

# 神经干细胞来源的外泌体在神经疾病诊治中的应用

江张胜<sup>1</sup>, 赵晨玲<sup>1</sup>, 董 婷<sup>2\*</sup>

(1. 安徽中医药大学 研究生院, 中国安徽 合肥 230038; 2. 安徽中医药大学第一附属医院, 中国安徽 合肥 230031)

**摘要:** 外泌体(exosome)是中枢神经系统(central nervous system, CNS)在生理和病理条件下调节细胞信息的细胞外囊泡(extracellular vesicle, EV)。多项研究表明,神经干细胞(neural stem cell, NSC)分泌的外泌体可作为神经疾病诊断的生物标志物和治疗药物的载体,在防治神经疾病中发挥着至关重要的作用。本文阐述了外泌体的合成、基本特性以及分离和纯化,重点介绍了神经干细胞分泌的外泌体的特性及其在神经疾病中的诊断和治疗作用,并对外泌体作为神经疾病中的新型工具所面临的挑战进行了总结。

**关键词:** 外泌体; 神经疾病; 神经干细胞(NSC); 神经干细胞外泌体

中图分类号: Q95, R741

文献标识码: A

文章编号: 1007-7847(2022)03-0271-05

## Application of Neural Stem Cell-derived Exosomes in Diagnosis and Treatment of Neurological Diseases

JIANG Zhang-sheng<sup>1</sup>, ZHAO Chen-ling<sup>1</sup>, DONG Ting<sup>2\*</sup>

(1. The Graduate School, Anhui University of Chinese Medicine, Hefei 230038, Anhui, China; 2. The First Affiliated Hospital of Anhui University of Chinese Medicine, Hefei 230031, Anhui, China)

**Abstract:** Exosomes are extracellular vesicles (EVs) in the central nervous system (CNS) and are involved in regulation of cell information under physiological and pathological conditions. A number of studies have shown that exosomes secreted by neural stem cells (NSCs) can be used as biomarkers for the diagnosis of neurological diseases and carriers for therapeutic drug delivery, and may play a vital role in the prevention and treatment of neurological diseases. Herein, the synthesis, basic characteristics, isolation and purification of exosomes are described, among which the characteristics of exosomes secreted by NSCs and their roles in the diagnosis and treatment of neurological diseases are highlighted. The challenges in using exosomes as a new tool in neurological diseases are summarized.

**Key words:** exosome; neurological disease; neural stem cell (NSC); neural stem cell exosome

(*Life Science Research*, 2022, 26(3): 271~275)

细胞外囊泡(extracellular vesicle, EV)是指包括外泌体(exosome)、微囊泡(microvesicle)和凋亡小体(apoptotic body)在内的一系列囊泡。其中,外泌体是指多泡体(multivesicular body, MVB)与细胞膜融合时释放到细胞外空间的大小为 40~100 nm 的腔内囊泡,其不仅可以由包括神经元细胞在内的不同类型细胞从晚期内体细胞区室分泌,还可从诸如脑脊液、血浆和尿液等的条件细胞培养基或液体中分离。外泌体作为疾病诊断和治疗的生物标志物及细胞间通信的重要介质,可在膜细胞与胞

浆蛋白质、脂质与 RNA 的转运中发挥关键作用<sup>[1]</sup>。

目前,中风(stroke)、阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)、脊髓损伤(spinal cord injury, SCI)和帕金森病(Parkinson's disease, PD)等神经疾病,被认为是危害较大的神经系统疾病,已成为世界性卫生保健难题<sup>[2-3]</sup>。迄今为止,上述神经疾病尚不能完全治愈,仅可通过药物改善其症状。近年来,神经干细胞(neural stem cell, NSC)在神经疾病损伤修复中的作用逐渐得到了业内人士的普遍认可。NSC 不仅可参与神经发生、突触发生、少树突发生、轴突连接

收稿日期: 2021-04-17; 修回日期: 2021-05-17; 网络首发日期: 2021-08-04

基金项目: 安徽省自然科学基金面上项目(1808085MH263); 安徽中医药大学第一附属医院临床科学研究项目(2020yfyzc01)

作者简介: 江张胜(1996—), 男, 安徽铜陵人, 硕士研究生; \*通信作者: 董婷(1979—), 女, 安徽合肥人, 博士, 主任医师, 主要从事运动障碍性疾病和认知障碍疾病研究, E-mail: 876786557@qq.com。

和髓鞘形成等过程,而且在灰质和白质损害方面也有作用<sup>[4]</sup>。尽管 NSC 治疗神经疾病的机制尚不清楚,但有研究表明,其可能与细胞外环境中的分泌因子通过旁分泌功能实现的远距离细胞间通信有关<sup>[5]</sup>。NSC 和受损器官之间的细胞间通信被认为是通过释放自由分子来调控的,这些分子通过与受体结合传递信号<sup>[6]</sup>。虽然当前外泌体发挥作用的机制仍不清楚,但不可否认的是其为细胞间通信开辟了一个新的研究前沿。众多研究表明,外泌体可以作为反映神经疾病病理进展和促进康复的生物标志物,其可通过脑细胞的合成与释放,透过血脑屏障,流入到外周血或脑脊液中<sup>[7-8]</sup>。由于 NSC 来源的外泌体可为神经疾病的诊断和治疗提供新的途径,故本文重点介绍了 NSC 来源的外泌体的性质和特征,以及它们作为神经疾病诊断与治疗的生物标志物在临床前模型中的作用(图 1)。

## 1 外泌体

### 1.1 外泌体的生物学合成及基本特性

外泌体生物发生的第一步是质膜向内出芽,形成一个膜结合的液泡。该液泡在成熟过程中经历几个变化,形成一个晚期核内体,晚期核内体的限制膜随后向内芽出,并夹断形成被膜包裹的囊泡,称为管腔小泡(intraluminal vesicle, ILV),即 MVB。最后,部分 MVB 与细胞膜融合释放到胞外,形成大小均一的囊泡,即外泌体<sup>[9]</sup>。

多个研究表明,不同来源的外泌体根据其生物发生释放特定的脂类(胆固醇、磷脂酰丝氨酸、磷酸甘油酯和脂质等<sup>[10]</sup>)、核酸(DNA、编码 RNA、非编码 RNA 和 microRNA<sup>[11]</sup>)和蛋白质(CD9、CD80、CD86 和 Tsg101 等<sup>[12]</sup>)。目前,检测外泌体的主要方法包含蛋白质免疫印迹、透射电镜、免疫荧光染色和纳米粒子追踪分析等技术。

### 1.2 外泌体的分离和纯化

自 30 多年前发现外泌体以来,人们已经清楚地认识到外泌体对生理和病理的许多方面都有作用,为了提高其应用效率,外泌体的高效分离和纯化是十分必要的。目前,高效分离和纯化外泌体的主要方法有: 1) 差速离心法。这也是最常见的一种方法,其操作简单,产量适中。大容量样本根据颗粒的大小和密度,采用低速离心、高速离心交替进行的方法,分离得到大小相近的囊泡,但回收率不稳定,且重复离心可能会损坏囊泡膜结构<sup>[13-14]</sup>; 2) 抗体亲和捕获法。该方法利用抗原、抗体之间高度的

特异性结合对外泌体进行分离,在获得高纯度外泌体的同时,可分离不同亚型的外泌体,但外泌体表面抗原可能因阻断和覆盖而不能被识别<sup>[15]</sup>; 3) 微控流芯片法。该方法利用外泌体特异性构建三维微环境,进而从复杂的细胞基质分离出外泌体。虽然其获得的外泌体纯度高,但临床样品缺乏标准、规模化测试与方法验证,同时样本容量较低<sup>[16]</sup>。

## 2 NSC 及其分泌的外泌体

### 2.1 NSC 的特征及功能

NSC 是神经系统中最不稳定的细胞之一,具有自我更新的功能特性,可产生 3 种基本的神经外胚层谱系,在整个生命过程中以发育阶段的方式产生神经元、星形胶质细胞和少突胶质细胞。研究证实,NSC 能够促进神经元产生神经营养因子和神经生长因子等<sup>[17-19]</sup>,这些因子可减少宿主内源性神经元的细胞死亡,促进轴突/树突连接、神经营养和炎症调节、细胞替代和神经可塑性修复,增强神经系统再生的能力。除了替代失去的神经元,NSC 还可能发挥神经保护和免疫调节剂的功能,并且 NSC 移植作为一种潜在的神经退行性疾病的治疗方法已被广泛探索<sup>[20]</sup>。但是,NSC 治疗也可能带来一些安全风险,主要包括畸胎瘤形成、异常细胞生长、免疫排斥和炎症,以及不希望的细胞分化表型,这些都限制了 NSC 在临床上的应用<sup>[20]</sup>。因此,NSC 分泌的外泌体在神经疾病中的诊断和治疗受到了极大的关注。

### 2.2 NSC 分泌的外泌体

研究表明,在中枢神经系统中,NSC 分泌的外泌体参与神经元和小胶质细胞之间广泛的相互作用<sup>[21]</sup>。此外,NSC 分泌的外泌体可将神经元中的活性物质转移到脑内星形胶质细胞中,这可能会调节星形胶质细胞的功能,对突触活性、神经血管完整性的维持和髓鞘形成等方面产生影响。例如:携带 miR-124a 的 NSC 外泌体进入星形胶质细胞与兴奋性氨基酸转运体-2/谷氨酸转运体-1 的表达增强有关<sup>[22]</sup>; NSC 外泌体可通过转移 miR-132 到血管内皮细胞调控脑血管的完整性,导致黏附连接蛋白 Cdh5 的表达上调<sup>[23]</sup>。

在某些病理环境中,外泌体被认为是疾病的介质,这种现象在多种神经疾病中都有存在<sup>[24]</sup>。此外,NSC 分泌的外泌体已被报道携带特定颗粒从其来源的细胞到其他细胞,导致大脑病理改变的增加,这包括 AD 中的  $\beta$ -淀粉样蛋白(amyloid  $\beta$ -

protein, A $\beta$ )和 tau 蛋白、海绵状脑病中的朊蛋白、PD 中的  $\alpha$ -突触核蛋白和富含亮氨酸的重复激酶-2、肌萎缩侧索硬化中的超氧化物歧化酶-1<sup>[25]</sup>。另一方面, NSC 分泌的外泌体也被证明具有神经保护作用, 因为它们是周围神经再生和神经元损伤修复的一部分<sup>[26]</sup>。Alvarez-Erviti 等<sup>[27]</sup>研究表明, NSC 分泌的外泌体表面携带的活性物质(如小的 RNA)可以作为神经疾病诊断的纳米信号。

同时, NSC 分泌的外泌体可以作为神经疾病药物治疗的载体<sup>[28]</sup>。与 NSC 本身相比, 使用 NSC 分泌的外泌体作为药物载体有几个优点。首先, 通过鼻内给药, 大量的外泌体可靶向大脑的不同区域<sup>[29]</sup>; 其次, 与细胞治疗不同, 外泌体在给药后发生肿瘤或恶性转化的可能性几乎为零, 因为它们不是有核细胞, 不能复制, 在释放载体后迅速分解<sup>[30]</sup>; 最后, 静脉或鼻内给药不太可能导致血栓形成, 因为静脉给药能够穿过血脑屏障并通过胞吞作用穿过内皮细胞形成小泡。因此, 提供无细胞疗法的外泌体可以改变人们看待药物的方式, 可以在没有显著副作用的情况下拯救许多生命。

### 3 NSC 分泌的外泌体在神经疾病中的应用

#### 3.1 外泌体作为诊断的标志物

神经疾病的监测、诊断及治疗, 需要一个准确、高效且容易检测的标志物。外泌体能成为中枢神经系统中的生物标志物主要有以下几个原因。第一, 外泌体可以比较容易地通过血脑屏障, 特异的中枢神经系统来源的外泌体和外周外泌体均可作为中枢神经系统疾病相关的生物标志物<sup>[27, 31]</sup>; 第二, 外泌体中的核酸、蛋白质和脂质在疾病进展过程中发生改变; 第三, 外泌体可以从尿液、血液和唾液等容易获取的生物液体中无创分离出来, 可用于疾病的早期诊断, 这在中枢神经系统疾病中特别重要; 第四, 外泌体内容物被保护在膜状结构中, 这比传统标本更有优势, 因为潜在的生物标志物被保护起来不容易被降解; 第五, 外泌体高度稳定, 这使应用于临床分析的样品可以长期保存; 第六, 外泌体可以被浓缩, 从而显著提高检测灵敏度。

在中枢神经系统的微环境中, 外泌体不仅可以介导大脑功能和神经保护, 而且也涉及中枢神经系统疾病的发病机制<sup>[27, 32]</sup>。Guo 等<sup>[33]</sup>通过纯化 PD 患者脑脊液中的外泌体, 证实外泌体中存在能够诱导神经元中  $\alpha$ -突触核蛋白聚集的  $\alpha$ -突触核蛋白寡聚体。Shi 等<sup>[34]</sup>观察到, PD 患者血浆外泌体中的  $\alpha$ -突

触核蛋白浓度与健康对照组相比会有所增加。因此, 人们通过检测外泌体中的  $\alpha$ -突触核蛋白在一定程度上可判断 PD 患者的病情。另外, Fiandaca 等<sup>[35]</sup>报道, 在 AD 患者血源性外泌体中检测到磷酸化 tau 蛋白和 A $\beta$  的增加。Jia 等<sup>[36]</sup>验证了脑脊液与血源性外泌体生物标志物的一致性, 证实血源性外泌体与脑脊液中的 A $\beta$ <sub>42</sub> 和磷酸化 tau 蛋白具有相同的 AD 诊断能力。因此, 人们可以通过检测外泌体中 A $\beta$  的表达水平来监测 AD 患者的发病情况。

#### 3.2 外泌体治疗神经疾病的潜力

##### 3.2.1 外泌体在中风治疗中的应用

中风是导致死亡和长期残疾的主要原因之一。到目前为止, 临床唯一批准治疗脑卒中的药物是组织型纤溶酶原激活剂。然而, 这种药物仅适用于及时住院治疗的一小部分患者<sup>[37]</sup>。此外, 组织型纤溶酶原激活剂的使用可能会增加一些患者发生出血性转化的风险。因此, 非侵入性的、有望修复受中风影响的大脑的替代疗法是必需的。从这个角度出发, 少数研究分析 NSC 分泌的外泌体在脑卒中模型中的疗效具有重要意义。生物标志物对于预测中风的严重程度和预后(包括可能形成的出血和其他并发症)非常有价值。

NSC 已知在各种中枢神经系统疾病的组织再生和修复中有效, 其可通过分泌外泌体发挥抗炎和神经营养作用<sup>[38-39]</sup>。Webb 等<sup>[40]</sup>的研究表明, 在血栓栓塞性中风后静脉注射 NSC 来源的外泌体可以改善中年小鼠的细胞与组织功能。NSC 外泌体创造了小胶质细胞向 M2 型极化的有利环境, 这可能与促进碎片清除和减少慢性炎症有关, 由于中风是通过局部神经免疫反应打开血脑屏障, 从而导致慢性神经变性, 故在中风后接受外泌体的动物记忆会有所改善<sup>[41]</sup>。随后, 同一组研究人员在猪脑卒中模型中研究了 NSC 分泌的外泌体的疗效<sup>[41]</sup>, 他们通过永久性大脑中动脉闭塞诱导缺血性卒中, 并在卒中后 2 h、14 h 和 24 h 静脉给予外泌体, 发现受损组织在功能水平上有显著改善, 同时给予的外泌体能够消除缺血性病变及颅内出血, 减少脑损伤体积和脑肿胀, 维持了脑白质的完整性。总的来说, 中风后使用 NSC 来源的外泌体可以给患者提供显著的神经与运动功能保护。

##### 3.2.2 外泌体在 AD 治疗中的应用

AD 是一种进行性神经退行性疾病, 以记忆丧失和多种认知障碍为主要临床表现。长期以来, AD 病理被认为是有毒的 A $\beta$  异构体积累在脑

实质。 $A\beta$  导致小胶质细胞和星形细胞激活, 从而使炎症反应扩散到整个大脑<sup>[42]</sup>。遗憾的是, 目前尚无有效的方法可以预防或治愈 AD 患者的神经元细胞死亡、 $A\beta$  沉积和认知功能下降。近年来, 研究人员发现 NSC 具有分化为中枢神经系统各种类型细胞的潜能, 为神经退行性疾病的治疗带来了希望。自从最初发现外泌体与 AD 有关<sup>[43]</sup>以来, 多项研究证明了外泌体在 AD 中的多方面作用。

Dinkins 等<sup>[44]</sup>研究发现, 外泌体蛋白质在 AD 患者大脑的斑块中积累, 它们通过抑制 nSMase2, 减少外泌体的分泌, 从而在体内减少 AD 患者大脑中的淀粉样斑块负荷。有证据表明,  $A\beta$  在突触上结合可导致突触功能中断, 最终导致树突棘的收缩和认知障碍<sup>[45]</sup>。Micci 等<sup>[46]</sup>研究发现, NSC 分泌的外泌体可阻止突触与  $A\beta$  受体的结合, 并防止相关功能障碍(如记忆回忆缺陷); 用 NSC 外泌体治疗小鼠的突触可塑性和记忆功能均对  $A\beta$  诱导的损伤有保护作用; 此外, 在诱导性转基因小鼠模型中敲除 NSC 可导致突触对  $A\beta$  的易损性增加, 而外源性给药 NSC 外泌体可完全修复该易损性。这些结果表明, 由 NSC 特异性释放的外泌体在促进或维持突触对  $A\beta$  损伤影响的恢复中发挥关键作用, NSC 分泌的外泌体通过诱导受体神经元的变化来缓解  $A\beta$  介

导的毒性。目前已有研究表明, 外泌体(包括 NSC 分泌的外泌体)引发的许多效应可归因于其特定的 microRNA 载体作用, 包括对衰老<sup>[47]</sup>、认知、突触功能的调节以及对神经的保护<sup>[48]</sup>。因此, NSC 分泌的外泌体中特定的 microRNA 可能介导其对靶神经元突触的保护作用, 提示了开发新的治疗途径促进 AD 患者认知功能恢复的可能性。

### 3.2.3 外泌体在 SCI 治疗中的应用

SCI 会促使轴突分离和神经元死亡, 导致永久性功能损伤。目前, SCI 尚无根治方法, 但干细胞移植常被认为是缓解 SCI 发展的最具吸引力治疗方法之一。成人脊髓中内源性 NSC 的发现, 为未来 SCI 的无创治疗带来了希望。但在常规临床应用前, 人们仍需解决移植细胞存活率低、细胞去分化、肿瘤形成等诸多问题。有研究表明, 移植的干细胞主要通过旁分泌机制来减轻炎症反应、提供神经保护和促进修复, 而外泌体在促进 SCI 缺氧缺血后功能恢复的这一过程中发挥重要作用<sup>[50]</sup>。

自噬对细胞的再生至关重要, 基础或生理的自噬有助于细胞稳态的维持、蛋白质和亚细胞细胞器的控制, 且可减少细胞损伤<sup>[51]</sup>。Rong 等<sup>[39]</sup>研究表明, NSC 来源的外泌体可通过提高 LC3B 和 beclin-1 表达所介导的自噬, 抑制 SCI 模型大鼠

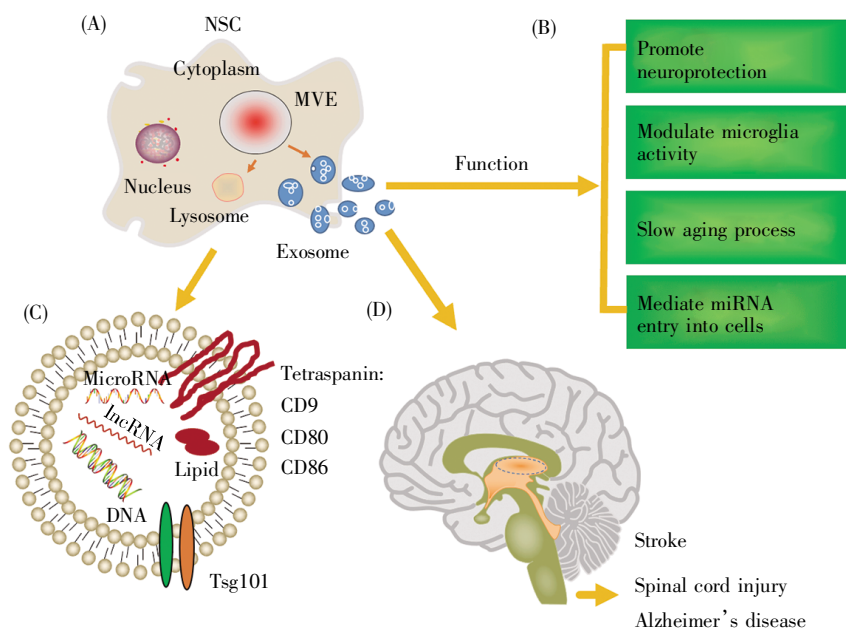


图1 NSC 分泌的外泌体的结构、功能和在神经疾病治疗中的应用(根据参考文献[47~49]、[52~53]修改)

(A) NSC 分泌的外泌体; (B) 外泌体在神经疾病中的治疗作用; (C) 外泌体的结构和组成成分; (D) 外泌体在神经疾病治疗中的应用。

**Fig.1 Structure, function and application of exosomes secreted by NSCs in the treatment of neurological diseases** (modified according to References [47~49] and [52~53])

(A) Exosomes secreted by NSCs; (B) Function of exosomes in the treatment of neurological diseases; (C) The structure and composition of exosomes; (D) Application of exosomes secreted by NSCs in the treatment of neurological diseases.

的神经元凋亡、神经炎症和小胶质细胞激活过程,从而促进功能恢复。因此,未来可将 NSC 来源的外泌体作为一种新型 SCI 生物治疗途径。

#### 4 总结和展望

外泌体是目前基础科学和转化研究中发展最快的领域之一。然而,来自特定细胞类型的外泌体在不同条件下的功能差异性仍有待探索。在本文中,我们特别指出 NSC 来源的外泌体的特性、诊疗潜力及其在生理和病理条件下可能介导的多种功能,为临床诊疗提供理论基础。深入了解外泌体的组成和发展先进的方法来调节外泌体的载体,将进一步提高外泌体对不同神经疾病的治疗效果。使用 NSC 在特定培养条件下分泌的特性良好的外泌体和携带所需 microRNA、mRNA 和蛋白质的外泌体,在治疗多种神经疾病方面有很大的前景。

此外,使用 NSC 外泌体的非侵入性治疗方法可能比 NSC 移植更有效,因为在静脉或鼻腔给药后,外泌体可以很容易地穿过血脑屏障到达病变部位。在未来,针对大脑中特定神经元类型或区域的外泌体可能有助于治疗不同的神经疾病。但是,NSC 外泌体的研究还面临诸多挑战,有关 NSC 外泌体诊断和治疗神经疾病方面的研究仍任重道远。

#### 参考文献(References):

- ABELS E R, BREAKFIELD X O. Introduction to extracellular vesicles: biogenesis, RNA cargo selection, content, release, and uptake[J]. *Cellular and Molecular Neurobiology*, 2016, 36(3): 301–312.
- CHEN S Y, GAO Y, SUN J Y, *et al.* Traditional Chinese medicine: role in reducing  $\beta$ -amyloid, apoptosis, autophagy, neuroinflammation, oxidative stress, and mitochondrial dysfunction of Alzheimer's disease[J]. *Frontiers in Pharmacology*, 2020, 11: 497.
- WANG L, ZHANG L J. Circulating exosomal miRNA as diagnostic biomarkers of neurodegenerative diseases[J]. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, 2020, 13: 53.
- BOND A M, MING G L, SONG H J. Adult mammalian neural stem cells and neurogenesis: five decades later[J]. *Cell Stem Cell*, 2015, 17(4): 385–395.
- LAI R C, YEO R W, LIM S K. Mesenchymal stem cell exosomes[J]. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, 2015, 40: 82–88.
- HAN C, SUN X, LIU L, *et al.* Exosomes and their therapeutic potentials of stem cells[J]. *Stem Cells International*, 2016, 2016: 7653489.
- KANHAI D A, DE KLEIJN D P V, KAPPELLE L J, *et al.* Extracellular vesicle protein levels are related to brain atrophy and cerebral white matter lesions in patients with manifest vascular disease: the SMART-MR study[J]. *BMJ Open*, 2014, 4(1): e003824.
- PASCUAL M, IBÁÑEZ F, GUERRI C. Exosomes as mediators of neuron–glia communication in neuroinflammation[J]. *Neural Regeneration Research*, 2020, 15(5): 796–801.
- APPELQVIST H, WÅSTER P, KÅGEDAL K, *et al.* The lysosome: from waste bag to potential therapeutic target[J]. *Journal of Molecular Cell Biology*, 2013, 5(4): 214–226.
- SUBRA C, LAULAGNIER K, PERRET B, *et al.* Exosome lipidomics unravels lipid sorting at the level of multivesicular bodies[J]. *Biochimie*, 2007, 89(2): 205–212.
- LÖNNERDAL B. Human milk microRNAs/exosomes: composition and biological effects[J]. *Nestle Nutrition Institute Workshop Series*, 2019, 90: 83–92.
- KOWAL J, ARRAS G, COLOMBO M, *et al.* Proteomic comparison defines novel markers to characterize heterogeneous populations of extracellular vesicle subtypes[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 2016, 113(8): E968–E977.
- HU Y, RAO S S, WANG Z X, *et al.* Exosomes from human umbilical cord blood accelerate cutaneous wound healing through miR-21–3p-mediated promotion of angiogenesis and fibroblast function[J]. *Theranostics*, 2018, 8(1): 169–184.
- FANG T, LV H W, LV G S, *et al.* Tumor-derived exosomal miR-1247–3p induces cancer-associated fibroblast activation to foster lung metastasis of liver cancer[J]. *Nature Communications*, 2018, 9: 191.
- ZAROVNI N, CORRADO A, GUAZZI P, *et al.* Integrated isolation and quantitative analysis of exosome shuttled proteins and nucleic acids using immunocapture approaches[J]. *Methods*, 2015, 87: 46–58.
- GHOLIZADEH S, SHEHATA DRAZ M, ZARGHOONI M, *et al.* Microfluidic approaches for isolation, detection, and characterization of extracellular vesicles: current status and future directions[J]. *Biosensors & Bioelectronics*, 2017, 91: 588–605.
- ZAHR S K, KAPLAN D R, MILLER F D. Translating neural stem cells to neurons in the mammalian brain[J]. *Cell Death and Differentiation*, 2019, 26(12): 2495–2512.
- URBÁN N, BLOMFIELD I M, GUILLEMOT F. Quiescence of adult mammalian neural stem cells: a highly regulated rest[J]. *Neuron*, 2019, 104(5): 834–848.
- LEE I S, JUNG K, KIM I S, *et al.* Human neural stem cells alleviate Alzheimer-like pathology in a mouse model[J]. *Molecular Neurodegeneration*, 2015, 10: 38.
- WEI N L, SUN Z X, YU J M, *et al.* Immunological responses to transgene-modified neural stem cells after transplantation[J]. *Frontiers in Immunology*, 2021, 12: 697203.
- PAOLICELLI R C, BERGAMINI G, RAJENDRAN L. Cell-to-cell communication by extracellular vesicles: focus on microglia[J]. *Neuroscience*, 2019, 405: 148–157.
- MOREL L, REGAN M, HIGASHIMORI H, *et al.* Neuronal exosomal miRNA-dependent translational regulation of astroglial glutamate transporter GLT1[J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 2013, 288(10): 7105–7116.
- XU B, ZHANG Y, DU X F, *et al.* Neurons secrete miR-132-containing exosomes to regulate brain vascular integrity[J]. *Cell Research*, 2017, 27(7): 882–897.
- CHAUDHURI A D, DASTGHEYB R M, YOO S W, *et al.* TNF $\alpha$  and IL-1 $\beta$  modify the miRNA cargo of astrocyte shed extracellular vesicles to regulate neurotrophic signaling in neurons[J]. *Cell Death & Disease*, 2018, 9(3): 363.
- GAO M, YAO H, DONG Q, *et al.* Neurotropy and immunomodulation of induced neural stem cell grafts in a mouse model of closed head injury[J]. *Stem Cell Research*, 2017, 23: 132–142.
- VOGEL A, UPADHYA R, SHETTY A K. Neural stem cell derived extracellular vesicles: attributes and prospects for treating neurodegenerative disorders[J]. *EBioMedicine*, 2018, 38: 273–282.
- ALVAREZ-ERVITI L, SEOW Y, YIN H F, *et al.* Delivery of siRNA to the mouse brain by systemic injection of targeted exosomes[J]. *Nature Biotechnology*, 2011, 29(4): 341–345.
- KALANI A, TYAGI A, TYAGI N. Exosomes: mediators of neurodegeneration, neuroprotection and therapeutics[J]. *Molecular Microbiology*, 2014, 49(1): 590–600.
- LONG Q F, UPADHYA D, HATTIANGADY B, *et al.* Intranasal MSC-derived A1-exosomes ease inflammation, and prevent abnormal neurogenesis and memory dysfunction after status epilepticus[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 2017, 114(17): E3536–E3545.
- MCCULLOH C J, OLSON J K, WANG Y J, *et al.* Treatment of experimental necrotizing enterocolitis with stem cell-derived exosomes[J]. *Journal of Pediatric Surgery*, 2018, 53(6): 1215–1220.
- 李武, 牛晓晨, 张萌, 等. 外泌体及其 miRNA 在神经系统常见疾病诊断和治疗中的研究进展[J]. *生命科学研究*(LI Wu, NIU Xiao-chen, ZHANG Meng, *et al.* Research progress of exosomes and exosomal miRNAs in diagnosis and treatment of common diseases of the nervous system[J]. *Life Science Research*), 2020, 24(4): 321–326.
- PASCHON V, TAKADA S H, IKEBARA J M, *et al.* Interplay between exosomes, microRNAs and Toll-like receptors in brain disorders[J]. *Molecular Neurobiology*, 2016, 53(3): 2016–2028.
- GUO M, WANG J, ZHAO Y X, *et al.* Microglial exosomes facilitate  $\alpha$ -synuclein transmission in Parkinson's disease[J]. *Brain*, 2020, 143(5): 1476–1497.
- SHI M, LIU C Q, COOK T J, *et al.* Plasma exosomal  $\alpha$ -synuclein is likely CNS-derived and increased in Parkinson's disease[J]. *Acta Neuropathologica*, 2014, 128(5): 639–650.

- [33] 王宝山. 植物生理学[M]. 3版. 北京: 科学出版社(WANG Bao-shan. Plant Physiology[M]. 3rd ed. Beijing: Science Press), 2017: 23.
- [34] 李合生, 王学奎. 现代植物生理学[M]. 4版. 北京: 高等教育出版社(LI He-sheng, WANG Xue-kui. Modern Plant Physiology[M]. 4th ed. Beijing: Higher Education Press), 2019: 40.
- [35] TODA Y, WANG Y, TAKAHASHI A, *et al.* *Oryza sativa* H<sup>+</sup>-ATPase (OSA) is involved in the regulation of dumbbell-shaped guard cells of rice[J]. *Plant & Cell Physiology*, 2016, 57(6): 1220–1230.
- [36] 王宏亮, 郭思义, 王棚涛, 等. 植物气孔发育机制研究进展[J]. 植物学报(WANG Hong-liang, GUO Si-yi, WANG Peng-tao, *et al.* Research progress in stomatal development mechanism[J]. Chinese Bulletin of Botany), 2018, 53(2): 164–174.
- [37] 陈亮, 侯岁稳. 植物气孔发育的分子遗传调控[J]. 中国科学: 生命科学(CHEN Liang, HOU Sui-wen. Molecular genetic control of plant stomatal development[J]. *Scientia Sinica Vitae*), 2017, 47(8): 798–807.
- [38] RUDALL P J. Anatomy of Flowering Plants: an Introduction to Plant Structure and Development[M]. 4th ed. Cambridge: Cambridge University Press, 2020: 17.
- [39] CUTLER D F, BOTHA C E J, STEVENSON D W. Plant Anatomy: an Applied Approach[M]. Malden: Blackwell Publishing Ltd., 2008: 269.
- [40] 王幼芳, 李宏庆, 马炜梁. 植物学实验指导[M]. 北京: 高等教育出版社(WANG You-fang, LI Hong-qing, MA Wei-liang. Experimental Guidance for Botany[M]. Beijing: Higher Education Press), 2007: 27–28.
- [41] EVERT R F, EICHHORN S E. Raven Biology of Plants[M]. 8th ed. New York: W. H. Freeman and Company, 2013: 589.
- [42] BIDLACK J E, JANSKY S H. Stern's Introductory Plant Biology[M]. 14th ed. New York: McGraw-Hill Companies, 2018: 96.
- [43] 汪小凡, 杨继, 宋志平. 植物生物学实验[M]. 3版. 北京: 高等教育出版社(WANG Xiao-fan, YANG Ji, SONG Zhi-ping. Experimental Guidance for Plant Biology[M]. 3rd ed. Beijing: Higher Education Press), 2019: 120.
- [44] CANNY M J. Embolisms and refilling in the maize leaf lamina, and the role of the protoxylem lacuna[J]. *American Journal of Botany*, 2001, 88(1): 47–51.
- [45] 黎维平. 一些花序的新定义和一个新的花序分类系统——植物学教材质疑(六)[J]. 生命科学研究(LI Wei-ping. Redefinition of some inflorescence types and a proposal for a new classification system of inflorescence: questioning botany textbooks (VI)[J]. *Life Science Research*), 2022, 26(1): 88–94.
- [46] AMBROSE B A, LERNER D R, CICERI P, *et al.* Molecular and genetic analyses of the *silky1* gene reveal conservation in floral organ specification between eudicots and monocots[J]. *Molecular Cell*, 2000, 5(3): 569–579.
- [47] MAUSETH J D. Botany: an Introduction to Plant Biology[M]. 6th ed. Burlington: Jones & Bartlett Learning, 2017: 623.
- [48] BOWMAN J L. Evolutionary conservation of angiosperm flower development at the molecular and genetic levels[J]. *Journal of Biosciences*, 1997, 22(4): 515–527.
- [49] 黎维平. 花程式: 问题和建议——植物学教材质疑(五)[J]. 生命科学研究(LI Wei-ping. Floral formulae: problems and suggestions: questioning botany textbooks (V)[J]. *Life Science Research*), 2021, 25(6): 557–564.
- [50] PRASAD K, SRIRAM P, KUMAR C S, *et al.* Ectopic expression of rice *OsMADS1* reveals a role in specifying the lemma and palea, grass floral organs analogous to sepals[J]. *Development Genes and Evolution*, 2001, 211(6): 281–290.
- [51] WHIPPLE C J, ZANIS M J, KELLOGG E A, *et al.* Conservation of B class gene expression in the second whorl of a basal grass and outgroups links the origin of lodicules and petals[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 2007, 104(3): 1081–1086.
- [52] PRESTON J C, CHRISTENSEN A, MALCOMBER S T, *et al.* MADS-box gene expression and implications for developmental origins of the grass spikelet[J]. *American Journal of Botany*, 2009, 96(8): 1419–1429.
- [53] MURAI K. Homeotic genes and the ABCDE model for floral organ formation in wheat[J]. *Plants*, 2013, 2(3): 379–395.
- [54] 吴迪, 袁政, 张大兵. 水稻小穗器官发生分子调控机制的研究进展[J]. 生命科学(WU Di, YUAN Zheng, ZHANG Da-bing. Advances in molecular mechanisms of rice spikelet organogenesis[J]. Chinese Bulletin of Life Sciences), 2018, 30(11): 1173–1183.
- [55] SIMPSON M G. Plant Systematics[M]. 2nd ed. Burlington: Academic Press, 2010: 255, 702–703.
- [56] DEBERNARDI J M, GREENWOOD J R, JEAN FINNEGAN E, *et al.* *APETALA 2*-like genes *AP2L2* and *Q* specify lemma identity and axillary floral meristem development in wheat[J]. *The Plant Journal*, 2020, 101(1): 171–187.
- [57] CIAFFI M, PAOLACCI A R, TANZARELLA O A, *et al.* Molecular aspects of flower development in grasses[J]. *Sexual Plant Reproduction*, 2011, 24(4): 247–282.
- [58] 张宪省. 植物学[M]. 2版. 北京: 中国农业出版社(ZHANG Xian-sheng. Botany[M]. 2nd ed. Beijing: China Agriculture Press), 2014: 299.
- [59] MALCOMBER S T, PRESTON J C, REINHEIMER R, *et al.* Developmental gene evolution and the origin of grass inflorescence diversity[J]. *Advances in Botanical Research*, 2006, 44: 425–481.

## (上接第 275 页)

- [35] FIANDACA M S, KAPOGIANNIS D, MAPSTONE M, *et al.* Identification of preclinical Alzheimer's disease by a profile of pathogenic proteins in neurally derived blood exosomes: a case-control study[J]. *Alzheimer's & Dementia*, 2015, 11(6): 600–607.e1.
- [36] JIA L F, QIU Q Q, ZHANG H, *et al.* Concordance between the assessment of A $\beta$ <sub>2</sub>, T-tau, and P-T181-tau in peripheral blood neuronal-derived exosomes and cerebrospinal fluid[J]. *Alzheimer's & Dementia*, 2019, 15(8): 1071–1080.
- [37] ROTH J M. Recombinant tissue plasminogen activator for the treatment of acute ischemic stroke[J]. *Proceedings*, 2011, 24(3): 257–259.
- [38] LUDWIG P E, THANKAM F G, PATIL A A, *et al.* Brain injury and neural stem cells[J]. *Neural Regeneration Research*, 2018, 13(1): 7–18.
- [39] RONG Y L, LIU W, WANG J X, *et al.* Neural stem cell-derived small extracellular vesicles attenuate apoptosis and neuroinflammation after traumatic spinal cord injury by activating autophagy[J]. *Cell Death & Disease*, 2019, 10(5): 340.
- [40] WEBB R L, KAISER E E, SCOVILLE S L, *et al.* Human neural stem cell extracellular vesicles improve tissue and functional recovery in the murine thromboembolic stroke model[J]. *Translational Stroke Research*, 2018, 9(5): 530–539.
- [41] VENKAT P, SHEN Y, CHOPP M, *et al.* Cell-based and pharmacological neurorestorative therapies for ischemic stroke[J]. *Neuropharmacology*, 2018, 134(Pt B): 310–322.
- [42] HENEKA M T, CARSON M J, EL KHOURY J, *et al.* Neuroinflammation in Alzheimer's disease[J]. *The Lancet. Neurology*, 2015, 14(4): 388–405.
- [43] TAKAHASHI R H, MILNER T A, LI F, *et al.* Intraneuronal Alzheimer A $\beta$ 42 accumulates in multivesicular bodies and is associated with synaptic pathology[J]. *The American Journal of Pathology*, 2002, 161(5): 1869–1879.
- [44] DINKINS M B, DASGUPTA S, WANG G H, *et al.* Exosome reduction *in vivo* is associated with lower amyloid plaque load in the 5XFAD mouse model of Alzheimer's disease[J]. *Neurobiology of Aging*, 2014, 35(8): 1792–1800.
- [45] TU S C, OKAMOTO S I, LIPTON S A, *et al.* Oligomeric A $\beta$ -induced synaptic dysfunction in Alzheimer's disease[J]. *Molecular Neurodegeneration*, 2014, 9: 48.
- [46] MICCI M A, KRISHNAN B, BISHOP E, *et al.* Hippocampal stem cells promotes synaptic resistance to the dysfunctional impact of amyloid beta oligomers via secreted exosomes[J]. *Molecular Neurodegeneration*, 2019, 14(1): 25.
- [47] ZHANG Y L, KIM M S, JIA B S, *et al.* Hypothalamic stem cells control ageing speed partly through exosomal miRNAs[J]. *Nature*, 2017, 548(7665): 52–57.
- [48] COHEN J E, LEE P R, CHEN S, *et al.* MicroRNA regulation of homeostatic synaptic plasticity[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 2011, 108(28): 11650–11655.
- [49] PROPERZI F, FERRONI E, POLEGGI A, *et al.* The regulation of exosome function in the CNS: implications for neurodegeneration[J]. *Swiss Medical Weekly*, 2015, 145: w14204.
- [50] RATAJCZAK M Z, JADCZYK T, PEŁDZIWIATR D, *et al.* New advances in stem cell research: practical implications for regenerative medicine[J]. *Polskie Archiwum Medycyny Wewnętrznej*, 2014, 124(7/8): 417–426.
- [51] SINGH R, CUERVO A M. Autophagy in the cellular energetic balance[J]. *Cell Metabolism*, 2011, 13(5): 495–504.
- [52] STEINBICHLER T B, DUDÁS J, RIECHELMANN H, *et al.* The role of exosomes in cancer metastasis[J]. *Seminars in Cancer Biology*, 2017, 44: 170–181.
- [53] MAROTE A, TEIXEIRA F G, MENDES-PINHEIRO B, *et al.* MSCs-derived exosomes: cell-secreted nanovesicles with regenerative potential[J]. *Frontiers in Pharmacology*, 2016, 7: 231.