

DOI: 10.13376/j.cblls/2019009

文章编号: 1004-0374(2019)01-0061-06

## 外泌体在中枢神经系统疾病中的功能与应用

李丹丹, 孙春霞, 乔媛媛, 张达矜\*

(中国人民解放军海军总医院基础医学研究中心, 北京 100048)

**摘要:** 外泌体是由多种类型的细胞经过一系列调控形成并可分泌到细胞外基质的膜性囊泡, 直径约 40~200 nm, 通过运送 mRNAs、miRNAs 和蛋白质等物质到靶细胞的方式发挥传递物质和交流信息的作用, 从而影响靶细胞的生命过程。作为一种新型的细胞间交流方式, 外泌体易透过血脑屏障。因此, 在阿尔茨海默病、帕金森病等多种神经系统疾病进展中发挥重要作用。有关外泌体的研究有助于加深人们对中枢神经疾病发生和发展机制的认识, 并可为中枢神经系统疾病的治疗提供新的方向。现对外泌体的一般特性、功能以及其作为神经系统疾病诊断标志物和治疗靶点的潜在价值进行综述。

**关键词:** 外泌体; 细胞外囊泡; 中枢神经系统

**中图分类号:** R329.2; R741 **文献标志码:** A

## The function and application of exosomes in central nervous system diseases

LI Dan-Dan, SUN Chun-Xia, QIAO Yuan-Yuan, ZHANG Da-Jin\*

(Center for Basic Medical Sciences, Navy General Hospital of Chinese PLA, Beijing 100048, China)

**Abstract:** Exosomes are membranous vesicles which can be formed by many types of cells and can be secreted into the extracellular matrix through a series of regulatory processes. The diameter of the exosomes varies from 40 to 200 nm. Exosomes could transmit substances, such as mRNAs, miRNAs and proteins, to affect the biological activity and communication of target cells. Exosomes could easily penetrate the blood-brain barrier and serve as a new way of intercellular communication, which play an important role in the progression of various neurological diseases such as Alzheimer's disease and Parkinson's disease. Researches of exosomes have been deepening the understanding of the occurrence and development mechanisms of central nervous system diseases and providing a new direction for the treatment of the diseases. This article gives a detailed introduction about the general characteristics and functions of exosomes, as well as their potential value as diagnostic markers and therapeutic targets for neurological diseases.

**Key words:** exosomes; extracellular vesicles; central nervous system

近年来,大量研究发现细胞外囊泡 (extracellular vesicles, EVs) 在细胞正常生理功能与疾病发生发展中发挥着重要的作用。继 2013 年度诺贝尔生理或医学奖授予研究细胞外囊泡相关领域的 3 位科学家之后, 细胞外囊泡的研究成为了近年来的热点。其中, 外泌体 (exosomes) 是目前公认的研究最多且功能较明确的一类细胞外囊泡, 其是由胞浆内多囊泡体 (multivesicular bodies, MVBs) 与质膜相互融合, 释放到细胞外基质的一类直径约 40~200 nm 的细胞

外囊泡。外泌体在细胞间交流、免疫监视、炎症反应及肿瘤发生发展等生理和病理过程中起重要的作用。

目前, 外泌体在实体肿瘤领域研究比较广泛。相比正常细胞, 肿瘤细胞可分泌更多的外泌体<sup>[1]</sup>。肿瘤细胞来源的外泌体含有的蛋白质、脂质、mRNA

收稿日期: 2018-05-07; 修回日期: 2018-07-09

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(81472350, 81272700, 31071256)

\*通信作者: E-mail: dajinzhang@sina.com

及非编码 RNA 等<sup>[2]</sup> 内容物可以通过体液传递至周围细胞或被携带至远端靶点, 通过改变肿瘤微环境<sup>[3]</sup>、促进肿瘤血管生成<sup>[4]</sup> 等增强肿瘤的侵袭性。肿瘤细胞来源的外泌体可以通过诱导免疫效应中诸如 NK 细胞和细胞毒性 T 细胞的凋亡, 帮助肿瘤细胞逃避免疫监视。同时, 外泌体内容物反映了分泌细胞的生理和功能状态, 从而提供潜在的生物标志物分子, 为肿瘤的早期诊断、治疗和预后的评估开辟新的途径<sup>[5]</sup>。

外泌体在中枢神经系统疾病中的研究起步较晚。Lachenal 等<sup>[6]</sup> 研究表明, 外泌体可以参与中枢神经系统神经元和神经胶质细胞之间的信息交流, 并且参与多种中枢神经系统疾病的发生发展过程。外泌体研究不仅对神经元和神经细胞生物学基础理论产生积极的推进作用, 而且揭示了神经系统疾病的机理, 并可为其治疗提供新的策略和靶点。本文就外泌体在中枢神经系统疾病中的功能、机制和应用现状进行详细的综述。

## 1 外泌体的发现

1983 年, Pan 和 Johnstone<sup>[7]</sup> 在体外研究绵羊网织红细胞转化为成熟红细胞的过程中, 通过超速离心处理, 在红细胞的上清液中分离出一种直径在 40~200 nm 的囊泡, 在电子显微镜下观察为脂质双层结构, 呈杯状或圆形, 命名为外泌体。在被发现后相当长的一段时间里, 外泌体仅被当做是细胞向外排放废物的垃圾载体。直到 1996 年, Raposo 等<sup>[8]</sup> 发现人 B 淋巴细胞分泌的外泌体可呈递抗原, 激活 T 淋巴细胞, 从而参与免疫细胞功能的调控, 外泌体的相关功能才有了新的认知。Caby 等<sup>[9]</sup> 于 2005 年首次在正常人外周血中检测到外泌体, 并且随后的研究发现, 外泌体广泛存在于血液、尿液、唾液、脑脊液、胸腔积液、羊水和腹水等体液中。Valadi 等<sup>[10]</sup> 在 2007 年首次鉴定出外泌体含有遗传物质 mRNA 及微小 RNA (microRNA), 并证明外泌体被靶细胞摄取后, 其内容物中的 RNA 可发挥一系列生物学活性。随着外泌体内容物逐渐被发现, 尤其是其中的功能性蛋白质、mRNA 以及 miRNA 等可作为细胞间信息交流以及遗传物质转移的载体, 使得外泌体的相关研究引起越来越多学者的关注。

## 2 外泌体的生物发生与组成

### 2.1 外泌体的形成

早在 30 多年前, 胞外囊泡就已经被发现, 且

具备多种存在形式, 其中包括直径为 40~200 nm 的外泌体 (exosomes)、直径为 0.2~2 μm 的微泡 (microvesicles)、直径为 0.5~2 μm 的凋亡小体 (apoptotic bodies) 以及直径 1~10 μm 的肿瘤小泡 (large oncosomes) 等<sup>[11]</sup>。外泌体来自于内吞途径, 而其余的囊泡则直接从质膜中释放, 故外泌体的形成和分泌更为复杂。作为囊泡运输的一部分, 外泌体在核内系统中的形成主要经历以下过程: 细胞内陷形成早期内体 (early endosome), 随后在内体转运复合体 (endosomal sorting complex required for transport, ESCRT) 及相关蛋白调控下, 早期内体出芽形成多个腔内小囊泡 (intraluminal vesicles, ILVs) 构成多囊泡体, 最后多囊泡体与细胞质膜融合, 将多个腔内小囊泡释放到细胞外间隙, 即形成外泌体<sup>[12]</sup>。

### 2.2 外泌体的生物学组成

外泌体是膜性囊泡, 由于经过两次内陷, 其脂质膜的磷脂双分子层方向与细胞质膜方向一致<sup>[13]</sup>, 其主要含有磷脂酰丝氨酸、磷脂酰胆碱、鞘磷脂、神经酰胺和胆固醇等。脂质双层膜的物质构成可保护其内容物不被降解, 即使通过长时间、长距离的运输, 仍可以保持生物活性, 从而维持外泌体的形态<sup>[14]</sup>。

外泌体内容物中包含多种蛋白质, 如源于 MVBs 的蛋白 (ALix 和 Tsg101)、蛋白膜转运融合蛋白 (GTPases、annexins、flotillin)、跨膜蛋白 (CD9、CD63 和 CD81)、热休克蛋白 (Hsp60、Hsp70、Hsp90) 以及脂质相关蛋白和磷脂酶<sup>[15]</sup> 等。尽管源于不同组织的外泌体蛋白种类各异, 但其中部分蛋白是外泌体的特异性标志物, 如 CD63、CD81<sup>[16]</sup> 等。

除脂质及蛋白质外, 外泌体中还含有多种 mRNA、miRNA 和小干扰 RNA (siRNA) 等遗传物质<sup>[17]</sup>。Statello 等<sup>[18]</sup> 研究表明, 外泌体携带的 RNA 不仅可以在受体细胞中表达, 还能调节受体细胞的基因表达, 从而发挥特定的生物学效应。此外, 利用二代测序等技术相继发现, 长链非编码 RNA (lncRNA)、线粒体 DNA (mtDNA)、双链 DNA (dsDNA)、基因组 DNA (gDNA) 和环状 RNA (cirRNA) 等特殊核酸也可存在于外泌体中。这些内容物会参与细胞的调节<sup>[19]</sup>, 但目前为止, 参与方式尚不清楚。因此, 现有许多学者专注于对外泌体的上述内容物进行选择深入探索, 这些研究将在未来帮助我们进一步深入理解外泌体的相关功能。

## 3 外泌体在神经系统疾病发生发展中的作用

现已证实, 脑内神经干细胞、神经元、胶质细

胞和内皮细胞等几乎所有细胞均可释放外泌体。在神经退行性疾病中, 错误折叠的“毒性”蛋白质会引起一系列特征性神经变性病理变化, 而在此过程中, 外泌体参与此类“毒性”蛋白质的传播和扩散, 最终激活相关病理机制, 导致疾病发生和恶化。这种“毒性”蛋白质, 包括阿尔茨海默病中的淀粉样蛋白- $\beta$  (amyloid  $\beta$ -protein, A $\beta$ ) 和 tau 蛋白、帕金森病中的  $\alpha$ -突触核蛋白以及朊病毒病的 Prsp 蛋白等<sup>[20]</sup>。外泌体不仅能够传播与神经系统疾病相关的“毒性”蛋白质, 还能促进其发生病理学聚集, 并在随后将这些毒性聚集体扩散到神经系统内无病变区域, 而神经元通过内吞的方式来处理这些“毒性”蛋白, 从而加速了神经元退化, 形成恶性循环<sup>[21]</sup>。

### 3.1 阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)

AD 是一种迟发性的神经系统疾病, 伴随有进行性记忆和认知能力丧失。AD 的病理特征是脑神经元中大量 A $\beta$  沉积形成淀粉样斑块, 造成突触的损伤, 以及由高度磷酸化变异蛋白 p-tau 组成的神经纤维缠结<sup>[22]</sup>。已有报道证实, 外泌体参与 A $\beta$  的生成、胞外分泌、聚集以及被细胞摄取降解等多个过程。A $\beta$  肽可以被装载进 MVBs 的 ILVs 中, 当 MVBs 与质膜融合时, ILVs 以含有 A $\beta$  肽的外泌体形式被释放到细胞外环境中, 以降低和调节细胞内 A $\beta$  肽水平<sup>[23]</sup>。同时, 在 AD 中, A $\beta$  与 tau 蛋白呈现出协同作用, 即 A $\beta$  可促进神经纤维缠结形成<sup>[24]</sup>, tau 蛋白增加 A $\beta$  对突触的毒性。研究指出, 小胶质细胞可以通过外泌体促进 tau 蛋白向神经元的传播及其在脑内各区域的扩散。另有文献报道, 小胶质细胞可以吞噬胞内含有 tau 蛋白的神经元, 随后通过外泌体释放 tau 蛋白来诱发病理性改变。因此, 阻止外泌体的合成或者减少小胶质细胞均可以显著降低致病 tau 蛋白的扩散效率<sup>[25]</sup>。

### 3.2 帕金森病(Parkinson's disease, PD)

PD 是发病率仅次于 AD 的神经退行性疾病。PD 表现出各种病理学特征, 包括小神经胶质细胞介导的神经炎症、中脑黑质中的多巴胺能神经元的减少和路易体 (lewy bodies, 含有  $\alpha$ -突触核蛋白的蛋白质的聚集体) 的聚集<sup>[26]</sup>。有报道指出, 富亮氨酸重复激酶 2 (leucine-rich repeat kinase 2, LRRK2) 基因中的突变与遗传性 PD 有关。LRRK2 与 Ras 家族成员结合调控 MVBs 与质膜的融合以及在外泌体的释放中起着重要作用。报道指出 LRRK2 与 Rab5b 相互作用, 而 Rab5b 是运输内吞囊泡的调节器, 在病理条件下, R1441C 在 LRRK2 上的突变诱

导丝状样异常 MVBs 的形成, MVBs 与质膜融合导致受损的神经元释放大量包含  $\alpha$ -突触核蛋白的外泌体, 外泌体将  $\alpha$ -突触核蛋白输送到相应的靶细胞后, 在相应的靶细胞中释放  $\alpha$ -突触核蛋白<sup>[27]</sup>。一般由星型胶质细胞和小胶质细胞清除这些聚集的毒性蛋白, 但胶质细胞过度摄取  $\alpha$ -突触核蛋白会产生大量的胶质包涵体, 进一步加重炎症反应, 导致神经退行性改变<sup>[28]</sup>。

### 3.3 多发性硬化(multiple sclerosis, MS)

MS 是发生在中枢神经系统的自身免疫性疾病<sup>[29]</sup>, 其病理特点是髓鞘脱失并伴随大量炎性细胞浸润, 进而导致神经功能出现障碍。目前具体发病原因还不明确, 可能与各种遗传、环境、免疫和应激因素等有关。近年来有学者证实外泌体参与 MS 的多个生理病理过程。Ebrahimkhani 等<sup>[30]</sup>研究表明, 外泌体中包含大量干扰素- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ )、肿瘤坏死因子- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )、白细胞介素-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) 等炎性细胞因子, 由其介导的炎症反应能够破坏血脑屏障。在此过程中, 血脑屏障周围的炎性细胞释放大量的外泌体内容物, 如 IFN- $\gamma$  可改变血脑屏障脑内皮细胞之间的组织结构和紧密性, TNF- $\alpha$  和 IL-1 $\beta$  通过表达一氧化氮合酶破坏血脑屏障等。血脑屏障的组织结构和紧密性被破坏以后, 大量的白细胞迁移至中枢神经系统内, 进而引起髓鞘脱失<sup>[31]</sup>。此外, 小胶质细胞产生的外泌体含有 IL-1 $\beta$  和 II 型主要组织相容性复合体 (MHC-II), 也可以促进神经炎症向周围扩散, 促进 MS 的进展<sup>[32]</sup>。

### 3.4 胶质瘤

胶质瘤是成人中最常见和最具有侵袭性的原发性恶性脑肿瘤。尽管目前胶质瘤的治疗已取得较大进步, 但是患者的预后还是不容乐观<sup>[33]</sup>。最近的一项研究证实了外泌体可以将突变的特异性表皮生长因子受体 vIII (EGFRvIII 受体) 从侵袭性胶质瘤细胞转运至非侵袭性肿瘤细胞群, 使得受体细胞发生突变, 从而激活细胞内 MAPK 和 Akt 信号通路, 进而使下游基因 VEGF、Bcl-XL 和 p27 的表达发生改变, 最终获得侵袭性细胞的表型。此外, 研究进一步指出来源于缺氧多形性脑胶质瘤细胞外泌体内容物, 如蛋白质、mRNA 等在肿瘤微血管形成中发挥重要作用, 表明外泌体可以作为恶性肿瘤细胞和正常血管内皮细胞之间进行低氧依赖性交流的有效载体<sup>[34]</sup>。Welton 等<sup>[35]</sup>从胶质瘤细胞上清来源的外泌体中分离出的特异性蛋白质及遗传性物质可被邻近正常胶质细胞摄取, 并可以表达促进血管新生的

蛋白, 促进肿瘤生长及侵袭, 导致肿瘤免疫逃逸, 进一步提升胶质瘤细胞的增殖能力。

## 4 外泌体在神经系统疾病诊断与治疗中的应用

### 4.1 外泌体在神经系统疾病诊断中的应用

外泌体不仅可以反映来源细胞的内容物, 还可以体现来源细胞的生理病理状态, 由于其形态小, 易透过血脑屏障, 在病变早期即发生变化, 检测方便, 故可作为神经系统疾病非侵袭性的诊断工具。

神经系统疾病发展进程中, 对高度恶性多形性胶质瘤细胞进行低氧条件下的体外培养, 其分泌的外泌体富含调节低氧的 mRNA 和蛋白质, 如小窝蛋白 (caveolin1)<sup>[36]</sup>, 并且这些内容物在预后不良的多形性脑胶质瘤细胞患者血浆的外泌体中也显著增加; 从多形性胶质瘤患者血清分离的外泌体中也发现富含多形性胶质细胞瘤 EGFRvIII 受体<sup>[37]</sup>。对 MS 的研究显示, 血清外泌体中的 miR-122 是唯一证实与人 MS 相关的因子<sup>[38]</sup>。另有研究报道, 幼龄大鼠产生的血清外泌体可明显增加髓磷脂含量, 增加少突胶质前体细胞水平和神经干细胞水平, 减少海马区氧化应激反应, 这些含有高浓度的 miR-219 外泌体在髓磷脂的形成与维持中起着重要作用, 然而, 在人类 MS 患者中缺乏相关 miR-219 的外泌体<sup>[39]</sup>。

外泌体中富含不同类型的毒性蛋白质, 与不同种类的神经变性疾病高度相关, 如 AD、PD 等。例如, Thr-181 的磷酸化 tau 蛋白含量在 AD 患者脑脊液来源的外泌体中显著增加, 可作为 AD 的生物标志物<sup>[40]</sup>。此外, Goetzl 等<sup>[41]</sup>发现, AD 患者外泌体中的蛋白质转运受体, 如受体相关蛋白 6 (LRP6)、热休克因子 -1 (HSF-1) 和抑制因素 1 (REST1) 明显低于健康人, 是作为预测 AD 进展的良好指标。关于 PD 的最新研究指出, 外泌体源性的 miR-21 以及 miR-29a 的含量在 PD 患者中发生显著变化<sup>[42]</sup>。Gui 等<sup>[43]</sup>也提出, 比较脑脊液外泌体所含 miRNA 的含量有助于对 AD 和 PD 进行鉴别诊断。因此, 外泌体具有巨大的临床诊断潜能, 可成为神经系统疾病的非侵袭性诊断工具。

### 4.2 外泌体在神经系统疾病治疗中的应用

由于血脑屏障限制了大蛋白分子的运输, 导致大部分可以有效治疗神经系统各类疾病的药物不能在临床中应用。外泌体的如下几个特征使得它们可以形成治疗神经系统疾病的新策略。首先, 外泌体是细胞衍生的膜结合囊泡, 其功能是一种生物学的转运器, 它们可以在相邻细胞和器官之间交换独

特的内容物, 并能够有效穿越血脑屏障; 其次, 外泌体具有将其内容物直接运送到受体细胞的能力, 可被用来作为包括工程外泌体在内的治疗剂, 这是只用可溶性因子所不能实现的; 再次, 外泌体治疗比输注治疗性置换离体细胞更安全, 并且具有调节性优势<sup>[44]</sup>。

在 AD 中, 最新研究证实外泌体具备良好的治疗可行性。为了解决 A $\beta$  聚集的不平衡现象, 研究人员使用脂肪组织间充质干细胞来分泌含有能够降解 A $\beta$  的脑啡肽酶的外泌体, 此法能够降低 A $\beta$  的聚集, 最终减轻 AD 的症状<sup>[45]</sup>。 $\beta$  淀粉样前体蛋白裂解酶 1 (BACE1) 由淀粉样前体蛋白的 N-末端切割产生, 可导致 A $\beta$  聚集。Alvarez-Erviti 等<sup>[46]</sup>采用电穿孔法, 将 siRNA 导入树突细胞衍生的外泌体中, 使其可以穿过血脑屏障并输送到大脑中, 导致 BACE1 的 mRNA 和蛋白质显著呈现剂量依赖性降低。因此, 包含 siRNA 的外泌体能够跨越血脑屏障, 并将其运送到大脑的特定区域, 特异性减轻 AD 病症。

在 PD 中, 外泌体应用于治疗也取得了重大进展。研究表明, 在特发性 PD 情况下, 人尿液中外泌体的自身磷酸化 Ser(P)-1292 LRRK2 的水平升高, 并且与日常活动表现中认知障碍的严重程度相关。研究进一步发现尿液外泌体递送的基因突变与 PD 相关, 这为治疗 PD 提供了一个具有高特异性的潜在治疗靶标<sup>[47]</sup>。另外, 过氧化氢酶是治疗 PD 非常有前景的方法, 但是其无法直接穿越大脑屏障达到相应的病变区域, Armstrong 等<sup>[48]</sup>应用帕金森氏鼠模型证实, 把过氧化氢酶装载进外泌体获得的制剂 exoCAT 可以越过大鼠血脑屏障并达到目标神经元, 并在这些细胞中积累从而达到缓解病情的目的。

在 MS 中, 经过修饰的外泌体可递送相关信息来促进髓鞘再生, 从而作为 MS 的一种治疗手段。一方面, 实验性自身免疫性脑脊髓炎 (experimental autoimmune encephalomyelitis, EAE) 孕鼠血清中的外泌体能够抑制淋巴细胞增殖, 从而促进少突胶质前体细胞增殖和迁移, 进而保护 EAE 轴突及促进髓鞘再生, 其原因与白血病抑制因子受体穿过血脑屏障后嵌入少突胶质前体细胞膜介导白血病抑制因子信号有关<sup>[49]</sup>。另一方面, 体内外研究均表明, IFN- $\gamma$  可刺激树突状细胞分泌含有大量 miR-219 分子的外泌体, 进而促进髓鞘形成和增强其对氧化应激的耐受性<sup>[50]</sup>。因此, 这些含有高浓度抗炎 miRNA 分子的外泌体可能在 MS 治疗中起到免疫

调节的作用。

在抗脑肿瘤中, 转基因斑马鱼内皮细胞衍生的外泌体可运输抗癌药物通过血脑屏障, 并最终显著降低异种移植癌细胞和肿瘤生长标记物的荧光强度, 具有潜在的治疗价值。Yang 等<sup>[51]</sup>在斑马鱼脑肿瘤中借助内皮细胞外泌体携带抗肿瘤药物, 也证实了外泌体可顺利通过血脑屏障发挥抗肿瘤效果。因此, 外泌体自身不仅可作为治疗药物, 而且可作为携带药物的载体, 满足精准医疗的需求。

## 5 总结与展望

外泌体不仅是细胞间物质或信息交流的重要载体, 大量研究也证实外泌体参与神经系统疾病的发生、发展以及损伤修复机制。外泌体不仅仅是细胞分泌的内容物, 同时也代表了一种复杂的胞内处理特异性分子的方式, 已逐渐成为神经系统疾病相关研究的热点。近年来, 外泌体纳米技术等快速发展给神经系统疾病提供了新的治疗策略, 但将外泌体应用于临床诊断, 或将其作为药物载体用于治疗, 仍处于起步阶段。这不仅需要对外泌体进行深入研究, 从而了解其在细胞间通讯和内容物分选中的相关机制, 而且还需要在众多复杂生理过程中探索外泌体膜蛋白的调控以及外泌体的远距离靶向运输机制。因此, 外泌体的上述多种功能为解读和治疗神经系统疾病奠定了关键基础, 但其作为神经系统疾病生物标志物的潜能还需要进一步评估。综上所述, 随着神经系统相关领域的深入研究, 外泌体在未来很有可能成为神经系统疾病的诊断和治疗的新型“武器”, 在相关临床诊断中具备广阔的应用前景。

### [参 考 文 献]

- [1] Castellana D, Zobairi F, Martinez MC, et al. Membrane microvesicles as actors in the establishment of a favorable prostatic tumoral niche: a role for activated fibroblasts and CX3CL1-CX3CR1 axis. *Cancer Res*, 2009, 69: 785-93
- [2] Hosseini M, Khatamianfar S, Hassanian SM, et al. Exosome-encapsulated microRNAs as potential circulating biomarkers in colon cancer. *Curr Pharm Des*, 2017, 23: 1705-9
- [3] Cazzoli R, Buttitta F, Di Nicola M, et al. MicroRNAs derived from circulating exosomes as noninvasive biomarkers for screening and diagnosing lung cancer. *J Thorac Oncol*, 2013, 8: 1156-62
- [4] Dijkstra S, Birker IL, Smit FP, et al. Prostate cancer biomarker profiles in urinary sediments and exosomes. *J Urol*, 2014, 191: 1132-8
- [5] Haga H, Yan IK, Takahashi K, et al. Tumour cell-derived extracellular vesicles interact with mesenchymal stem cells to modulate the microenvironment and enhance cholangiocarcinoma growth. *J Extracell Vesicles*, 2015, 4: 24900
- [6] Lachenal G, Pernet-Gallay K, Chivet M, et al. Release of exosomes from differentiated neurons and its regulation by synaptic glutamatergic activity. *Mol Cell Neurosci*, 2011, 46: 409-18
- [7] Pan BT, Johnstone RM. Fate of the transferrin receptor during maturation of sheep reticulocytes *in vitro*: selective externalization of the receptor. *Cell*, 1983, 33: 967-78
- [8] Raposo G, Nijman HW, Stoorvogel W, et al. B lymphocytes secrete antigen-presenting vesicles. *J Exp Med*, 1996, 183: 1161-72
- [9] Caby MP, Lankar D, Vincendeau-Scherrer C, et al. Exosomal-like vesicles are present in human blood plasma. *Int Immunol*, 2005, 17: 879-87
- [10] Valadi H, Ekstrom K, Bossios A, et al. Exosome-mediated transfer of mRNAs and microRNAs is a novel mechanism of genetic exchange between cells. *Nat Cell Biol*, 2007, 9: 654-9
- [11] Shao H, Im H, Castro CM, et al. New technologies for analysis of extracellular vesicles. *Chem Rev*, 2018, 118: 1917-50
- [12] Ittner LM, Ke YD, Delerue F, et al. Dendritic function of tau mediates amyloid- $\beta$  toxicity in Alzheimer's disease mouse models. *Cell*, 2010, 142: 387-97
- [13] Colombo M, Raposo G, Thery C. Biogenesis, secretion, and intercellular interactions of exosomes and other extracellular vesicles. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 2014, 30: 255-89
- [14] Sato S, Weaver AM. Extracellular vesicles: important collaborators in cancer progression. *Essays Biochem*, 2018, 62: 149-63
- [15] Roucourt B, Meeussen S, Bao J, et al. Heparanase activates the syndecan-syntenin-ALIX exosome pathway. *Cell Res*, 2015, 25: 412-28
- [16] Whiteside TL. The emerging role of plasma exosomes in diagnosis, prognosis and therapies of patients with cancer. *Contemp Oncol: Pozn*, 2018, 22: 38-40
- [17] Li S, Yao J, Xie M, et al. Exosomal miRNAs in hepatocellular carcinoma development and clinical responses. *J Hematol Oncol*, 2018, 11: 54
- [18] Statello L, Mluger M, Garre E, et al. Identification of RNA-binding proteins in exosomes capable of interacting with different types of RNA: RBP-facilitated transport of RNAs into exosomes. *PLoS One*, 2018, 13: e0195969
- [19] Zhou R, Chen KK, Zhang J, et al. The decade of exosomal long RNA species: an emerging cancer antagonist. *Mol Cancer*, 2018, 17: 75
- [20] Vella L J, Sharples RA, Nisbet RM, et al. The role of exosomes in the processing of proteins associated with neurodegenerative diseases. *Eur Biophys J*, 2008, 37: 323-32
- [21] Banigan MG, Kao PF, Kozubek JA, et al. Differential expression of exosomal microRNAs in prefrontal cortices of schizophrenia and bipolar disorder patients. *PLoS One*, 2013, 8: e48814

- [22] Nisbet RM, Gotz J. Amyloid- $\beta$  and tau in Alzheimer's disease: novel pathomechanisms and non-pharmacological treatment strategies. *J Alzheimers Dis*, 2018, 64: S517-27
- [23] Guest WC, Silverman JM, Pokrishevsky E, et al. Generalization of the prion hypothesis to other neurodegenerative diseases: an imperfect fit. *J Toxicol Environ Health A*, 2011, 74: 1433-59
- [24] Vingtdoux V, Sergeant N, Buee L. Potential contribution of exosomes to the prion-like propagation of lesions in Alzheimer's disease. *Front Physiol*, 2012, 3: 229
- [25] Hickman RA, Faustin A, Wisniewski T. Alzheimer disease and its growing epidemic: risk factors, biomarkers, and the urgent need for therapeutics. *Neurol Clin*, 2016, 34: 941-53
- [26] Cai Z, Hussain MD, Yan LJ. Microglia, neuroinflammation, and  $\beta$ -amyloid protein in Alzheimer's disease. *Int J Neurosci*, 2014, 124: 307-21
- [27] Goetzl EJ, Schwartz JB, Abner EL, et al. High complement levels in astrocyte-derived exosomes of Alzheimer disease. *Ann Neurol*, 2018, 83: 544-52
- [28] Calabrese V, Santoro A, Monti D, et al. Aging and parkinson's disease: inflammaging, neuroinflammation and biological remodeling as key factors in pathogenesis. *Free Radic Biol Med*, 2018, 115: 80-91
- [29] Minagar A, Alexander JS. Blood-brain barrier disruption in multiple sclerosis. *Mult Scler*, 2003, 9: 540-9
- [30] Ebrahimkhani S, Vafae F, Young PE, et al. Exosomal microRNA signatures in multiple sclerosis reflect disease status. *Sci Rep*, 2017, 7: 14293
- [31] Saenz-Cuesta M, Osorio-Querejeta I, Otaegui D. Extracellular vesicles in multiple sclerosis: what are they telling us? *Front Cell Neurosci*, 2014, 8: 100
- [32] Kimura K, Hohjoh H, Yamamura T. The role for exosomal microRNAs in disruption of regulatory T cell homeostasis in multiple sclerosis. *J Exp Neurosci*, 2018, 12: 1179069518764892
- [33] Gabrusiewicz K, Li X, Wei J, et al. Glioblastoma stem cell-derived exosomes induce M2 macrophages and PD-L1 expression on human monocytes. *Oncoimmunology*, 2018, 7: e1412909
- [34] Kucharzewska P, Christianson HC, Belting M. Global profiling of metabolic adaptation to hypoxic stress in human glioblastoma cells. *PLoS One*, 2015, 10: e0116740
- [35] Welton JL, Khanna S, Giles PJ, et al. Proteomics analysis of bladder cancer exosomes. *Mol Cell Proteomics*, 2010, 9: 1324-38
- [36] Kucharzewska P, Christianson HC, Welch JE, et al. Exosomes reflect the hypoxic status of glioma cells and mediate hypoxia-dependent activation of vascular cells during tumor development. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, 110: 7312-7
- [37] Skog J, Wurdinger T, van Rijn S, et al. Glioblastoma microvesicles transport RNA and proteins that promote tumour growth and provide diagnostic biomarkers. *Nat Cell Biol*, 2008, 10: 1470-6
- [38] Keller A, Leidinger P, Lange J, et al. Multiple sclerosis: microRNA expression profiles accurately differentiate patients with relapsing-remitting disease from healthy controls. *PLoS One*, 2009, 4: e7440
- [39] Pusic AD, Kraig RP. Youth and environmental enrichment generate serum exosomes containing miR-219 that promote CNS myelination. *Glia*, 2014, 62: 284-99
- [40] Kalani A, Tyagi A, Tyagi N. Exosomes: mediators of neurodegeneration, neuroprotection and therapeutics. *Mol Neurobiol*, 2014, 49: 590-600
- [41] Goetzl EJ, Boxer A, Schwartz JB, et al. Low neural exosomal levels of cellular survival factors in Alzheimer's disease. *Ann Clin Transl Neurol*, 2015, 2: 769-73
- [42] Vella LJ, Hill AF, Cheng L. Focus on extracellular vesicles: exosomes and their role in protein trafficking and biomarker potential in Alzheimer's and Parkinson's disease. *Int J Mol Sci*, 2016, 17: 173
- [43] Gui YX, Xu ZP, Lv W, et al. Evidence for polymerase gamma, POLG1 variation in reduced mitochondrial DNA copy number in Parkinson's disease. *Parkinsonism Relat Disord*, 2015, 21: 282-6
- [44] Dang X, Zeng X. Targeted therapeutic delivery using engineered exosomes and its applications in cardiovascular diseases. *Gene*, 2016, 575: 377-84
- [45] Trotta T, Panaro MA, Cianciulli A, et al. Microglia-derived extracellular vesicles in Alzheimer's disease: a double-edged sword. *Biochem Pharmacol*, 2018, 148: 184-92
- [46] Alvarez-Erviti L, Seow Y, Yin H, et al. Delivery of siRNA to the mouse brain by systemic injection of targeted exosomes. *Nat Biotechnol*, 2011, 29: 341-5
- [47] Fraser KB, Rawlins AB, Clark RG, et al. Ser(P)-1292 LRRK2 in urinary exosomes is elevated in idiopathic Parkinson's disease. *Mov Disord*, 2016, 31: 1543-50
- [48] Armstrong JP, Holme MN, Stevens MM. Re-engineering extracellular vesicles as smart nanoscale therapeutics. *ACS Nano*, 2017, 11: 69-83
- [49] Do JS, Asosingh K, Baldwin WR, et al. Cutting edge: IFN- $\gamma$ R signaling in non-T cell targets regulates T cell-mediated intestinal inflammation through multiple mechanisms. *J Immunol*, 2014, 192: 2537-41
- [50] Ridolfi B, Abdel-Haq H. Neurodegenerative disorders treatment: the microRNA role. *Curr Gene Ther*, 2017, 17: 327-63
- [51] Yang T, Martin P, Fogarty B, et al. Exosome delivered anticancer drugs across the blood-brain barrier for brain cancer therapy in *Danio rerio*. *Pharm Res*, 2015, 32: 2003-14