson CF, Suh JD, Liu Y, *et al.* Modifications to the endoscopic approach for anterior skull base lesions improve postoperative sinonasal symptoms [J]. *J Neurol Surg B Skull Base*, 2014, 75(1): 65-72.

[4] 母义明. 垂体瘤诊治进展[J]. *解放军医学杂志*, 2017, 42(7): 576-582.

[5] 霍显浩,王立婷,梁 云,等. 显微镜及神经内镜下经鼻蝶

垂体瘤切除术后嗅觉功能障碍对比分析[J]. *临床耳鼻咽喉头颈外科杂志*, 2017, 31(19): 1512-1518.

[6] 左可军,方积乾, Piccirillo, 等. 鼻腔鼻窦结局测试-20 (SNOT-20) 量表中文版的研制[J]. *中华耳鼻咽喉头颈外科杂志*, 2008, 43(10): 751-756.

[7] 赵继宗. 颅脑肿瘤外科学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2004. 223-225.

[8] 董家军,伍 益,彭逸龙,等. 神经内镜下单鼻孔经鼻蝶入路垂体瘤切除术技术探讨[J]. *广东医学*, 2018, 39(1): 111-112, 116.

[9] 孙宝宾,王锡海,顾建森,等. 鼻内镜下单鼻孔经鼻蝶垂体瘤切除术中鼻腔结构的保护[J]. *中国内镜杂志*, 2015, 21(1): 62-64.

[10] 李漫天,吴惠平,黄俊卿,等. 内镜下经鼻蝶窦垂体瘤切除术患者鼻部相关生存质量研究[J]. *临床耳鼻咽喉头颈外科杂志*, 2014, 28(17): 1352-1354.

[11] 程 友,王天友,薛 飞,等. 垂体腺瘤经鼻蝶入路手术鼻中隔根部黏骨膜切口的改良[J]. *中华神经医学杂志*, 2016, 15(2): 199-202.

(2018-07-12 收稿, 2018-10-16 修回)