

## 帕金森病相关外泌体研究进展

金桃 顾嘉晨 桂雅星

310016 杭州, 浙江大学医学院附属邵逸夫医院神经内科

通信作者: 桂雅星, Email: guiyaxing@zju.edu.cn

DOI: 10.3969/j.issn.1009-6574.2020.10.011

**【摘要】** 帕金森病(Parkinson disease, PD)是一种神经变性疾病,具有不可逆性、高发病率和高致残率的特点,早期识别和干预对改善PD意义重大。然而,目前临床上对PD的诊断缺乏客观的实验室检测指标,药物疗法对早期疾病修饰的证据尚不充分。外泌体是细胞产生、释放到胞外环境的囊泡,内含丰富的生物活性分子。中枢神经系统起源的外泌体,其中PD标志性蛋白质,如 $\alpha$ -突触核蛋白、DJ-1和RNA分子水平的变化反映了机体病理生理状态的改变,是筛选疾病诊断、鉴别诊断、分期、预后等标志物的重要来源。间充质干细胞来源的外泌体具有与母细胞类似的组织修复、神经保护效应,而一些活性分子(如过氧化物酶、多巴胺、小干扰RNAs等)也可以外泌体为载体靶向运输到脑组织,针对PD不同的致病通路发挥作用。现综述外泌体在PD发生发展、诊断和治疗中的研究进展,探讨当前所面临的问题和未来可能的研究方向。

**【关键词】** 帕金森病; 外泌体; 细胞外囊泡;  $\alpha$ 突触核蛋白; 间充质干细胞; 综述

**基金项目:** 国家自然科学基金项目(81401038); 浙江省自然科学基金(LY19H090018); 2020年浙江省医药卫生科技计划项目(面上项目)(2020KY602)

**Research progress of exosomes in Parkinson disease** Jin Tao, Gu Jiachen, Gui Yaxing

Department of Neurology, Sir Run Run Shaw Hospital, Affiliated to Zhejiang University School of Medicine, Hangzhou 310016, China

Corresponding author: Gui Yaxing, Email: guiyaxing@zju.edu.cn

**【Abstract】** Parkinson disease (PD) is a neurodegenerative disease, characterized by irreversibility, high incidence and high morbidity. In this context, early identification and intervention are of great significance for ameliorating PD. However, at present, there is a lack of objective laboratory indexes in clinical practice, while the evidence for early disease modification by pharmacotherapy is insufficient. Exosomes are vesicles produced by cells and released to the extracellular, containing abundant bioactive molecules. Central nervous system derived exosomes are an important source for screening markers of disease diagnosis, differential diagnosis, staging and prognosis. Changes in their containing PD signature proteins, such as alpha-synuclein, DJ-1 and RNA molecules reflect the pathophysiological state of the organism. Exosomes from mesenchymal stem cells show the function of tissue repair and neuroprotection, paralleling to that of their parental cells. Meanwhile, therapeutic agents (such as catalase, dopamine, small interfering RNAs, etc.) can be targeted to the brain by exosomes and act on different pathologic pathways of PD. This paper reviews the recent advances on exosomes in the occurrence, development, diagnosis and treatment of PD, and discusses the current problems and possible future research directions.

**【Key words】** Parkinson disease; Exosome; Extracellular vesicle; Alpha-synuclein; Mesenchymal stem cell; Review

**Fund programs:** National Natural Science Foundation of China (81401038); Natural Science Foundation of Zhejiang Province (LY19H090018); Research Plan of Zhejiang Provincial Department of Health (2020KY602)

帕金森病(Parkinson disease, PD)是一种常见的神经系统变性疾病,好发于中老年人,主要病理特征是中脑黑质多巴胺能神经元进行性丢失,导致纹状体多巴胺(dopamine)神经递质减少,神经元胞

体和轴突内路易小体(Lewy body, LB)形成。PD临床表现以运动迟缓、肌强直、静止性震颤等运动症状和嗅觉丧失、睡眠障碍、便秘等非运动症状为主。迄今为止,PD的病因和发病机制尚未完全明确。目

前临床上PD的诊断主要根据症状、体征及对多巴胺能药物的反应性等,亦无充足证据支持现有的药物或手术治疗可以延缓疾病进展。大量研究表明,外泌体具有独特的生物学特性,可自由通过血脑屏障(blood-brain barrier),在脑脊液和外周体液中检测、分离到,因此在PD诊断和治疗方面具有潜在的应用价值。现就近年来外泌体在PD领域的研究进展作一总结。

### 一、外泌体概述

细胞外囊泡(extracellular vesicle, EV)是一类由细胞产生、释放的颗粒物总称,被脂质双分子层包裹,不具备自主复制能力<sup>[1]</sup>。根据起源和大小的差异, EVs可大致分为核外体(ectosomes)和外泌体(exosomes)两大类。核外体由细胞膜直接向外出芽形成,包括微泡、微粒和大囊泡等,直径50~1 000 nm。外泌体直径40~160 nm,起源于内体通路,质膜内陷形成早期分选内体,经过晚期分选内体转变为多泡体(multivesicular body, MVB),其表面膜二次内陷,形成腔内囊泡。当MVB与细胞膜融合,腔内囊泡被释放到胞外空间,即为外泌体<sup>[2]</sup>。

常见的外泌体来源包括条件细胞培养基和各种生物体液,如脑脊液、血浆、血清、尿液等。目前还没有一套公认的、标准化的外泌体分离流程,但包括超速离心、超滤、免疫亲和、聚合物沉淀、尺寸排阻色谱及微流体技术等在内的很多方法已得到不同程度的应用。超速离心法被认为是外泌体分离的“金标准”,又分为差速超速离心和密度梯度超速离心,前者更常用。一般来说,差速离心是先通过300×g、2 000×g、10 000×g的离心力逐步去除细胞、细胞碎片和凋亡小体等成分,再经100 000~150 000×g的离心使外泌体沉积,需要注意的是此沉积物中除了外泌体,还可能含有蛋白质聚合物、病毒、微囊泡等。实际上,这也正是阻碍外泌体基础和应用研究发展的一个技术难点,两种或两种以上技术的联合可以最大限度地减少蛋白质或脂蛋白等的污染,但由于部分理化性质的重叠,终产物中外泌体和其他囊泡成分(尤其是功能性微囊泡)仍难以有效区分。因此,2018年国际细胞外囊泡协会指导意见书建议在现有的技术条件下,研究中“外泌体”这一术语应替换为更宽泛的“细胞外囊泡”<sup>[1]</sup>。最近,王涛、陈长英课题组提出通过外泌体-微囊泡特异性标志物的联合检测以定量各组分的比例,确保实验结果的稳定性,这可能是一个更可行的方法<sup>[3]</sup>。外泌体内容物包括各种胞膜和胞质功能性蛋白质、脂质、DNA、

mRNAs、microRNAs(miRNAs)和细胞代谢产物等。基于这些组分的功能,外泌体在血管生成、细胞存活、凝血、免疫调节、炎症等多种病理生理过程中发挥作用<sup>[4-5]</sup>。

### 二、外泌体参与PD的发生发展

1.  $\alpha$ -突触核蛋白与外泌体: PD特征性病理结构LB最主要的结构成分即错误折叠的 $\alpha$ -突触核蛋白(alpha-synuclein,  $\alpha$ -syn)。尽管运动症状是最早被描述、也是最具代表性的临床特征,事实上一些非运动症状往往在病程更早期出现,而后者已成为PD领域研究的热点之一。上述现象可能是结构病变的外显,即中脑黑质纹状体是最经典的发生病理损害的脑区,而近来的研究表明嗅球甚至肠神经系统(可出现嗅觉障碍或便秘等症状)更早受到LB侵害。有假说认为 $\alpha$ -syn通过类似于朊病毒样的传播过程,由非中枢神经系统起源,逐步累及脑干、大脑皮层等高级脑区<sup>[6-8]</sup>。

很多研究探讨了外泌体在 $\alpha$ -syn跨细胞传播中的作用。野生型和突变型 $\alpha$ -syn是一种非折叠的单体蛋白质,具有错误折叠成纤维样或寡聚原纤维样结构的倾向,这种自我聚集的特点与 $\alpha$ -syn致病性密切相关<sup>[9]</sup>。作为一种细胞内蛋白质, $\alpha$ -syn也可在血浆、脑脊液及神经元细胞培养基中检测到。Emmanouilidou等<sup>[10]</sup>揭示了 $\alpha$ -syn的细胞外分泌是以钙离子依赖的方式与外泌体相关联,并发现含 $\alpha$ -syn的条件培养基可导致受体神经元细胞死亡;清除其中的 $\alpha$ -syn可使这一效应逆转,提示 $\alpha$ -syn的跨细胞转运特性及毒性。Alvarez-Erviti等<sup>[11]</sup>证实过表达野生型 $\alpha$ -syn的SH-SY5Y细胞可释放含有 $\alpha$ -syn的外泌体,并借此将 $\alpha$ -syn传递至正常SH-SY5Y细胞中,而溶酶体功能失调可加速 $\alpha$ -syn的释放和传递。上述研究验证了在体外模型中,以外泌体为载体的 $\alpha$ -syn对PD病理进展的作用。Danzer等<sup>[12]</sup>对 $\alpha$ -syn寡聚体的细胞间传播进行了研究,发现了两种途径——以外泌体为载体或游离态。相比于后者,含 $\alpha$ -syn的外泌体更易被受体细胞摄取,诱导更强的细胞毒性。Stuendl等<sup>[13]</sup>报道了来源于PD患者脑脊液中的外泌体可诱导 $\alpha$ -syn寡聚体形成。以上结论均表明,由外泌体介导的 $\alpha$ -syn/ $\alpha$ -syn寡聚体的细胞外释放和胞间转运参与了PD的发生发展过程。

2. 神经炎症与外泌体: 炎症是PD发病机制中的一个关键过程。适度的炎症反应对神经组织修复是必要的,而过度 and 延迟的反应可引发神经炎症的恶

性循环,最终导致疾病进展。外泌体参与了炎症反应的不同阶段,包括激活和恶化过程。有研究报道,神经元分泌的 $\alpha$ -syn可被小胶质细胞<sup>[14]</sup>和星形胶质细胞<sup>[15]</sup>吞噬、清除,而胶质细胞内 $\alpha$ -syn负荷过重则会触发其释放更多的炎性介质,最终导致胶质细胞死亡。Chang等<sup>[16]</sup>发现 $\alpha$ -syn可诱导BV-2小胶质细胞释放大量表达主要组织相容性复合体和肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)的外泌体,这些外泌体与皮质神经元共培养时,可导致细胞凋亡增加。此外,Blieberhaeuser等<sup>[17]</sup>证实来自幼龄小鼠的小胶质细胞和单核细胞对于 $\alpha$ -syn寡聚体的吞噬能力增加,同时促炎细胞因子,如TNF- $\alpha$ 的分泌减少,由此可推测老龄小鼠脑中的小胶质细胞,清除 $\alpha$ -syn寡聚体的能力下降,甚至可能加速其分泌,从而促进神经元变性死亡。目前,外泌体在神经炎症中的确切作用和具体机制仍未完全阐明,需要更多研究证据支持。

3. 外泌体miRNAs与PD: miRNA是一种最常见的非编码RNA,通常由20~24个核苷酸组成,通过和mRNA 3'-非翻译区的相互作用介导转录后修饰,从而调节细胞增殖、分化和凋亡等生物过程。研究表明外泌体miRNAs与PD发病密切相关。Jiang等<sup>[18]</sup>报道了在PD患者中,血清外泌体miR-137表达水平增加,参与神经元氧化应激的诱导,即miR-137直接靶向作用氧化抵抗1基因(OXR1),下调其表达,从而增加对氧化应激的易感性。在锰诱导的PD细胞模型中,外泌体中12种miRNAs水平显著升高,包括miR-210-5p、miR-128-1-5p、miR-505-5p、miR-325-5p、miR-16-5p、miR-1306-5p、miR-669b-5p、miR-125b-5p、miR-450b-3p、miR-24-2-5p、miR-6516-3p和miR-1291,它们参与调节PD发病过程中的某些关键通路,如蛋白质异常聚集、自噬和炎症等<sup>[19]</sup>。Gui等<sup>[20]</sup>研究了PD患者脑脊液外泌体中miRNAs的表达情况,发现miR-1、miR-19b-3p等11种miRNAs表达水平降低,miR-153、miR-409-3p、miR-10a-5p和let-7p-3p等16种miRNAs表达水平增加,涉及了多巴胺能突触、泛素介导的蛋白水解、神经营养因子等PD相关的信号通路。生物体中,miRNA-mRNA-DNA的调控网络复杂而精密,更加广泛、深入的研究将揭示外泌体miRNAs在PD发病机制中的作用。

### 三、外泌体作为PD诊断标志物的来源

外泌体组分能够直接反映起源组织、细胞的状态,间接体现疾病的发生发展进程;外泌体广泛存

在于各种生物体液中,获取样本方便快捷;囊泡结构能够保证内容物的稳定,保证检验结果的可靠性。这些特殊优势使得外泌体成为生物体内筛选疾病诊断标志物的重要来源。

在PD中, $\alpha$ -syn可作为疾病诊断和病程分期的标志物。有研究检测了PD、路易体痴呆和健康对照组脑脊液外泌体中 $\alpha$ -syn的水平,发现PD组脑脊液总 $\alpha$ -syn和外泌体 $\alpha$ -syn水平均显著低于健康对照组,而外泌体 $\alpha$ -syn水平高于路易体痴呆组,结果具有较高的敏感性(85.7%)和特异性(80.6%)<sup>[13]</sup>。考虑到PD和路易体痴呆在发病早期可能具有相似的临床表现,外泌体 $\alpha$ -syn定量检测对于鉴别诊断有一定的参考价值。最近的一项研究表明,早期PD组血浆外泌体 $\alpha$ -syn的水平高于特发性快速眼动睡眠行为障碍和健康对照组,其水平与疾病严重性呈正相关;在随访中,运动症状恶化的患者 $\alpha$ -syn的水平也相应升高<sup>[21]</sup>,提示外泌体 $\alpha$ -syn在鉴别诊断、预后评估中的作用。需要注意的是,外泌体 $\alpha$ -syn水平在脑脊液和血浆中并不一致,可能的解释是中枢 $\alpha$ -syn外排增加(即作为一种清除脑内过量的、具有潜在毒性的 $\alpha$ -syn的机制),同时血浆中还包括外周组织(如肠道)来源的 $\alpha$ -syn。

DJ-1作为氧化应激相关基因,参与家族遗传性和散发性PD的发病。汪银洲团队发现,和对照组相比,PD组血浆中,神经元来源的外泌体(由LICAM所标记)DJ-1表达水平及其与总DJ-1的比值均显著增加<sup>[22]</sup>。然而,PD人群脑脊液和血浆(或血清)中DJ-1的水平是否存在显著性变化,目前还有争议<sup>[23-24]</sup>,而两种体液中外泌体DJ-1水平的比较尚无报道。

Cao等<sup>[25]</sup>描述了PD组和对照组血清外泌体miRNA表达谱,其中miR-24、miR-195表达水平上升,miR-19b水平显著下降,曲线下面积(area under the curve, AUC)分别达到0.908、0.697、0.753,提示三者区分PD和健康状态的效能。Yao等<sup>[26]</sup>的研究表明在PD患者血浆外泌体中,miR-331-5p过表达,miR-505表达水平显著降低,而这两种miRNAs在血浆中的表达水平与对照组相比并无显著差异,表现了外泌体miRNAs作为生物标志物的优势。研究人员通过对血浆外泌体中长链非编码RNA(long non-coding RNA, lncRNA)水平的检测,筛选出39种异常表达的lncRNAs,其中lnc-MKRN-42:1的水平与PD患者帕金森病综合评分量表(Unified PD Rating Scale, UPDRS) III评分呈正相关,可用于预测疾病严重程度<sup>[27]</sup>。然而,上述三个研究的检测对象是血浆

(或血清)中总外泌体,并未强调神经系统来源,故不能排除外周组织产生的外泌体所带来的影响,对于研究结果的解释应更慎重。

由此可见,外泌体作为PD标志物来源的研究确实取得了一定的成果,但仍面临以下两个问题:一是多数研究样本量偏少,阳性结果需在大规模、多中心的临床研究中进一步验证;二是检测样本的选择,尽管脑脊液被认为是筛选中枢神经系统(CNS)标志物的最佳来源,但考虑到某些分子(如 $\alpha$ -syn、miRNAs)亦可由外周经外泌体转运至中枢,以及获取脑脊液的不便性,其在外泌体标志物领域的应用可能受限,外周血标本获取更方便,但其中外泌体成分复杂,需准确辨别CNS起源,这无疑大大增加了技术成本。

#### 四、外泌体在PD治疗中的价值

外泌体膜包被的结构可装载生物活性分子,满足个体化治疗需求;能自由通过血脑屏障,从而传递药物进入CNS发挥作用;良好的生物相容性使外泌体进入机体后免受免疫系统的攻击和破坏。以上特点决定了外泌体在PD治疗中的潜在价值。目前,该领域的研究对象主要是间充质干细胞(mesenchymal stem cell, MSC)来源的外泌体和人工修饰外泌体。

MSC具有促进组织修复、神经再生的能力。Gugliandolo等<sup>[28]</sup>研究发现,向1-甲基-4-苯基-1,2,3,6-四氢吡啶(MPTP)动物模型注射MSCs能够诱导多巴胺能神经元表型;在6-羟基多巴胺(6-hydroxydopamine, 6-OHDA)诱导的PD大鼠模型中,纹状体内移植MSCs可促使酪氨酸羟化酶表达,抑制免疫反应,改善大鼠行为学表现<sup>[29]</sup>。MSC来源的外泌体可发挥与MSCs类似的作用,并降低了异体细胞移植带来的风险,已逐渐成为干细胞研究领域的新兴热点。Perets等<sup>[30]</sup>通过CT神经影像技术,以纳米金粒子作为标志物,追踪了骨髓MSC外泌体经鼻给药后在小鼠脑内的迁移情况,发现外泌体可特异性靶向、聚集至某些疾病(包括卒中、自闭症、PD等)病理损害的脑区,并被神经元选择性摄取,这为外泌体的临床应用提供了理论依据。在6-OHDA诱导的细胞模型中,取材自人脱落乳牙牙髓的MSC外泌体,能够抑制多巴胺能神经元的凋亡;这一效应见于有层粘连蛋白涂层微载体的生物反应器中,而在常规培养基中不明显,提示不同的培养条件可影响外泌体功能的发挥<sup>[31]</sup>。在PD大鼠模型,Mendes-Pinheiro等<sup>[32]</sup>直接向黑质、纹状体注射骨髓

MSC分泌组(包括多种生物活性分子和外泌体),可有效保护多巴胺能神经元,改善大鼠行为学表现,验证了外泌体旁分泌途径是MSCs发挥功能的基础。Chen等<sup>[33]</sup>也证实人脐带MSC来源的外泌体在体内、体外实验中的治疗效应,并认为外泌体所诱导的自噬增强是可能的作用机制。

对于人工修饰的外泌体,在体内、体外条件下有多种方法装载“货物”。体外可采用电穿孔、超声、脂质体转染、挤压、膜渗透剂(如表面活性剂)孵育、冻融循环等,其中孵育法最常见,广泛用于肿瘤领域<sup>[34]</sup>;体内条件下,药物分子可通过转染的方式载入供体细胞,再经正常的分泌途径进入外泌体<sup>[35]</sup>。Haney等<sup>[36]</sup>开发了一种新的基于外泌体的药物传递系统,体外条件下将过氧化物酶载入外泌体,经验证每个外泌体中含有约 $(940 \pm 15)$ 个过氧化物酶分子。经外泌体处理后的活化巨噬细胞体外模型中,活性氧水平显著降低;6-OHDA诱导的小鼠模型中,相比于游离形式的过氧化物酶,经鼻给予外泌体可显著降低脑炎症水平,提高神经元存活率;安全性方面,仅作为载体的外泌体并未表现出神经毒性。小干扰RNA(small interfering RNA, siRNA)是由21~23个核苷酸组成的双链RNA分子,包括引导链和随从链,通过与RNA诱导的沉默复合物结合,形成典型的RNA干扰效应分子,在转录后水平降解mRNA,从而下调基因表达。Cooper等<sup>[37]</sup>经静脉向健康小鼠体内注射含有 $\alpha$ -syn siRNAs的外泌体,发现脑内 $\alpha$ -syn mRNA和蛋白质水平均显著降低,随后在S129D  $\alpha$ -syn转基因小鼠中得到了类似的结论。更重要的是,该结果证实了表达脑靶向狂犬病毒糖蛋白(rabies virus glycoprotein, RVG)的外泌体能够自主定位到中枢神经系统。2019年的一项研究同样运用了RVG修饰的外泌体,转运 $\alpha$ -syn短发夹RNA小环状分子,下调 $\alpha$ -syn基因的表达,减少蛋白质聚集,改善了实验动物的运动症状。实验条件下 $\alpha$ -syn的下调并未对正常神经功能产生不良影响(如纹状体多巴胺能神经支配、中脑酪氨酸羟化酶阳性染色神经元数目等)<sup>[38]</sup>。由于多巴胺不能自由通过血脑屏障,孙逊团队通过饱和溶液孵育法将多巴胺装载入外泌体中,多巴胺被成功的转运到黑质、纹状体区域,从而显著改善PD小鼠的症状。外泌体可在非损伤脑区(如海马)和外周器官(如肺、肝、肾、心脏、脾脏)被检测到,但并未导致显著的组织病理改变和功能损害(确实会引起肾脏毛细血管溶解,其程度与游离多巴胺作用相似,可能是外泌

体被破坏,随后在肾脏释放多巴胺所致)<sup>[39]</sup>。

MSCs来源的外泌体的神经保护效应已在诸多体内、外实验中得到验证,对于外泌体内容物的蛋白质组或miRNA组分析将揭示具体的效应分子及可能的作用通路。外泌体作为载体的研究包括药物选择、装载、靶向、结果观察等,而较少涉及安全性评估,或观察时间较短(21~100 d)。除了被关注的效应分子,目前并不能完全识别外泌体中其他的生物分子,它们对受体细胞的作用(如特定信号通路的活化、基因表达的调节)是不清楚的,甚至可能产生严重不良反应(如致癌基因的致癌作用)。

### 五、总结和展望

外泌体的研究在经历了早期爆发式的增长后,近些年热度已逐渐趋于平缓,但这并不意味着该领域的一些棘手问题已得到解决。如何简化外泌体分离提取的流程,实现批量化生产,如何确定“外泌体”产物的纯度,是目前基础和应用研究上的两个技术瓶颈。而随着分离纯化技术的发展,对外泌体种群异质性和生物功能的认识也在不断进步,这是后续应用研究的基础。在神经变性病尤其是PD领域,早期诊断和早期干预尤为重要。特定损伤脑区(如黑质、纹状体)或细胞种群(如多巴胺能神经元)来源的外泌体可携带高灵敏度、特异度的生物标志物,可能在传统的PD诊断标准基础上开拓新方向。外泌体中的蛋白质、miRNA异常表达谱需要在更大规模的人群中进行验证,阐明相互之间协同或拮抗的作用关系,并明确相应的靶基因和生物通路。在治疗方面,我们的目光不应仅局限在CNS,还要在更长时间维度上观察外泌体应用对整体健康和疾病状态的影响。相信随着外泌体学科的发展,由细胞、动物实验逐渐过渡到大规模临床样本的研究结果将为外泌体的应用提供更可信的依据。

**利益冲突** 文章所有作者共同认可文章无相关利益冲突

**作者贡献声明** 文献调研与整理为金桃、顾嘉晨,论文撰写与修订为金桃,桂雅星审校

### 参 考 文 献

- [1] 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. DOI: 10.1080/20013078.2018.1535750.
- [2] Kalluri R, LeBleu VS. The biology, function, and biomedical applications of exosomes[J]. *Science*, 2020, 367(6478): eaau6977. DOI: 10.1126/science.aau6977.
- [3] Yang DB, Zhang WH, Zhang HY, et al. Progress, opportunity, and perspective on exosome isolation - efforts for efficient exosome-based theranostics[J]. *Theranostics*, 2020, 10(8): 3684-3707. DOI: 10.7150/tno.41580.
- [4] Gaceb A, Martinez MC, Andriantsitohaina R. Extracellular vesicles: new players in cardiovascular diseases[J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2014, 50: 24-28. DOI: 10.1016/j.biocel.2014.01.018.
- [5] Porro C, Di Gioia S, Trotta T, et al. Pro-inflammatory effect of cystic fibrosis sputum microparticles in the murine lung[J]. *J Cyst Fibros*, 2013, 12(6): 721-728. DOI: 10.1016/j.jcf.2013.03.002.
- [6] Braak H, Rüb U, Gai WP, et al. Idiopathic Parkinson's disease: possible routes by which vulnerable neuronal types may be subject to neuroinvasion by an unknown pathogen[J]. *J Neural Transm (Vienna)*, 2003, 110(5): 517-536. DOI: 10.1007/s00702-002-0808-2.
- [7] Del Tredici K, Braak H. Review: Sporadic Parkinson's disease: development and distribution of  $\alpha$ -synuclein pathology[J]. *Neuropathol Appl Neurobiol*, 2016, 42(1): 33-50. DOI: 10.1111/nan.12298.
- [8] Olanow CW, Brundin P. Parkinson's disease and alpha synuclein: is Parkinson's disease a prion-like disorder[J]. *Mov Disord*, 2013, 28(1): 31-40. DOI: 10.1002/mds.25373.
- [9] Su XM, Federoff HJ, Maguire-Zeiss KA. Mutant alpha-synuclein overexpression mediates early proinflammatory activity[J]. *Neurotox Res*, 2009, 16(3): 238-254. DOI: 10.1007/s12640-009-9053-x.
- [10] Emmanouilidou E, Melachroinou K, Roumeliotis T, et al. Cell-produced alpha-synuclein is secreted in a calcium-dependent manner by exosomes and impacts neuronal survival[J]. *J Neurosci*, 2010, 30(20): 6838-6851. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.5699-09.2010.
- [11] Alvarez-Erviti L, Seow Y, Schapira AH, et al. Lysosomal dysfunction increases exosome-mediated alpha-synuclein release and transmission[J]. *Neurobiol Dis*, 2011, 42(3): 360-367. DOI: 10.1016/j.nbd.2011.01.029.
- [12] Danzer KM, Kranich LR, Ruf WP, et al. Exosomal cell-to-cell transmission of alpha synuclein oligomers[J]. *Mol Neurodegener*, 2012, 7: 42. DOI: 10.1186/1750-1326-7-42.
- [13] Stuenkel A, Kunadt M, Kruse N, et al. Induction of  $\alpha$ -synuclein aggregate formation by CSF exosomes from patients with Parkinson's disease and dementia with Lewy bodies[J]. *Brain*, 2016, 139(Pt 2): 481-494. DOI: 10.1093/brain/awv346.
- [14] Alvarez-Erviti L, Couch Y, Richardson J, et al. Alpha-synuclein release by neurons activates the inflammatory response in a microglial cell line[J]. *Neurosci Res*, 2011, 69(4): 337-342. DOI: 10.1016/j.neures.2010.12.020.
- [15] Lee HJ, Suk JE, Patrick C, et al. Direct transfer of alpha-synuclein from neuron to astroglia causes inflammatory responses in synucleinopathies[J]. *J Biol Chem*, 2010, 285(12): 9262-9272. DOI: 10.1074/jbc.M109.081125.
- [16] Chang CW, Lang HJ, Geng N, et al. Exosomes of BV-2 cells induced by alpha-synuclein: important mediator of neurodegeneration in PD[J]. *Neurosci Lett*, 2013, 548: 190-195. DOI: 10.1016/j.neulet.2013.06.009.
- [17] Bliederaeuser C, Grozdanov V, Speidel A, et al. Age-dependent defects of alpha-synuclein oligomer uptake in microglia and monocytes[J]. *Acta Neuropathol*, 2016, 131(3): 379-391. DOI: 10.1007/s00401-015-1504-2.

- [ 18 ] Jiang Y, Liu J, Chen LZ, et al. Serum secreted miR-137-containing exosomes affects oxidative stress of neurons by regulating OXR1 in Parkinson's disease[J]. *Brain Res*, 2019, 1722: 146331. DOI: 10.1016/j.brainres.2019.146331.
- [ 19 ] Harischandra DS, Ghaisas S, Rokad D, et al. Environmental neurotoxicant manganese regulates exosome-mediated extracellular miRNAs in cell culture model of Parkinson's disease: Relevance to  $\alpha$ -synuclein misfolding in metal neurotoxicity[J]. *Neurotoxicology*, 2018, 64: 267-277. DOI: 10.1016/j.neuro.2017.04.007.
- [ 20 ] Gui YX, Liu H, Zhang LS, et al. Altered microRNA profiles in cerebrospinal fluid exosome in Parkinson disease and Alzheimer disease[J]. *Oncotarget*, 2015, 6(35): 37043-37053. DOI: 10.18632/oncotarget.6158.
- [ 21 ] Niu M, Li Y, Li G, et al. A longitudinal study on  $\alpha$ -synuclein in plasma neuronal exosomes as a biomarker for Parkinson's disease development and progression[J]. *Eur J Neurol*, 2020, 27(6): 967-974. DOI: 10.1111/ene.14208.
- [ 22 ] Zhao ZH, Chen ZT, Zhou RL, et al. Increased DJ-1 and  $\alpha$ -Synuclein in Plasma Neural-Derived Exosomes as Potential Markers for Parkinson's Disease[J]. *Front Aging Neurosci*, 2019, 10: 438. DOI: 10.3389/fnagi.2018.00438.
- [ 23 ] An CN, Pu XP, Xiao WZ, et al. Expression of the DJ-1 protein in the serum of Chinese patients with Parkinson's disease[J]. *Neurosci Lett*, 2018, 665: 236-239. DOI: 10.1016/j.neulet.2017.12.023.
- [ 24 ] Lin XM, Cook TJ, Zabetian CP, et al. DJ-1 isoforms in whole blood as potential biomarkers of Parkinson disease[J]. *Sci Rep*, 2012, 2: 954. DOI: 10.1038/srep00954.
- [ 25 ] Cao XY, Lu JM, Zhao ZQ, et al. MicroRNA biomarkers of Parkinson's disease in serum exosome-like microvesicles[J]. *Neurosci Lett*, 2017, 644: 94-99. DOI: 10.1016/j.neulet.2017.02.045.
- [ 26 ] Yao YF, Qu MW, Li GC, et al. Circulating exosomal miRNAs as diagnostic biomarkers in Parkinson's disease[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2018, 22(16): 5278-5283. DOI: 10.26355/eurrev\_201808\_15727.
- [ 27 ] Wang Q, Han CL, Wang KL, et al. Integrated analysis of exosomal lncRNA and mRNA expression profiles reveals the involvement of lnc-MKRN2-42: 1 in the pathogenesis of Parkinson's disease[J]. *CNS Neurosci Ther*, 2020, 26(5): 527-537. DOI: 10.1111/cns.13277.
- [ 28 ] Gugliandolo A, Bramanti P, Mazzon E. Mesenchymal stem cell therapy in Parkinson's disease animal models[J]. *Curr Res Transl Med*, 2017, 65(2): 51-60. DOI: 10.1016/j.retram.2016.10.007.
- [ 29 ] Suzuki S, Kawamata J, Iwahara N, et al. Intravenous mesenchymal stem cell administration exhibits therapeutic effects against 6-hydroxydopamine-induced dopaminergic neurodegeneration and glial activation in rats[J]. *Neurosci Lett*, 2015, 584: 276-281. DOI: 10.1016/j.neulet.2014.10.039.
- [ 30 ] Perets N, Betzer O, Shapira R, et al. Golden Exosomes Selectively Target Brain Pathologies in Neurodegenerative and Neurodevelopmental Disorders[J]. *Nano Lett*, 2019, 19(6): 3422-3431. DOI: 10.1021/acs.nanolett.8b04148.
- [ 31 ] Jarmalavičiūtė A, Tunaitis V, Pivoraite U, et al. Exosomes from dental pulp stem cells rescue human dopaminergic neurons from 6-hydroxy-dopamine-induced apoptosis[J]. *Cytotherapy*, 2015, 17(7): 932-939. DOI: 10.1016/j.jcyt.2014.07.013.
- [ 32 ] Mendes-Pinheiro B, Anjo SI, Manadas B, et al. Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells' Secretome Exerts Neuroprotective Effects in a Parkinson's Disease Rat Model[J]. *Front Bioeng Biotechnol*, 2019, 7: 294. DOI: 10.3389/fbioe.2019.00294.
- [ 33 ] Chen HX, Liang FC, Gu P, et al. Exosomes derived from mesenchymal stem cells repair a Parkinson's disease model by inducing autophagy[J]. *Cell Death Dis*, 2020, 11(4): 288. DOI: 10.1038/s41419-020-2473-5.
- [ 34 ] Szatanek R, Baj-Krzyworzeka M, Zimoch J, et al. The Methods of Choice for Extracellular Vesicles (EVs) Characterization[J]. *Int J Mol Sci*, 2017, 18(6): 1153. DOI: 10.3390/ijms18061153.
- [ 35 ] Das CK, Jena BC, Banerjee I, et al. Exosome as a Novel Shuttle for Delivery of Therapeutics across Biological Barriers[J]. *Mol Pharm*, 2019, 16(1): 24-40. DOI: 10.1021/acs.molpharmaceut.8b00901.
- [ 36 ] Haney MJ, Klyachko NL, Zhao YL, et al. Exosomes as drug delivery vehicles for Parkinson's disease therapy[J]. *J Control Release*, 2015, 207: 18-30. DOI: 10.1016/j.jconrel.2015.03.033.
- [ 37 ] Cooper JM, Wiklander PBO, Nordin JZ, et al. Systemic exosomal siRNA delivery reduced alpha-synuclein aggregates in brains of transgenic mice[J]. *Mov Disord*, 2014, 29(12): 1476-1485. DOI: 10.1002/mds.25978.
- [ 38 ] Izco M, Blesa J, Schlee M, et al. Systemic Exosomal Delivery of shRNA Minicircles Prevents Parkinsonian Pathology[J]. *Mol Ther*, 2019, 27(12): 2111-2122. DOI: 10.1016/j.ymthe.2019.08.010.
- [ 39 ] Qu MK, Lin Q, Huang LY, et al. Dopamine-loaded blood exosomes targeted to brain for better treatment of Parkinson's disease[J]. *J Control Release*, 2018, 287: 156-166. DOI: 10.1016/j.jconrel.2018.08.035.

(收稿日期: 2020-08-03)

(本文编辑: 戚红丹)