

基于外泌体探讨卒中后认知障碍的中医辨治^{*}

齐宝云¹ 刘飞^{2**}

(1. 北京中医药大学东直门医院(通州院区), 北京 101121; 2. 呼和浩特市蒙医中医医院, 内蒙古 呼和浩特 010020)

摘要:外泌体是细胞分泌的一种微型囊泡,具有特异性、稳定性、靶向性和载体性等生物学特性,可以安全而高效的通过血脑屏障,可作为药物载体,起到靶向治疗的作用。随着研究的逐步进展,发现外泌体在脑血管病和认知障碍疾病的发生、发展、诊断、治疗中起到重要作用。基于此,在“病证结合”整体观的指导下,通过探讨卒中后认知障碍(Post-stroke cognitive impairment, PSCI)的中医辨治,为中医药治疗卒中后认知障碍提供新的思路。

关键词:卒中;认知障碍;外泌体;中医药疗法

中图分类号:R241

文献标识码:A

文章编号:1672-0571(2023)03-0020-05

DOI:10.13424/j.cnki.mtcm.2023.03.004

卒中后认知障碍(Post-stroke cognitive impairment, PSCI)发生在卒中事件之后,属中医“呆病”范畴。2021 年《欧洲卒中组织(ESO)和欧洲神经学学会(EAN)卒中后认知障碍联合指南》将 PSCI 概括为:中风后发生的所有认知问题,无论病因如何^[1]。2021 年我国《卒中后认知障碍管理专家共识》将 PSCI 定义为:指在卒中事件后出现并持续到 6 个月时仍存在的以认知损害为特征的临床综合征^[2],强调了卒中与认知障碍潜在的因果关系以及两者之间临床管理的关系。PSCI 属于血管性认知障碍(vascular cognitive impairment, VCI)的一个重要亚型。PSCI 较阿尔茨海默病(Alzheimer disease, AD)等神经系统退行性疾病引起的痴呆不同,其特指发生于卒中后的认知功能下降。认知功能下降是卒中后的常见并发症,PSCI 的发病率为 24% ~ 53.4%^[3]。目前临床上 PSCI 的诊断主要依赖临床表现、神经影像学检查和神经心理评估。国际上开始关注和识别认知损害程度尚未达到痴呆程度的早期 PSCI 患者,认为对这些人群进

行早期干预将更有助于改善预后。但遗憾的是,目前没有获得批准的治疗 PSCI 的药物^[1]。而中医治疗呆病历史悠久^[4],尤其在血管性痴呆方面优势显著^[5]。

外泌体是直径为 30 ~ 150 nm 的细胞外囊泡,由细胞自主分泌,广泛存在于多种液体中,可传递多种生物活性成分,如蛋白质、核酸、脂类物质,包括信使 RNA(mRNAs)、microRNAs(miRNAs)和其他非编码 RNAs(ncRNAs),具有特异性、稳定性、靶向性和载体性等生物学特性^[6-8]。在机体正常的生理和病理过程中外泌体介导多种细胞外和细胞间活动,如细胞间通讯、免疫调节、干细胞分裂或分化、新生血管形成和细胞废物清除等^[9]。有研究显示:血液中外泌体能够作为胰腺癌^[10]、前列腺癌^[11]、胃癌^[12]、肺癌^[13]、阿尔兹海默^[14]和结直肠癌^[15]等疾病早期诊断和疗效评价的标志物。由于血脑屏障的存在,多种药物难以进入脑内,这为神经系统疾病的治疗带来困难。外泌体可安全而高效的穿过血脑屏障,是一种理想的治疗神经系

* 基金项目:北京中医药大学青年教师项目(2019-BUCMXJKY021);国家重点研发计划项目(2018YFF0212505)

** 通讯作者:刘飞,副主任医师。E-mail:liufei19690509@163.com

统疾病的药物载体^[16],在神经系统疾病的治疗方面具有巨大潜力。

1 外泌体与卒中后认知障碍的关系

1.1 外泌体与脑血管病的关系 外泌体作为信号分子的载体,介导神经细胞间通讯和调节生命活动,在脑血管病的发生发展中起到促进血管生成、抑制炎症反应、保护神经、增强神经可塑性等作用。内皮祖细胞来源的外泌体 miR-126 和 miR-296 可上调血管生成因子,促进血管生成^[17]。干细胞来源的外泌体 GD-C1C2,可以靶向缺血性脑卒中的病变区域,且能够抑制炎症发生^[18]。有学者在缺血性脑损伤的大鼠干细胞中发现,外泌体 Zeb2 基因具有重要的神经保护作用^[19]。多种 miRNA 通过外泌体促进神经重塑,如转移 miR-17-92 簇可激活神经元生长信号、促进轴突再生^[20],间充质干细胞来源的外泌体通过传递 miR-133b 调节神经生长、促进神经功能恢复^[21]。

外泌体可以自由跨过血脑屏障,进入中枢神经系统,作为药物的载体^[22],起到治疗脑血管病的作用。有学者发现^[23]神经干细胞来源的外泌体 IFN- γ -hNSC-Exo 在缺血性中风大鼠的治疗中发挥着重要作用。RGD-C1C2 融合蛋白修饰的干细胞来源的外泌体,因其具有靶向缺血性脑卒中的病变区域且能够抑制炎症,可作为一种潜在的缺血性脑卒中新型治疗剂^[24]。

由此可见,外泌体在脑血管病的发生、发展、治疗中显示出了很大潜能,为脑血管病的进一步研究提供了新的思路。

1.2 外泌体与认知障碍的关系 PSCI 是继发于脑卒中事件之后的认知功能下降,属于 VCI 的一个亚型。患者卒中后认知功能评定主要依靠神经心理评估,但评估会受到患者的语言、情绪、年龄、受教育情况或评估环境等因素影响,故 PSCI 的诊断在一定程度上缺乏客观性。我国《卒中后认知障碍管理专家共识》^[2]中说:老年卒中患者发生认知障碍的概率显著增加,而临床尚缺乏早期预测 PSCI 的客观生物标志物。近年来外泌体因其特有的生物学特性和功能,逐渐成为医学领域的一大研究热点。

外泌体在认知障碍的发生、发展中起到重要

作用。有学者发现^[25]富含星形胶质细胞特异性细胞外囊泡标志物的蛋白质模块与认知障碍的发生显著相关。人类神经细胞类型(兴奋性神经元、星形胶质细胞、小胶质细胞样细胞和少突胶质细胞样细胞)特异性细胞外囊泡蛋白质与 AD 的发生、发展密切相关。 β 淀粉样蛋白 1-42 与缺血性脑卒中后认知障碍密切相关^[26]。

外泌体在认知障碍的诊断方面表现出其作为生物标志物的巨大潜力。AD 患者血清样本中外泌体 miRNA-125b 和 miRNA-361 的组合表现出很好的诊断性能^[27]。

外泌体可能成为一种治疗认知障碍的新方法。有学者在 VCI 的小鼠模型中发现^[28]:在小鼠脑白质损伤、脑低灌注引发记忆障碍的过程中,TNF α -miR-501-3p-ZO-1 轴起重要作用,提出抑制 miR-501-3p 有可能成为一种潜在的治疗慢性脑低灌注引发的 VCI 的新疗法。

可见外泌体在认知障碍疾病的发生、发展、诊断、治疗中起着重要的作用。因其特有生物学特性和功能,为 PSCI 发病机制研究及诊断、治疗等提供新的思路。

2 外泌体与中医药研究现状

2.1 病证结合的整体观 在中医证候的现代研究中,“病证结合”的研究思路具有重要的指导意义^[29]。作为中西医结合研究的重要模式,病证结合的临床研究就是将中医辨证论治中“证”的概念与西医“病”的理论相结合,结合现代研究技术和方法,使证候更加客观化,使辨证论治更具科学性^[30],目前已应用到临床疾病的诊疗中^[31]。临床辨证是对患病个体个性特征的充分体现,是对患病个体某个阶段、时期特定临床症状、体征的高度归纳,也是对疾病个体间差异的高度总结,同一疾病在不同的患者身上可以表现为不同的中医证候类型,当然也会导致治疗上的差异,两者的有机结合才能准确反映疾病及患者的状态,才能为医者提供预测疾病预后和正确评判疗效的方法。

外泌体的特性与中医临床辨证的特点十分吻合。外泌体在机体正常的生理和病理过程中可介导多种细胞外和细胞间活动,具有特异性、稳定性、靶向性和载体性等生物学特性,故通过规模化

研究患病生物体液中不同时间、空间的外泌体蛋白表达差异,在整体水平上阐释患病生物体内关键信号通路蛋白-蛋白相互作用,揭示同一疾病不同时间的生物学特征或不同疾病同一时间的生物学特征。故可利用外泌体在不同疾病或疾病的不同过程中内容物的不同,或中医治疗前后外泌体内容物的变化,探索外泌体与中医辨证、治疗的关系,有助于更全面地阐释中医证候的生物机制、为中医证候的现代研究提供科学证据。如有学者发现^[32]外泌体 miR-451, miR-6881-3p, miR-1292-5p, miR-6786-3p, miR-3661 在冠心病痰浊血瘀证中下降趋势明显,而 miR-451 的表达降低,促进了冠心病痰浊血瘀证的发展。有学者^[33]在基于外泌体 RNA 探讨四君子汤治疗胃癌脾胃气虚证的研究中发现,外泌体 miR-151a-3p 参与了胃癌脾虚证的发生、发展,进而发挥健脾益气效应。还有学者^[34]在异病同证,同病异证的中医学理论指导下,基于唾液外泌体 exoRNA 表达谱,提出从分子机制角度进一步促进中医证候的精准化发展。

综上所述,外泌体作为细胞间物质和信息的载体,调控着细胞间信息分子的传递,参与调控各项生理过程和病理变化,在“病证结合”整体观的研究思路下,外泌体可作为证候机制研究的一条新途径^[35]。

2.2 外泌体与中药 由于血脑屏障的存在,多种药物难以进入脑内,这为神经系统疾病的治疗带来困难。现代医学在 PSCI 的治疗方面尚缺乏高质量的临床证据,目前没有被批准的治疗卒中后认知障碍的药物^[1]。而中医药在治疗中风病及呆病方面历史悠久,有学者在研究中药治疗 PSCI 的机制^[36],但因中药有多成分、多靶点、整体调节的作用,具体作用机制目前尚未阐明。而外泌体既可穿透血脑屏障,也可作为药物的载体,因其特有的生物学特性和功能,在中药的作用机制研究方面发挥了重要作用。补阳还五汤出自《医林改错》,是治疗中风病恢复期气虚血瘀证的常用方剂。有学者发现^[37]补阳还五汤治疗脑梗死气虚血瘀证患者后,患者血清外泌体 lncRNA 的表达变化明显,考虑外泌体 lncRNA 与补阳还五汤的作用机制相关。有学者用阳化汤治疗急性缺血性中风阳虚证

患者,发现阳化汤可能通过下调急性缺血性中风阳虚证患者血清外泌体 miR-9-3p/5p、miR-124-3p 的表达,进一步影响 cGMP-PKG 等信号途径,发挥治疗作用^[38]。川芎是治疗缺血性脑卒中的常用中药,有学者在间充质干细胞治疗急性缺血性中风的研究中发现^[39-40],川芎与骨髓间充质干细胞源性外泌体(BMSCs-Exo)联用,通过促进新生血管生成、减轻神经炎症反应、调控血脑屏障、增强神经可塑性等,更好的改善脑缺血大鼠的神经功能。黄芪常用于治疗缺血性中风气虚证患者,有学者发现^[41],将中药黄芪中提取的黄芪甲苷 IV 注射给缺血小鼠后,促进脑卒中后海马神经再生和神经干细胞增殖,改善脑卒中引起的认知功能下降,而外泌体来源的神经干细胞可能是海马神经再生的关键^[42]。

可见外泌体在中医药的研究中具有巨大潜力,为中医药的现代化研究提供科学证据,有助于进一步阐释中医药的药效机制。

2.3 外泌体与针刺 针刺治疗可以改善 PSCI 患者的预后^[43-44]。外泌体广泛分布于全身,因携带特异性生物信息分子,其既能反映机体生理和病理的变化,又能作为治疗疾病的靶点。有学者发现^[45]电针治疗可激活 HIF-1 α /VEGF/Notch 1 信号通路,通过外泌体 miR-210 促进缺血性卒中后血管生成。还有学者认为^[46],外泌体可以作为针刺信息传递的重要载体,通过人工干预回输外泌体可产生“类针刺样”作用,起到靶向治疗的目的。

可见,外泌体在揭示针刺治疗 PSCI 的作用机制方面发挥了重要作用。不仅从新的角度阐释了中医基础理论,而且为进一步探索中医针刺治疗 PSCI 的理论研究提供新的思路。

3 小结

目前国际上没有获得批准的治疗卒中后认知障碍疾病的药物。而中医药在治疗卒中后认知障碍方面积累了丰富的临证经验,有其独特的治疗优势。人体细胞正常分泌的外泌体可作为药物载体,高效的穿透血脑屏障,起到靶向治疗作用。越来越多的研究证明,外泌体在疾病的发生发展治疗中起着重要作用。外泌体可从生物整体角度高度概括研究生物特征,在病证结合研究思想的指

导下,整体水平规模化研究生物体液中分泌体的时间、空间表达水平的变化,揭示生物体内关键信号通路蛋白-蛋白相互作用,并贯穿于疾病的发生、发展、治疗中。故探讨中医药在治疗卒中后认知障碍疾病中的作用机理,成为国内学者研究的热点问题。当然外泌体研究也存在一些局限。首先,外泌体的分离、纯化和鉴定目前没有高效低廉的方法,如何大规模获取与疾病相关的外泌体是亟待积极的问题。其次,外泌体被公认为理想的药物载体,但在中医药治疗 PSCI 的过程中,外泌体相关通路表达的具体机制尚未阐明。因此随着相关研究的不断深入,外泌体作为中医药治疗 PSCI 新靶点的意义将逐步扩大。

参考文献

[1] Quinn TJ, Richard E, Teuschl Y, et al. European Stroke Organisation and European Academy of Neurology joint guidelines on post-stroke cognitive impairment[J]. European stroke journal, 2021, 6(3): 3883-3920.

[2] 中国卒中学会血管性认知障碍分会. 卒中后认知障碍管理专家共识 2021[J]. 中国卒中杂志, 2021, 16(4): 376-389.

[3] Lojw, Crawford JD, Desmond DW, et al. Profile of and risk factors for poststroke cognitive impairment in diverse ethno-regional groups[J]. Neurology, 2019, 93(24): e2257-e2271.

[4] 李伟峰,董新刚,王小璐,等. 痴呆病因病机古代文献探源[J]. 光明中医, 2021, 36(11): 1776-1779.

[5] 杜若飞,江始源,王文彬. 中医治疗血管性痴呆研究进展[J]. 中国中医药现代远程教育, 2022, 20(3): 193-196.

[6] Jarmalaviciute A, Pivoriunas A. Exosomes as a potential novel therapeutic tools against neurodegenerative diseases[J]. Pharmacological research, 2016, 113: 816-822.

[7] Sugaya K, Vaidya M. Stem cell therapies for neurodegenerative diseases[J]. Exosomes, Stem Cells and MicroRNA, 2018: 61-84.

[8] Li Z, Liu F, He X, et al. Exosomes derived from mesenchymal stem cells attenuate inflammation and demyelination of the central nervous system in EAE rats by regulating the polarization of microglia[J]. International immunopharmacology, 2019, 67: 268-280.

[9] Yane-mo M, Siljander PRM, Andreu Z, et al. Biological properties of extracellular vesicles and their physiological functions[J]. Journal of extracellular vesicles, 2015, 4(1): 27066.

[10] Melo SA, Luecke LB, Kahlert C, et al. Glypican-1 identifies cancer exosomes and detects early pancreatic cancer[J]. Nature, 2015, 523(7559): 177-182.

[11] Bhagirath D, Yang TL, Bucay N, et al. MicroRNA-1246 is an exosomal biomarker for aggressive prostate cancer[J]. Cancer research, 2018, 78(7): 1833-1844.

[12] Wang N, Wang L, Yang Y, et al. A serum exosomal microRNA panel as a potential biomarker test for gastric cancer[J]. Biochemical and biophysical research communications, 2017, 493(3): 1322-1328.

[13] Liu Q, Yu Z, Yuan S, et al. Circulating exosomal microRNAs as prognostic biomarkers for non-small-cell lung cancer[J]. Oncotarget, 2017, 8(8): 13048-13058.

[14] Lugli G, Cohen AM, Bennett DA, et al. Plasma exosomal miRNAs in persons with and without Alzheimer disease: altered expression and prospects for biomarkers[J]. PLoS one, 2015, 10(10): e0139233.

[15] Huang Z, Huang D, Ni S, et al. Plasma microRNAs are promising novel biomarkers for early detection of colorectal cancer[J]. International journal of cancer, 2010, 127(1): 118-126.

[16] He C, Zheng S, Luo Y, et al. Exosome theranostics: biology and translational medicine[J]. Theranostics, 2018, 8(1): 237-255.

[17] Cantaluppi V, Biancone L, Figliolini F, et al. Microvesicles derived from endothelial progenitor cells enhance neoangiogenesis of human pancreatic islets[J]. Cell transplantation, 2012, 21(6): 1305-1320.

[18] Tian T, Cao L, He C, et al. Targeted delivery of neural progenitor cell derived extracellular vesicles for anti-inflammation after cerebral ischemia[J]. Theranostics, 2021, 11(13): 6507-6521.

[19] 尚欣颖, 张伟. 骨髓间充质干细胞来源外泌体 Zeb2 在大鼠缺血性脑损伤后的表达及其意义[J]. 山东医药, 2021, 61(13): 13-16.

[20] Xin H, Katakowski M, Wang F, et al. MicroRNA-17-92 cluster in exosomes enhance neuroplasticity and functional recovery after stroke in rats[J]. Stroke, 2017, 48(3): 747-753.

[21] 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 transplantation, 2017, 26(2): 243-257.

[22] Ortega-Pineda L, Sunycz A, Salazar-Puerta AI, et al. De-

- signer Extracellular Vesicles Modulate Pro-Neuronal Cell Responses and Improve Intracranial Retention [J]. *Advanced Healthcare Materials*, 2022, 11(5): e 2100805.
- [23] 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]. *Journal of advanced research*, 2020, 24: 435-445.
- [24] Tian T, Cao L, He C, et al. Targeted delivery of neural progenitor cell-derived extracellular vesicles for anti-inflammation after cerebral ischemia [J]. *Theranostics*, 2021, 11(13): 6507-6521.
- [25] You Y, Muraoka S, Jedrychowski MP, et al. Human neural cell type-specific extracellular vesicle proteome defines disease-related molecules associated with activated astrocytes in Alzheimer's disease brain [J]. *Journal of Extracellular Vesicles*, 2022, 11(1): e12183.
- [26] Mao L, Chen XH, Zhuang JH, et al. Relationship between β -amyloid protein 1-42, thyroid hormone levels and the risk of cognitive impairment after ischemic stroke [J]. *World Journal of Clinical Cases*, 2020, 8(1): 76-87.
- [27] Song S, Lee JU, Jeon MJ, et al. Detection of multiplex exosomal miRNAs for clinically accurate diagnosis of Alzheimer's disease using label-free plasmonic biosensor based on DNA-Assembled advanced plasmonic architecture [J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2022, 199: 113864.
- [28] Toyama K, Spin JM, Deng AC, et al. MicroRNA-Mediated Therapy Modulating Blood-Brain Barrier Disruption Improves Vascular Cognitive Impairment [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2018, 38(6): 1392-1406.
- [29] 陈可冀. 病证结合治疗观与临床实践 [J]. *中国中西医结合杂志*, 2011, 31(8): 1016-1017.
- [30] 陈可冀, 宋军. 病证结合的临床研究是中西医结合研究的重要模式 [J]. *世界科学技术-中医药现代化*, 2006, 8(2): 1-5.
- [31] 吕继宏, 段玉红, 张效科. 《糖尿病周围神经病变病证结合诊疗指南》解读 [J]. *现代中医药*, 2022, 42(3): 32-36.
- [32] 王安琪. 冠心病痰浊血瘀证患者血清外泌体源性 miR-451 调控巨噬细胞炎症因子表达的分子机制 [D]. 沈阳: 辽宁中医药大学, 2020.
- [33] 雷慧珺. 基于外泌体 RNA 探讨四君子汤治疗胃癌脾胃气虚证的分子机制 [D]. 长沙: 湖南中医药大学, 2021.
- [34] 雷慧珺, 曹建中, 李丰. 基于唾液基因组学探讨慢性胃炎和胃癌脾虚证的分子机制研究 [C]. // 中国中西医结合学会诊断专业委员会第十三次全国学术研讨会论文集, 2019: 23.
- [35] 焦海燕, 严志祎, 刘玥芸, 等. 外泌体在中医证候研究中的应用 [J]. *中国中医药现代远程教育*, 2018, 16(1): 145-148.
- [36] 王瑞瑞, 毛忠南, 王瑞仙. 脑卒中后认知障碍中药治疗机制的研究进展 [J]. *现代临床研究*, 2020, 46(2): 146-149.
- [37] 陈博威, 刘柏炎, 黄昕, 等. 补阳还五汤对急性脑梗死患者血清外泌体 lncRNA 表达谱的研究 [J]. *世界科学技术-中医药现代化*, 2021, 23(6): 1988-1996.
- [38] 陈梓焜. 阳化汤对缺血性中风急性期阳虚证患者血清外泌体 miRNA 调控机制研究 [D]. 南宁: 广西中医药大学, 2021.
- [39] 潘小龙, 孙世标, 魏智慧, 等. 中药联合骨髓间充质干细胞治疗缺血性脑卒中作用及机制研究进展 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2022, 28(15): 248-258.
- [40] 姜萌萌. 芎归方协同 BMSCs-exosomes 干预脑卒中神经炎症的效应研究 [D]. 天津: 天津中医药大学, 2021.
- [41] Sun L, Zhang H, Wang W, et al. Astragaloside IV exerts cognitive benefits and promotes hippocampal neurogenesis in stroke mice by downregulating interleukin-17 expression via Wnt pathway [J]. *Frontiers in Pharmacology*, 2020, 11: 421.
- [42] 牛玉虎. 人间充质干细胞外泌体对海马神经再生及阿尔兹海默症动物模型治疗效应及机制的研究 [D]. 太原: 山西医科大学, 2021.
- [43] Wang SH, Yang HL, Zhang J, et al. Efficacy and safety assessment of acupuncture and nimodipine to treat mild cognitive impairment after cerebral infarction: a randomized controlled trial [J]. *BMC Complement Altern Med*, 2016, 16(1): 361.
- [44] 胡延超, 李瑞青, 郝文雪, 等. 电针治疗脑卒中后认知障碍的机理研究 [J]. *中国中医基础医学杂志*, 2021, 27(7): 1186-1190.
- [45] Xu SY, Zeng C L, Ni SM, et al. The angiogenesis effects of Electro-acupuncture treatment via exosomal miR-210 in cerebral ischemia-reperfusion rats [J]. *Current Neurovascular Research*, 2022.
- [46] 李柠岑, 郭义, 陈波, 等. “针刺网络药”——基于针刺网络调节特点的外泌体转化应用策略 [J]. *针刺研究*, 2021, 46(6): 464-468.

(修回日期: 2022-07-05 编辑: 杨芳艳)