

## 综述

## 间充质干细胞来源的外泌体在新生儿脑损伤治疗中的研究进展

鲁霞<sup>1</sup>, 王凡<sup>1,2\*</sup><sup>1</sup>兰州大学第二临床医学院, 甘肃兰州 730000; <sup>2</sup>兰州大学第二医院新生儿科, 甘肃兰州 730030

[中图分类号] R722.1; R651.1+5 [文献标志码] A [DOI] 10.11855/j.issn.0577-7402.1984.2025.0514

[声明] 本文所有作者声明无利益冲突

[引用本文] 鲁霞, 王凡. 间充质干细胞来源的外泌体在新生儿脑损伤治疗中的研究进展[J]. 解放军医学杂志, 2025, 50(8): 1038-1044.

[收稿日期] 2024-12-02 [录用日期] 2025-03-13 [上线日期] 2025-05-14

**[摘要]** 间充质干细胞(MSC)是一类具备自我更新能力的多能性祖细胞, 是再生医学领域中一种新兴且颇具潜力的治疗细胞。外泌体(EXO)是由细胞分泌的纳米级颗粒, 携带多种生物活性分子, 是细胞间通信的关键介质。新近研究发现, MSC的治疗效应主要是通过旁分泌机制实现的, 而EXO则被认为是该机制中的关键介质。MSC来源的外泌体(MSC-EXO)展现了与MSC相似的抗炎、抗凋亡及促进组织修复的生物学作用。此外, MSC-EXO还具备特有的生物学特性, 如稳定性、靶向性及纳米尺度等, 使其在中枢神经系统疾病尤其是在新生儿脑损伤治疗方面具有巨大的应用潜力。本文旨在综述EXO的生物学特性, 以及MSC-EXO在新生儿缺氧缺血性脑病和早产儿相关脑损伤中的治疗作用及其潜在机制。

**[关键词]** 间充质干细胞来源的外泌体; 新生儿脑损伤; 新生儿缺氧缺血性脑病; 早产儿

**Advances in the application of mesenchymal stem cell-derived exosomes for the treatment of neonatal brain injury**Lu Xia<sup>1</sup>, Wang Fan<sup>1,2\*</sup><sup>1</sup>Second Clinical College of Lanzhou University, Lanzhou, Gansu 730000, China<sup>2</sup>Department of Neonatology, Second Hospital of Lanzhou University, Lanzhou, Gansu 730030, China

\*Corresponding author, E-mail: wangfan1018@sina.com

This work was supported by the Natural Science Foundation of Gansu Province (23JRRA0977), and the Wu Jieping Medical Foundation Research Project (320.6750.2023-24-3)

**[Abstract]** Mesenchymal stem cells (MSCs) are multifunctional progenitor cells with self-renewal capabilities and have emerged as promising therapeutic cells in the field of regenerative medicine. Exosomes (EXOs), nanoscale vesicles secreted by cells, carry a variety of bioactive molecules and play a crucial role in intercellular communication. Recent studies suggest that the therapeutic effects of MSCs are largely mediated through paracrine mechanisms, with EXOs considered as key effectors in this process. Mesenchymal stem cell-derived exosomes (MSC-EXOs) exhibit biological activities similar to those of MSC, including anti-inflammatory, anti-apoptotic, and tissue repair-promoting properties. In addition, MSC-EXOs possess unique advantages such as structural stability, targeting capability, and nanoscale dimensions, which endow them with significant potential for the treatment of central nervous system (CNS) disorders, particularly neonatal brain injuries. This review summarizes the biological characteristics of EXO and highlights the therapeutic applications and underlying mechanisms of MSC-EXOs in neonatal hypoxic-ischemic encephalopathy and brain injuries associated with preterm birth.

**[Key words]** mesenchymal stem cell-derived exosomes; neonatal brain injury; neonatal hypoxic-ischemic encephalopathy; preterm

降低新生儿死亡率是联合国可持续发展目标 (Sustainable Development Goals, SDG) 的关键部分。

**[基金项目]** 甘肃省自然科学基金(23JRRA0977); 吴阶平医学基金会科研项目(320.6750.2023-24-3)

**[作者简介]** 鲁霞, 硕士研究生, 主要从事新生儿神经系统疾病方面的研究

**[通信作者]** 王凡, E-mail: wangfan1018@sina.com

近年来,随着对新生儿保健工作的重视以及围生期医学、新生儿重症监护水平的进步,新生儿存活率明显提高<sup>[1]</sup>,但早产、围生期重度窒息等导致的脑损伤依然是新生儿健康问题的严峻挑战,尤其是脑损伤引起的慢性神经系统后遗症,如脑瘫、癫痫、自闭症、智力障碍及听力受损等,严重影响着患儿的生命质量<sup>[2]</sup>。对于新生儿脑损伤目前尚无有效的治疗策略,故探索创新的、适用于新生儿的治疗方法至关重要。间充质干细胞(mesenchymal stem cell, MSC)因其易于提取、具有强大的自我再生和免疫调节能力,是当下医学研究的热点<sup>[3-5]</sup>。研究发现, MSC发挥作用的优势并非由于细胞移植或分化,而是通过旁分泌途径,外泌体(exosomes, EXO)被认为是此途径中的关键介质<sup>[6-8]</sup>。大量研究已经明确了间充质干细胞来源的外泌体(mesenchymal stem cell-derived exosomes, MSC-EXO)在中枢神经系统疾病(如成人脑卒中、阿尔茨海默病、创伤性脑损伤等)中的治疗潜能,部分研究已进入临床试验阶段<sup>[9-12]</sup>。本综述旨在概述 MSC-EXO 在新生儿缺氧缺血性脑病、早产儿相关脑损伤中的治疗作用及机制,探讨其在临床应用中的前景,以期对新生儿脑损伤的治疗提供新的思路。

## 1 EXO 简介

细胞外囊泡(extracellular vesicles, EV)是一类由细胞向细胞外环境释放的、包含各种生物活性物质的内体或质膜起源的颗粒物质的总称<sup>[13-14]</sup>,根据其分泌方式可分为 EXO(直径 30~150 nm)、微囊泡或微颗粒(直径 100 nm~1  $\mu\text{m}$ )和凋亡小体(直径 >1  $\mu\text{m}$ )。凋亡小体是细胞凋亡过程中形成的大小不一的碎片,而微囊泡和 EXO 都是由膜衍生而来的分泌型囊泡,其中微囊泡是由质膜直接出芽衍生而成,EXO 则是由多泡内体的膜向内凹陷形成腔内囊泡,继而与细胞膜融合后释放到细胞外而形成的<sup>[14-15]</sup>。

EXO 不仅是各种生物活性物质转移的重要载体,也是细胞间通信的重要介质,广泛分布于体液中(包括血液、尿液、唾液、羊水和母乳等)<sup>[16]</sup>。EXO 的生成在生物进化过程中高度保守,原核及真核细胞均可释放 EXO<sup>[17]</sup>。EXO 的作用取决于其脂质双分子层包裹的、来源于亲本细胞的生物活性物质,如蛋白质、脂质、细胞因子、各种代谢物及核酸[片段化 DNA、长链非编码 RNA、环状 RNA、信使 RNA 及微 RNA(microRNA, miRNA)等],其中蛋白质和 miRNA 是 EXO 发挥生物学功能的关键物质<sup>[15,18]</sup>。

内吞和膜融合是 EXO 将生物活性物质内化到靶细胞中的主要机制:内吞是指靶细胞直接将 EXO 吞

噬入细胞质,后者被溶酶体降解,再被释放排出;膜融合是指 EXO 特征性表达的蛋白与靶细胞表面的受体特异性结合,前者通过脂质疏水区域与靶细胞相互作用,使其脂质双层与靶细胞的细胞膜融合,最终使 EXO 的内容物释放进入靶细胞<sup>[19-20]</sup>。EXO 包裹的生物活性物质受亲本细胞类型、状态、环境以及生物遗传等因素的影响<sup>[21]</sup>。目前关于 EXO 的分离和纯化仍面临极大挑战,2018 年国际细胞外囊泡协会(International Society for Extracellular Vesicles, ISEV)更新了细胞外囊泡研究的最低标准,但其指南主要侧重于表征方面,尚未就内体起源的 EXO 的最佳分离纯化方法达成共识<sup>[22]</sup>。

## 2 MSC-EXO 简介

MSC 是发育早期中胚层来源的、具有自我更新能力的多功能祖细胞,可从骨髓、脂肪组织、脐带血、结缔组织、羊水和胎盘等中提取<sup>[23]</sup>。MSC 不仅可诱导分化为中胚层谱系细胞,如脂肪细胞、骨骼细胞、肌肉细胞等<sup>[24]</sup>,而且能通过重编码分化为神经谱系细胞,包括神经元、星形胶质细胞及少突胶质细胞等<sup>[25]</sup>。除了具有强大的分化能力外, MSC 还具有调节先天性和适应性免疫的能力<sup>[26]</sup>。MSC 疗法是利用干细胞多谱系无限分化的潜能刺激受损组织或器官修复的方法<sup>[23]</sup>,但其临床应用仍存在一些安全性问题,如潜在的致癌性、宿主的细胞排斥反应、肺栓塞以及继发感染等<sup>[27]</sup>。

最近研究发现, MSC 主要通过旁分泌途径发挥作用, EXO 是其主要的旁分泌因子<sup>[6]</sup>, MSC-EXO 则是指由体内不同组织来源的 MSC 分泌的、具有与 MSC 相似功能的 EXO<sup>[28]</sup>。与 MSC 相比, MSC-EXO 具有以下优势: (1)无细胞结构,便于灭菌和储存; (2)不含细胞核,诱发肿瘤的风险较低<sup>[6,15]</sup>; (3)免疫原性低,可减少免疫排斥反应<sup>[28]</sup>; (4)良好的生物相容性使其更易穿过血脑屏障进入大脑<sup>[9]</sup>; (5)纳米级尺寸可降低血管栓塞风险并到达细胞难以到达的生物部位<sup>[29]</sup>; (6)脂质双分子层包裹及特征性表面分子保证了运输稳定性和作用靶向性<sup>[20]</sup>; (7)半衰期较 MSC 更长,可持久发挥治疗作用<sup>[30]</sup>; (8)避免了 MSC 应用中潜在的伦理问题。基于以上优势, MSC-EXO 为中枢神经系统疾病的干细胞替代治疗提供了新的可能。大量研究表明, MSC-EXO 可通过抑制炎症反应和氧化应激、促进血管和髓鞘形成、抑制神经元凋亡及提供营养支持等多种机制发挥脑保护作用<sup>[31-33]</sup>,不仅可用于脑损伤急性期的治疗,还能预防远期神经退行性病变<sup>[34]</sup>。MSC-EXO 在脑损伤中的作用机制见表 1<sup>[10,33-45]</sup>。

表1 MSC-EXO在脑损伤中发挥作用的靶点及相关机制

Tab.1 Therapeutic targets and mechanisms of MSC-EXO in brain injury

| 靶基因或靶细胞           | 具体作用                               | 实验类型      | 给药方式  | MSC-EXO来源 | 文献   |
|-------------------|------------------------------------|-----------|-------|-----------|------|
| 神经元、少突胶质细胞        | 促进神经元和少突胶质细胞的增殖及分化, 增加神经纤维束连接及髓鞘再生 | 细胞实验+动物实验 | 静脉注射  | AD-MSC    | [10] |
| 神经元               | 减少神经元凋亡                            | 动物实验      | 静脉注射  | BM-MSC    | [33] |
| 小胶质细胞、星形胶质细胞      | 改善白质的短期和长期结构异常, 减少胶质增生             | 动物实验      | 腹膜注射  | BM-MSC    | [34] |
| HDAC1             | 抑制神经元凋亡、提高其活力                      | 细胞实验+动物实验 | 腹膜注射  | UC-MSC    | [35] |
| HDAC4             | 抑制神经元凋亡、提高其活力                      | 细胞实验+动物实验 | 脑室注射  | BM-MSC    | [36] |
| JMJD3             | 减轻海马神经元凋亡及炎症                       | 细胞实验+动物实验 | 经鼻给药  | BM-MSC    | [37] |
| 小胶质细胞、星形胶质细胞、OPC  | 减少小胶质细胞和星形胶质细胞活化, 促进OPC成熟和髓鞘形成     | 动物实验      | 腹腔注射  | BM-MSC    | [38] |
| 神经元、小胶质细胞         | 减轻神经元凋亡及炎症反应                       | 动物实验      | 心室注射  | BM-MSC    | [39] |
| STAT3             | 诱导M2型小胶质细胞极化, 调节神经炎症               | 细胞实验+动物实验 | 心室注射  | BM-MSC    | [40] |
| p38MAPK/p65NF-κB轴 | 调节神经炎症                             | 动物实验      | 脑室注射  | BM-MSC    | [41] |
| 人脐静脉内皮细胞          | 促进血管生成                             | 细胞实验      | 体外共培养 | AD-MSC    | [42] |
| MAPK/ERK轴         | 促进OPC成熟和髓鞘再生                       | 细胞实验      | 体外共培养 | WJ-MSC    | [43] |
| TP53、TAOK1        | 抑制炎症和凋亡, 促进OPC成熟                   | 细胞实验      | 体外共培养 | WJ-MSC    | [44] |
| 神经元、星形胶质细胞        | 减少神经元死亡, 抑制星形胶质细胞过度增生, 促进髓鞘形成      | 细胞实验+动物实验 | 脑室注射  | UC-MSC    | [45] |

MSC-EXO. 间充质干细胞来源的外泌体; AD-MSC. 脂肪间充质干细胞; BM-MSC. 骨髓间充质干细胞; HDAC1. 组蛋白脱乙酰酶1; UC-MSC. 脐血间充质干细胞; HDAC4. 组蛋白脱乙酰酶4; JMJD3. Jumonji结构域3; OPC. 少突胶质细胞前体细胞; STAT3. 信号转导及转录激活因子3; p38MAPK/p65NF-κB. p38促分裂原活化的蛋白质激酶/p65核转录因子-κB; MAPK/ERK. 促分裂原活化的蛋白质激酶/胞外信号调节激酶; WJ-MSC. 脐带特殊结缔组织间充质干细胞; TP53. 肿瘤蛋白p53; TAOK1. 氨基酸蛋白激酶1

### 3 MSC-EXO在新生儿脑损伤中的作用

新生儿脑损伤是指早产儿或足月儿出生时或出生后不久由产伤、卒中、神经系统感染、缺氧缺血以及代谢异常等因素引起的神经系统功能障碍, 临床表现为意识水平改变、癫痫发作、肌张力差及中枢性呼吸衰竭等, 是导致新生儿死亡及神经系统致残的主要原因<sup>[46-47]</sup>。胎龄>35周患儿常见的脑损伤类型包括缺氧缺血性脑病、感染、癫痫持续状态和遗传代谢性疾病等<sup>[48]</sup>; <35周患儿(出生体重<1500g)由于大脑结构发育不成熟, 主要损伤类型为脑白质损伤(white matter injury, WMI)、脑室内出血(intraventricular hemorrhage, IVH)及出血后脑积水<sup>[49-50]</sup>。长期以来, 研究者一直致力于探索能够减轻脑损伤或促进未成熟脑组织修复的治疗方法, 而MSC-EXO则为此提供了新的策略和方向。

**3.1 新生儿缺氧缺血性脑病** 围生期重度窒息引起的缺氧缺血性脑病是新生儿死亡和严重神经系统后遗症的重要原因。亚低温治疗(therapeutic hypothermia, TH)是目前最有效的神经保护策略, 但仍存在诸多问题, 如治疗时间窗窄、低温治疗的深度和持续时间较难把握等<sup>[51]</sup>。有研究提出在中低收入国家亚低温治疗不但没有减少患儿死亡或中重

度残疾的主要结局, 反而增高了其病死率<sup>[52]</sup>, 因此寻找更有效的新型神经保护策略至关重要。

MSC-EXO在缺氧缺血性脑病中可通过减轻神经元凋亡、增强神经可塑性, 以及调节免疫反应、抑制神经炎症等发挥保护作用, 而miRNA可能是介导MSC-EXO发挥以上保护作用的关键生物活性物质。Han等<sup>[35]</sup>发现, MSC-EXO可通过miR-410靶向抑制神经元中调节基因转录的组蛋白脱乙酰酶1(histone deacetylase 1, HDAC1), 增加下游凋亡调节因子的表达, 从而减少缺血神经元的凋亡并提高其活力, 最终减轻了脑水肿并减少了脑梗死面积。Shen等<sup>[36]</sup>发现, MSC-EXO还可通过miR-410靶向抑制组蛋白脱乙酰酶4(HDAC4), 导致原代神经元损伤及缺氧缺血性脑损伤(hypoxic ischemic brain damage, HIBD)小鼠下游Wnt/β-连环蛋白(β-catenin)信号通路失活, 继而减少神经细胞凋亡, 这不仅减轻了HIBD小鼠脑组织的病理结构损伤, 也增强了模型小鼠的学习和记忆能力。组蛋白去甲基化酶3(Jumonji domain containing proteins, JMJD3)是调节基因转录的酶, 已知其可促进下游B细胞淋巴瘤-2相关X蛋白(Bax)、半胱天冬酶-3等凋亡蛋白的表达, 而Luo等<sup>[37]</sup>的研究表明, MSC-EXO可沉默JMJD3, 抑制下游Bax、半胱天冬酶-3等凋亡蛋白的表达, 从而阻止氧糖剥

夺诱导的海马神经元凋亡和炎症,明显缓解缺血缺氧诱导的海马组织损伤,并减少脑梗死面积。

MSC-EXO对小胶质细胞活性和极化具有重要的调节作用。小胶质细胞存在两种功能相反的极化表型:促进炎症和损伤的M1型与抗炎和具有保护作用的M2型,其M1/M2型极化状态与缺血缺氧后脑损伤的程度密切相关<sup>[53]</sup>。Kaminski等<sup>[38]</sup>发现, MSC-EXO能明显增加HIBD小鼠脑组织中的神经元密度、促进血管生长,并能增加与纹状体并列的神经源性脑室下区增殖细胞的数量,这可能与促进星形胶质细胞表达各种神经生长因子、增加M2型标志物的表达,进而形成抗炎和促修复微环境有关。Xin等<sup>[39]</sup>证实, MSC-EXO经心室给药可明显减轻HIBD小鼠的脑水肿、脑梗死、皮质损伤及后期的神经行为反应。进一步的体外研究表明, MSC-EXO可通过miR-21a-5p靶向抑制小胶质细胞中信号转导及转录激活因子3(signal transducer and activator of transcription 3, STAT3)的磷酸化<sup>[40]</sup>,该转录因子在神经炎症中发挥关键作用。当STAT3被抑制时,氧糖剥夺状态下小胶质细胞中促炎细胞因子[如肿瘤坏死因子- $\alpha$ (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )、白细胞介素-1 $\beta$ (interleukin-1 $\beta$ , IL-1 $\beta$ )、一氧化氮合酶等]的表达均被下调,同时抗炎因子[如IL-10、转化生长因子- $\beta$ (transforming growth factor- $\beta$ , TGF- $\beta$ )等]的产生增加。Shu等<sup>[41]</sup>还发现, MSC-EXO可通过抑制经典的p38促分裂原活化的蛋白质激酶/p65核转录因子- $\kappa$ B(p38 mitogen-activated protein kinase/p65 nuclear factor kappa-B, p38MAPK/p65NF- $\kappa$ B)信号通路,降低氧糖剥夺状态下M1型细胞因子IL-6、TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 的表达,增加M2型细胞因子TGF- $\beta$ <sub>1</sub>、IL-4、IL-10的表达,通过调节免疫微环境而明显改善缺血缺氧诱导的神经元凋亡和神经炎症损伤。

MSC-EXO还可通过促进血管生成减轻HIBD。Li等<sup>[54]</sup>的研究表明,羊水来源的EXO可促进氧糖剥夺后人脐静脉内皮细胞的管状形成和迁移,并明显增加HIBD小鼠大脑皮质缺氧诱导因子-1 $\alpha$ (hypoxia inducible factor-1 $\alpha$ , HIF-1 $\alpha$ )和血管内皮生长因子的表达,从而增强小鼠新生血管形成和对缺氧的耐受能力。Gao等<sup>[42]</sup>进一步证实,骨髓MSC-EXO在低氧条件下可促进人脐静脉内皮细胞增殖、迁移和管状形成,最终改善HIBD小鼠的神经功能预后。这种促进血管再生的作用与MSC-EXO在心血管事件中发挥保护作用的机制类似<sup>[55]</sup>。

**3.2 早产儿相关WMI和IVH** 早产儿是指胎龄(gestational age, GA)<37周的新生儿,可分为晚期早产儿(34周 $\leq$ GA<37周)、中度早产儿(32周 $\leq$ GA<34周)、非常早产儿(28周 $\leq$ GA<32周)以及极早早产儿

(GA<28周)。据统计,与早产有关的并发症是我国新生儿及5岁以下儿童死亡的主要原因<sup>[56]</sup>,其中神经系统并发症的发生率为25%~30%,在这部分患儿中10%~15%可发展为痉挛性瘫痪,25%~30%存在严重的智力低下、注意力缺陷、行为或心理异常等<sup>[57]</sup>。如何减轻与早产相关的脑损伤,是当下医学面临的重大挑战。

WMI是早产儿最常见的脑损伤类型,通常与缺氧或高氧、感染及酸中毒有关,脑室内白质软化是其最严重的损伤类型<sup>[58]</sup>。在妊娠晚期,髓鞘形成及脑血管的自主调节功能逐渐成熟,然而早产往往导致少突胶质细胞前体细胞(oligodendrocyte precursor cell, OPC)成熟受损及神经元死亡增多,从而引发相关病变<sup>[59]</sup>。研究发现, MSC可通过促进OPC成熟和髓鞘形成,提高白质相关标志物的表达,改善梗死区白质束的连接,从而预防成人脑缺血后白质损伤导致的功能障碍<sup>[60]</sup>。Joerger-Messerli等<sup>[43]</sup>从脐带特殊结缔组织中提取MSC-EXO,与OPC共培养后发现, OPC标志物血小板衍生生长因子 $\alpha$ 的表达水平降低,髓鞘碱性蛋白的表达水平明显升高;该研究团队通过下一代测序和通路富集分析发现, MSC-EXO携带的miRNA通过促分裂原活化的蛋白质激酶/胞外信号调节激酶(mitogen-activated protein kinase/extracellular signal-regulated kinase, MAPK/ERK)信号通路可驱动OPC成熟,从而促进髓鞘再生。进一步的荧光素酶实验验证了肿瘤蛋白p53(tumor protein p53, TP53)和氨基酸蛋白激酶1(TAO kinase 1, TAOK1)是miRNA作用的靶基因,这些基因编码的蛋白质可促进细胞凋亡和炎症反应,而MSC-EXO通过抑制TP53和TAOK1,阻止了线粒体凋亡级联反应并促进了OPC成熟<sup>[44]</sup>。早产儿的脑白质易受炎症和氧化应激的影响,而MSC-EXO可沉默参与细胞凋亡和炎症的TP53、TAOK1基因,从而抑制 $\alpha$ 干扰素(IFN- $\alpha$ )的产生,并阻止线粒体膜电位去极化引起的神经元线粒体凋亡级联反应<sup>[44]</sup>。为进一步明确MSC-EXO在体内的保护作用,次年该团队在早产儿白质损伤模型小鼠中证实, MSC-EXO经鼻给药可靶向到大脑并在损伤部位停留至少24 h,长时间滞留的MSC-EXO可明显减少白质损伤小鼠脑组织中活化的小胶质细胞数量,并上调缺血局部OPC成熟标志物髓鞘碱性蛋白的表达<sup>[61]</sup>。综上, MSC-EXO可通过减轻神经炎症和促进OPC成熟在早产儿脑白质损伤中发挥双重保护作用。另外,为明确MSC-EXO对早产儿脑白质损伤的长期作用,研究者通过弥散张量磁共振成像和行为测试对脑白质损伤后的青年及成年鼠进行结构和功能检测,结果发现MSC-EXO干预不仅明显提高了衡量成年鼠脑白质完整性的各项异性分数,还缓

解了青年和成年鼠的认知障碍,表明MSC-EXO对早产儿脑白质结构和功能均具有长期的保护潜能<sup>[30]</sup>。

IVH是由生发基质未成熟的血管破裂引起的,出血量较大时可经室管膜进入侧脑室,是极早产儿常见且严重的疾病之一<sup>[62]</sup>。Ahn等<sup>[63]</sup>发现, MSC可明显减少暴露于凝血酶下的神经元死亡,改善IVH模型小鼠髓鞘形成缺陷及进行性脑室扩大<sup>[45]</sup>。该研究者进一步探讨了MSC-EXO是否也具有相似的作用,体外共培养结果发现MSC-EXO同样可对暴露于凝血酶下的神经元发挥保护作用,脑源性神经营养因子(brain-derived neurotrophic factor, BDNF)可能是MSC-EXO发挥该作用的关键介质;在BDNF的介导下, MSC-EXO可抑制IVH模型小鼠脑室周围炎症反应和星形胶质细胞的过度增生、增加髓鞘形成和神经发生,最终减轻脑出血导致的脑室进行性扩大及脑功能障碍<sup>[45]</sup>。综上, MSC-EXO可能是替代MSC治疗早产儿WMI和IVH有价值的替代方案,但仍需大量实验深入研究,以推动MSC-EXO向临床实践的科学转化。

#### 4 总结与展望

作为天然的脂质双分子层包裹的纳米颗粒, EXO不仅是一种新型的治疗工具,同时也是一种极具前景的下一代药物递送载体。研究者对生物工程EXO与两种临床已获批准的药物合成递送载体(聚乳酸-羟基乙酸纳米颗粒、脂质体)的miRNA药物负载能力进行了量化比较,结果显示EXO在促进OPC诱导分化方面具有更显著的效果,且在穿越血脑屏障以促进髓鞘再生方面表现更为优异<sup>[64]</sup>。MSC-EXO同样具有治疗和递送药物的双重作用<sup>[65]</sup>。Baak等<sup>[66]</sup>已在新生儿围生期动脉缺血性卒中(perinatal arterial ischaemic stroke, PAIS)患儿中证实了MSC给药的可行性及安全性,未来需进一步验证MSC-EXO作为治疗方法或药物递送载体在新生儿临床应用中的安全性及有效性。

尽管MSC-EXO在临床应用中具有潜在的价值,但其生产过程仍面临若干挑战,如批量生产的MSC-EXO的质量控制问题。尽管已建立标准化的生产流程,但由于原始MSC的有限可扩展性和异质性,仅有部分产品表现出治疗潜力<sup>[67]</sup>。此外,在动物模型中, MSC-EXO的给药途径包括静脉注射、脑室注射和鼻内给药等,其中鼻内给药作为一种无创的给药方式,在新生儿治疗中具有潜在的应用前景。然而,关于MSC-EXO的最佳给药途径、剂量及给药频率等仍需进一步研究。尽管MSC在临床前研究中显示出显著的治疗效果,但在临床试验中,其治疗效果并不一致<sup>[68]</sup>,因此MSC-EXO在临床应用中的疗效尚需

进一步验证。

综上所述, MSC-EXO凭借其独特优势,在新生儿脑损伤治疗领域显示出了极大的潜力。预计在未来,该方法有望成为靶向治疗或与其他治疗手段联合应用的新策略,具有广阔的应用前景。然而,为了实现其临床应用,仍需对MSC-EXO的临床生产、纯化和表征过程进行标准化,同时对其特性进行优化,如提升其迁移能力、靶向性和治疗效果。这些方面尚需众多科研工作者的深入研究和不懈努力。

#### 【参考文献】

- [1] Ou Z, Yu D, Liang Y, *et al*. Global trends in incidence and death of neonatal disorders and its specific causes in 204 countries/territories during 1990-2019[J]. BMC Public Health, 2022, 22(1): 360.
- [2] Lee BL, Glass HC. Cognitive outcomes in late childhood and adolescence of neonatal hypoxic-ischemic encephalopathy[J]. Clin Exp Pediatr, 2021, 64(12): 608-618.
- [3] Shariati A, Nemati R, Sadeghipour Y, *et al*. Mesenchymal stromal cells (MSCs) for neurodegenerative disease: a promising frontier[J]. Eur J Cell Biol, 2020, 99(6): 151097.
- [4] 高洋, 秦合伟, 刘丹丹. 间充质干细胞调控免疫反应治疗创伤性脑损伤的作用机制研究进展[J]. 解放军医学杂志, 2024, 49(11): 1327-1335.
- [5] 王成刚, 李生振, 史嘉敏, 等. 体外人多能干细胞向间充质样细胞分化、鉴定和纯化方法的研究进展[J]. 吉林大学学报(医学版), 2023, 49(6): 1655-1661.
- [6] Elahi FM, Farwell DG, Nolte JA, *et al*. Preclinical translation of exosomes derived from mesenchymal stem/stromal cells[J]. Stem Cells, 2020, 38(1): 15-21.
- [7] 王达利. 关于间充质干细胞外泌体与创面微环境研究的一些思考[J]. 中华烧伤与创面修复杂志, 2023, 39(2): 101-105.
- [8] 丁健, 宋亮, 阮柏, 等. 间充质干细胞及其修饰体在肝纤维化治疗中的作用研究进展[J]. 解放军医学杂志, 2023, 48(5): 609-614.
- [9] Guy R, Offen D. Promising opportunities for treating neurodegenerative diseases with mesenchymal stem cell-derived exosomes[J]. Biomolecules, 2020, 10(9): 1320.
- [10] Otero-Ortega L, Laso-García F, Frutos MCG, *et al*. Low dose of extracellular vesicles identified that promote recovery after ischemic stroke[J]. Stem Cell Res Ther, 2020, 11(1): 70.
- [11] Williams AM, Dennahy IS, Bhatti UF, *et al*. Mesenchymal stem cell-derived exosomes provide neuroprotection and improve long-term neurologic outcomes in a swine model of traumatic brain injury and hemorrhagic shock[J]. J Neurotrauma, 2019, 36(1): 54-60.
- [12] Elia CA, Tamborini M, Rasile M, *et al*. Intracerebral injection of extracellular vesicles from mesenchymal stem cells exerts reduced A $\beta$  plaque burden in early stages of a preclinical model of Alzheimer's disease[J]. Cells, 2019, 8(9): 1059.
- [13] 郑杭彬, 许光兰, 李国生, 等. 细胞外囊泡在慢性阻塞性肺疾病中的作用研究进展[J]. 解放军医学杂志, 2023, 48(2): 231-236.
- [14] Kalluri R, LeBleu VS. The biology, function, and biomedical applications of exosomes[J]. Science, 2020, 367(6478): eaau6977.
- [15] van Niel G, D'Angelo G, Raposo G. Shedding light on the cell

- biology of extracellular vesicles[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2018, 19(4): 213-228.
- [16] Sanz-Ros J, Mas-Bargues C, Romero-García N, *et al.* Extracellular vesicles as therapeutic resources in the clinical environment[J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(3): 2344.
- [17] Nahui Palomino RA, Vanpouille C, Costantini PE, *et al.* Microbiota-host communications: bacterial extracellular vesicles as a common language[J]. *PLoS Pathog*, 2021, 17(5): e1009508.
- [18] Massa M, Croce S, Campanelli R, *et al.* Clinical applications of mesenchymal stem/stromal cell derived extracellular vesicles: therapeutic potential of an acellular product[J]. *Diagnostics (Basel)*, 2020, 10(12): 999.
- [19] O'Brien K, Breyné K, Ughetto S, *et al.* RNA delivery by extracellular vesicles in mammalian cells and its applications[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2020, 21(10): 585-606.
- [20] Goryunov K, Ivanov M, Kulikov A, *et al.* A review of the use of extracellular vesicles in the treatment of neonatal diseases: current state and problems with translation to the clinic[J]. *Int J Mol Sci*, 2024, 25(5): 2879.
- [21] Esmaeili A, Alini M, Baghaban Eslaminejad M, *et al.* Engineering strategies for customizing extracellular vesicle uptake in a therapeutic context[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2022, 13(1): 129.
- [22] Théry C, Witwer KW, Aikawa E, *et al.* Minimal information for studies of extracellular vesicles 2018 (MISEV2018): a position statement of the international society for extracellular vesicles and update of the MISEV2014 guidelines[J]. *J Extracell Vesicles*, 2018, 7(1): 1535750.
- [23] Hernández R, Jiménez-Luna C, Perales-Adán J, *et al.* Differentiation of human mesenchymal stem cells towards neuronal lineage: clinical trials in nervous system disorders[J]. *Biomol Ther (Seoul)*, 2020, 28(1): 34-44.
- [24] Nauta AJ, Fibbe WE. Immunomodulatory properties of mesenchymal stromal cells[J]. *Blood*, 2007, 110(10): 3499-3506.
- [25] Ntege EH, Sunami H, Shimizu Y. Advances in regenerative therapy: a review of the literature and future directions[J]. *Regen Ther*, 2020, 14: 136-153.
- [26] Nitkin CR, Rajasingh J, Pisano C, *et al.* Stem cell therapy for preventing neonatal diseases in the 21st century: current understanding and challenges[J]. *Pediatr Res*, 2020, 87(2): 265-276.
- [27] Gazdic M, Volarevic V, Arsenijevic N, *et al.* Mesenchymal stem cells: a friend or foe in immune-mediated diseases[J]. *Stem Cell Rev Rep*, 2015, 11(2): 280-287.
- [28] 居裔昆, 方柏荣. 脂肪间充质干细胞外囊泡促进创面血管生成机制的研究进展[J]. *中华烧伤与创面修复杂志*, 2023, 39(1): 85-90.
- [29] Gowen A, Shahjin F, Chand S, *et al.* Mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles: challenges in clinical applications[J]. *Front Cell Dev Biol*, 2020, 8: 149.
- [30] Xunian Z, Kalluri R. Biology and therapeutic potential of mesenchymal stem cell-derived exosomes[J]. *Cancer Sci*, 2020, 111(9): 3100-3110.
- [31] Liu YY, Li Y, Wang L, *et al.* Mesenchymal stem cell-derived exosomes regulate microglia phenotypes: a promising treatment for acute central nervous system injury[J]. *Neural Regen Res*, 2023, 18(8): 1657-1665.
- [32] Zhang Y, Zhang Y, Chopp M, *et al.* Mesenchymal stem cell-derived exosomes improve functional recovery in rats after traumatic brain injury: a dose-response and therapeutic window study[J]. *Neurorehabil Neural Repair*, 2020, 34(7): 616-626.
- [33] Gao X, Xiong Y, Li Q, *et al.* Extracellular vesicle-mediated transfer of miR-21-5p from mesenchymal stromal cells to neurons alleviates early brain injury to improve cognitive function via the PTEN/Akt pathway after subarachnoid hemorrhage[J]. *Cell Death Dis*, 2020, 11(5): 363.
- [34] Drommelschmidt K, Serdar M, Bendix I, *et al.* Mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles ameliorate inflammation-induced preterm brain injury[J]. *Brain Behav Immun*, 2017, 60: 220-232.
- [35] Han J, Yang S, Hao X, *et al.* Extracellular vesicle-derived microRNA-410 from mesenchymal stem cells protects against neonatal hypoxia-ischemia brain damage through an HDAC1-dependent EGR2/Bcl2 axis[J]. *Front Cell Dev Biol*, 2021, 8: 579236.
- [36] Shen M, Zheng R, Kan X. Neuroprotection of bone marrow-derived mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicle-enclosed miR-410 correlates with HDAC4 knockdown in hypoxic-ischemic brain damage[J]. *Neurochem Res*, 2022, 47(10): 3150-3166.
- [37] Luo H, Huang F, Huang Z, *et al.* MicroRNA-93 packaged in extracellular vesicles from mesenchymal stem cells reduce neonatal hypoxic-ischemic brain injury[J]. *Brain Res*, 2022, 1794: 148042.
- [38] Kaminski N, Köster C, Mouloud Y, *et al.* Mesenchymal stromal cell-derived extracellular vesicles reduce neuroinflammation, promote neural cell proliferation and improve oligodendrocyte maturation in neonatal hypoxic-ischemic brain injury[J]. *Front Cell Neurosci*, 2020, 14: 601176.
- [39] Xin D, Li T, Chu X, *et al.* Mesenchymal stromal cell-derived extracellular vesicles modulate microglia/macrophage polarization and protect the brain against hypoxia-ischemic injury in neonatal mice by targeting delivery of miR-21a-5p[J]. *Acta Biomater*, 2020, 113: 597-613.
- [40] Xin DQ, Zhao YJ, Li TT, *et al.* The delivery of miR-21a-5p by extracellular vesicles induces microglial polarization via the STAT3 pathway following hypoxia-ischemia in neonatal mice[J]. *Neural Regen Res*, 2022, 17(10): 2238-2246.
- [41] Shu J, Jiang L, Wang M, *et al.* Human bone marrow mesenchymal stem cells-derived exosomes protect against nerve injury via regulating immune microenvironment in neonatal hypoxic-ischemic brain damage model[J]. *Immunobiology*, 2022, 227(3): 152178.
- [42] Gao W, He R, Ren J, *et al.* Exosomal HMGB1 derived from hypoxia-conditioned bone marrow mesenchymal stem cells increases angiogenesis via the JNK/HIF-1 $\alpha$  pathway[J]. *FEBS Open Bio*, 2021, 11(5): 1364-1373.
- [43] Joerger-Messerli MS, Thomi G, Haesler V, *et al.* Human Wharton's jelly mesenchymal stromal cell-derived small extracellular vesicles drive oligodendroglial maturation by restraining MAPK/ERK and notch signaling pathways[J]. *Front Cell Dev Biol*, 2021, 9: 622539.
- [44] Tscherrig V, Cottagnoud S, Haesler V, *et al.* MicroRNA cargo in Wharton's jelly MSC small extracellular vesicles: key functionality to *in vitro* prevention and treatment of premature white matter injury[J]. *Stem Cell Rev Rep*, 2023, 19(7): 2447-2464.
- [45] Ahn SY, Sung DK, Kim YE, *et al.* Brain-derived neurotrophic factor mediates neuroprotection of mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles against severe intraventricular hemorrhage in newborn rats[J]. *Stem Cells Transl Med*, 2021, 10(3): 374-384.

- [46] Gonzalez FF, Ferriero DM. Therapeutics for neonatal brain injury [J]. *Pharmacol Ther*, 2008, 120(1): 43-53.
- [47] Gale C, Statnikov Y, Jawad S, *et al*. Neonatal brain injuries in England: population-based incidence derived from routinely recorded clinical data held in the national neonatal research database[J]. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*, 2018, 103(4): F301-F306.
- [48] Aslam S, Strickland T, Molloy EJ. Neonatal encephalopathy: need for recognition of multiple etiologies for optimal management[J]. *Front Pediatr*, 2019, 7: 142.
- [49] Haffner DN, Sankovic A. A neurologist's guide to neonatal neurodevelopmental assessments and preterm brain injury[J]. *Semin Pediatr Neurol*, 2022, 42: 100974.
- [50] Brew N, Walker D, Wong FY. Cerebral vascular regulation and brain injury in preterm infants[J]. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2014, 306(11): R773-R786.
- [51] Sabir H, Bonifacio SL, Gunn AJ, *et al*. Newborn brain society guidelines and publications committee. An answered questions regarding therapeutic hypothermia for neonates with neonatal encephalopathy[J]. *Semin Fetal Neonatal Med*, 2021, 26(5): 101257.
- [52] Thayyil S, Pant S, Montaldo P, *et al*. Hypothermia for moderate or severe neonatal encephalopathy in low-income and middle-income countries (HELIX): a randomised controlled trial in India, Sri Lanka, and Bangladesh[J]. *Lancet Glob Health*, 2021, 9(9): e1273-e1285
- [53] McNamara NB, Miron VE. Microglia in developing white matter and perinatal brain injury[J]. *Neurosci Lett*, 2020, 714: 134539
- [54] Li P, Lu X, Hu J, *et al*. Human amniotic fluid derived-exosomes alleviate hypoxic encephalopathy by enhancing angiogenesis in neonatal mice after hypoxia[J]. *Neurosci Lett*, 2022, 768: 136361.
- [55] Sun J, Shen H, Shao L, *et al*. HIF-1 $\alpha$  overexpression in mesenchymal stem cell-derived exosomes mediates cardioprotection in myocardial infarction by enhanced angiogenesis [J]. *Stem Cell Res Ther*, 2020, 11(1): 373.
- [56] Song P, Theodoratou E, Li X, *et al*. Causes of death in children younger than five years in China in 2015: an updated analysis[J]. *J Glob Health*, 2016, 6(2): 020802.
- [57] Volpe JJ. Neurobiology of periventricular leukomalacia in the premature infant[J]. *Pediatr Res*, 2001, 50(5): 553-562.
- [58] Wellmann S, Bühner C, Schmitz T. Focal necrosis and disturbed myelination in the white matter of newborn infants: a tale of too much or too little oxygen[J]. *Front Pediatr*, 2015, 2: 143.
- [59] Fleiss B, Gressens P, Stolp HB. Cortical gray matter injury in encephalopathy of prematurity: link to neurodevelopmental disorders[J]. *Front Neurol*, 2020, 11: 575.
- [60] Otero-Ortega L, Gutiérrez-Fernández M, Ramos-Cejudo J, *et al*. White matter injury restoration after stem cell administration in subcortical ischemic stroke[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2015, 6(1): 121.
- [61] Tscherrig V, Steinfurt M, Haesler V, *et al*. All but small: miRNAs from Wharton's jelly-mesenchymal stromal cell small extracellular vesicles rescue premature white matter injury after intranasal administration[J]. *Cells*, 2024, 13(6): 543.
- [62] Xiao T, Hu L, Chen H, *et al*. The performance of the practices associated with the occurrence of severe intraventricular hemorrhage in the very premature infants: data analysis from the Chinese neonatal network[J]. *BMC Pediatr*, 2024, 24(1): 394.
- [63] Ahn SY, Chang YS, Sung DK, *et al*. Pivotal role of brain-derived neurotrophic factor secreted by mesenchymal stem cells in severe intraventricular hemorrhage in newborn rats[J]. *Cell Transplant*, 2017, 26(1): 145-156.
- [64] Osorio-Querejeta I, Carregal-Romero S, Ayerdi-Izquierdo A, *et al*. MiR-219a-5p enriched extracellular vesicles induce OPC differentiation and EAE improvement more efficiently than liposomes and polymeric nanoparticles[J]. *Pharmaceutics*, 2020, 12(2): 186.
- [65] Delavoglia E, Ntentakis DP, Cortinas JA, *et al*. Mesenchymal stromal/stem cell extracellular vesicles and perinatal injury: one formula for many diseases[J]. *Stem Cells*, 2022, 40(11): 991-1007.
- [66] Baak LM, Wagenaar N, van der Aa NE, *et al*. Feasibility and safety of intranasally administered mesenchymal stromal cells after perinatal arterial ischaemic stroke in the Netherlands (PASSIoN): a first-in-human, open-label intervention study[J]. *Lancet Neurol*, 2022, 21(6): 528-536.
- [67] Madel RJ, Börger V, Dittrich R, *et al*. Independent human mesenchymal stromal cell-derived extracellular vesicle preparations differentially attenuate symptoms in an advanced murine graft-versus-host disease model[J]. *Cytotherapy*, 2023, 25(8): 821-836.
- [68] Lalu MM, Montroy J, Dowlatshahi D, *et al*. From the lab to patients: a systematic review and meta-analysis of mesenchymal stem cell therapy for stroke[J]. *Transl Stroke Res*, 2020, 11(3): 345-364.

(责任编辑: 郭蕊, 沈宁)