

## 许旺细胞源性外泌体促进损伤周围神经的修复与再生

袁博<sup>1,2</sup>, 谢利德<sup>1</sup>, 付秀美<sup>1,3</sup><https://doi.org/10.12307/2023.266>

投稿日期: 2022-03-24

采用日期: 2022-05-13

修回日期: 2022-05-28

在线日期: 2022-06-24

中图分类号:

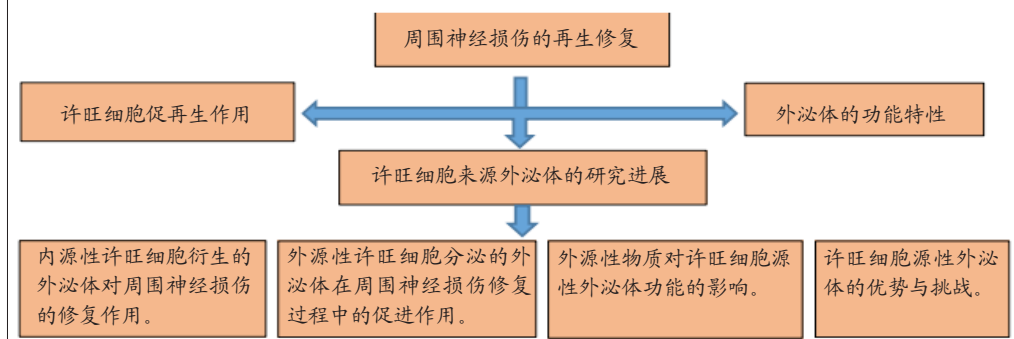
R459.9; R318; R722.14+4

文章编号:

2095-4344(2023)06-00935-06

文献标识码: A

文章快速阅读: 许旺细胞源性外泌体与损伤周围神经的修复及再生



## 文题释义:

**许旺细胞源性外泌体:** 是由许旺细胞衍生的大小介于40–150 nm之间的细胞外囊泡, 它在一定程度上可以反映机体的生理、病理情况。许旺细胞源性外泌体所携带的蛋白质、酶和生长因子等生物活性物质, 可以从亲本细胞转移到远处的受体细胞, 并在细胞间进行物质交换和信息传递的过程中发挥重要的作用。

**周围神经损伤与修复:** 周围神经损伤是临床常见的一种创伤性疾病, 常引起组织损伤、肌肉萎缩、运动和/或感觉功能障碍等临床表现。引起周围神经损伤的原因有多种, 其中以交通事故、横断伤、烧伤和缺血为主要致病因素。周围神经损伤后再生与修复的分子机制非常复杂, 损伤发生后应采取促进神经再生的措施, 以防止发生失神经性的肌肉萎缩, 与靶器官尽快建立突触连接, 对于周围神经损伤后的修复意义重大。

## 摘要

**背景:** 周围神经损伤是临床上的常见创伤。目前短距离神经损伤可以进行端-端吻合, 长距离神经损伤常需要移植物桥接。许旺细胞源性外泌体可以提高神经元存活率、改善再生微环境、促进轴突再生, 在周围神经损伤与修复领域具有很好的应用前景。

**目的:** 综述许旺细胞源性外泌体在周围神经损伤后再生修复中的研究进展。

**方法:** 检索PubMed数据库、万方数据库和中国知网(CNKI)2000–2022年的相关文章。中文检索词: “许旺细胞, 雪旺细胞, 施万细胞, 外泌体, 细胞外囊泡, 周围神经, 外周神经, 坐骨神经”; 英文检索词: “Schwann cell, exosomes, vesicles, peripheral nerve, sciatic nerve”, 对初步检索的文献根据纳入、排除标准进行筛选, 共纳入52篇文献进行深度分析。

**结果与结论:** ①许旺细胞的增殖和迁移对周围神经损伤后的再生修复发挥重要作用, 有多种信号通路介入受损周围神经的再生修复; ②外泌体可以通过转移生物活性物质介导细胞间通讯以维持正常的生理过程, 在周围神经损伤的修复治疗方面具有很大的潜力; ③许旺细胞源性外泌体可以通过参与轴突再生和生长调节, 发挥促进损伤神经再生修复的作用, 为周围神经损伤的临床治疗提供理论依据。

**关键词:** 外泌体; 许旺细胞; 周围神经; 轴突再生; 损伤与修复; 基因工程; 组织工程; 信号通路

## Schwann cell-derived exosomes promote the repair and regeneration of injured peripheral nerves

Yuan Bo<sup>1,2</sup>, Xie Lide<sup>1</sup>, Fu Xiumei<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>Chengde Medical University, Chengde 067000, Hebei Province, China; <sup>2</sup>Chengde Nursing Vocational College, Chengde 067000, Hebei Province, China; <sup>3</sup>Hebei Key Laboratory of Nerve Injury and Repair, Chengde 067000, Hebei Province, China

Yuan Bo, Master candidate, Lecturer, Chengde Medical University, Chengde 067000, Hebei Province, China; Chengde Nursing Vocational College, Chengde 067000, Hebei Province, China

**Corresponding author:** Fu Xiumei, MD, Associate professor, Chengde Medical University, Chengde 067000, Hebei Province, China; Hebei Key Laboratory of Nerve Injury and Repair, Chengde 067000, Hebei Province, China

**Co-corresponding author:** Xie Lide, MD, Professor, Chengde Medical University, Chengde 067000, Hebei Province, China

## Abstract

**BACKGROUND:** Peripheral nerve injury is a common clinical trauma. At present, the end-to-end anastomosis was commonly used in the treatment of short-distance nerve injury, whereas graft bridging was required in the long-distance nerve injury. Schwann cell-derived exosomes could elevate neuronal survival, improve the regeneration microenvironment, promote axonal regeneration, and have a good application prospect in the field of peripheral nerve injury and repair.

<sup>1</sup>承德医学院, 河北省承德市 067000; <sup>2</sup>承德护理职业学院, 河北省承德市 067000; <sup>3</sup>河北省神经损伤与修复重点实验室, 河北省承德市 067000

第一作者: 袁博, 女, 1988年生, 河北省承德市人, 满族, 承德医学院在读硕士, 承德护理职业学院讲师, 主要从事周围神经损伤修复的基础研究。

通讯作者: 付秀美, 博士, 副教授, 承德医学院, 河北省承德市 067000; 河北省神经损伤与修复重点实验室, 河北省承德市 067000

共同通讯作者: 谢利德, 博士, 教授, 承德医学院, 河北省承德市 067000

<https://orcid.org/0000-0001-6191-199X> (付秀美)

基金资助: 河北省科技厅自然科学基金项目(H20214066056), 项目负责人: 付秀美; 河北省教育厅重点项目(ZD2020178), 项目

负责人: 付秀美; 河北省科技厅“技术创新引导专项-科技工作会商”项目

引用本文: 袁博, 谢利德, 付秀美. 许旺细胞源性外泌体促进损伤周围神经的修复与再生 [J]. 中国组织工程研究, 2023, 27(6):935-940.



**OBJECTIVE:** To review the research progress of Schwann cell-derived exosomes in repair and regeneration after peripheral nerve injury.  
**METHODS:** The relevant articles published from 2000 to 2022 were searched from PubMed, Wanfang, and CNKI databases by computer. The Chinese and English search terms were "Schwann cell, exosomes, vesicles, peripheral nerve, sciatic nerve". The preliminary searched articles were screened according to the inclusion and exclusion criteria, and a total of 52 articles were included for in-depth analysis.

**RESULTS AND CONCLUSION:** (1) The proliferation and migration of Schwann cells play an important role in the repair and regeneration after peripheral nerve injury. Schwann cells could promote the regeneration and repair of injured peripheral nerves through a variety of signal transduction pathways. (2) Exosomes could mediate intercellular communication by transferring bioactive substances to maintain normal physiological processes, which had a great potential in the treatment of peripheral nervous system damage. (3) Schwann cell-derived exosomes played a role in promoting regeneration and repair of peripheral nerve injury by participating in axon regeneration and growth regulation so as to provide a new therapeutic strategy for peripheral nerve injury.

**Key words:** exosome; Schwann cell; peripheral nerve; axon regeneration; regenerative and repair; genetic engineering; tissue engineering; signaling pathway

**Funding:** Natural Science Foundation of Hebei Province, No. H20214066056 (to FXM); Key Project of Education Department of Hebei Province, No. ZD2020178 (to FXM); Hebei Provincial Department of Science and Technology "Technology Innovation Guidance Special Project-Science and Technology Work Conference" Project  
**How to cite this article:** YUAN B, XIE LD, FU XM. Schwann cell-derived exosomes promote the repair and regeneration of injured peripheral nerves. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu. 2023;27(6):935-940.

## 0 引言 Introduction

周围神经损伤是临床上极为常见的神经创伤性疾病, 中国每年因创伤导致的周围神经损伤患者超过 50 万例, 约占所有创伤患者总数的 2.8%<sup>[1-2]</sup>。周围神经损伤根据损伤程度分为 3 个等级: ①轻度损伤: 局部出现脱髓鞘变化, 未累及结缔组织和轴突; ②中度损伤: 髓鞘内的轴突发生破裂, 未累及神经鞘膜; ③重度损伤: 神经完全断裂, 远端神经纤维出现退行性变<sup>[3-4]</sup>。周围神经损伤后具有一定的再生能力, 但修复再生是一项非常精准、细化的级联调控过程。随着创伤时间的逐渐延长, 神经的自我修复能力也会逐渐降低, 许旺细胞的可塑性也会减弱, 如何快速有效地修复受损神经一直是困扰临床的一大难题<sup>[5]</sup>。临床对于短距离神经损伤的主要治疗方法为神经断端缝合术, 长距离的神经缺损需要移植物的桥接, 并辅以药物、电针、功能训练等治疗手段。目前, 自体神经移植是修复长距离神经缺损的良好替代方法, 但自体移植神经来源有限且神经供侧常伴有失神经症状<sup>[6-8]</sup>。药物治疗是受损周围神经术后的的重要补充治疗手段, 几丁糖、甲钴胺等药物都具有促进神经轴突再生、预防神经粘连和瘢痕形成、改善神经功能等功效<sup>[9-10]</sup>。但单独使用药物进行治疗时临床效果不佳。物理疗法是治疗周围神经损伤的一种简单易行的无创性辅助治疗手段, 主要包括电针治疗、低频脉冲电刺激、激光治疗等<sup>[11]</sup>。组织工程疗法是用神经移植替代物从细胞水平来修复受损的周围神经, 但由于替代物多为天然或合成的材料, 分离纯化过程比较困难, 使组织工程疗法受到一定的限制<sup>[4, 12]</sup>。基因工程疗法是新兴的治疗周围神经损伤的方法, 它是将细胞生物学与分子遗传学结合起来, 将外源基因导入受体细胞内, 促进受损神经的轴突再生和功能恢复的一种治疗方法, 但转染效率以及导入基因能否正常表达等问题还需要进一步研究<sup>[13-14]</sup>。

许旺细胞是周围神经系统重要的胶质细胞, 在修复周围神经损伤过程中发挥着重要的作用, 但因许旺细胞在体外生长缓慢且易污染, 使其在体外大量增殖受到一定的限制<sup>[15]</sup>。许旺细胞分泌的有效成分外泌体 (Schwann cell exosomes, SC-EXOs) 具有低免疫原性和介导细胞通讯的性能, 可以执行许旺细胞对受损周围神经的修复作用<sup>[16]</sup>。许旺细胞来源外泌体具有能够有效增强神经元活性、促进细胞增殖和轴突再生、抑制细胞凋亡等功能特性<sup>[17]</sup>, 它通过携带多种生物活性物质特异性地介导细胞与细胞之间、细胞与组织之间的交互作用, 可有效促进周围神经损伤的再生修复<sup>[18]</sup>, 但其具体机制尚不十分明确, 该文章着眼于周围神经损伤修复领域内许旺细胞源性外泌体的神经修复作用及其机制, 对其最新研究进展进行综述。

## 1 资料和方法 Data and methods

### 1.1 资料来源

1.1.1 检索人及检索时间 第一作者于 2022 年 1 月对相关文献

进行检索。

1.1.2 检索文献时限 查阅 2000-2022 年期间收录的许旺细胞源性外泌体在周围神经损伤再生修复方面的相关文章。

1.1.3 检索数据库 PubMed 数据库、万方数据库和中国知网 (CNKI) 数据库。

1.1.4 检索途径 PubMed 数据库通过 Title/Abstract 进行检索, 中国知网通过全文进行检索, 万方数据库通过全部字段进行检索。以 PubMed 数据库检索途径为例, 检索策略见图 1。

```
#1 peripheral nerve [Title/Abstract]
#2 sciatic nerve [Title/Abstract]
#3 #1 OR #2
#4 Schwann cell [Title/Abstract]
#5 #3 OR #4
#6 exosomes [Title/Abstract]
#7 vesicles [Title/Abstract]
#8 #6 OR #7
#9 #5 AND #8
```

图 1 | PubMed 数据库检索策略图

1.1.5 检索词 中文检索词“许旺细胞、雪旺细胞、施万细胞、外泌体、细胞外囊泡、周围神经、外周神经、坐骨神经”, 英文检索词“Schwann cell, exosomes, vesicles, peripheral nerve, sciatic nerve”。

1.1.6 检索文献类型 医学研究原著、会议荟萃分析、基础研究、综述等。

1.1.7 手工检索情况 无。

1.1.8 检索文献量 3 个数据库初次检索文献合计 806 篇。

### 1.2 入选标准

1.2.1 纳入标准 ①周围神经损伤的再生与修复相关文章; ②外泌体的作用机制相关文章; ③许旺细胞修复周围神经损伤的相关实验研究; ④许旺细胞源性外泌体的生物学特性及作用机制等相关文献。

1.2.2 排除标准 ①初检筛选出的重复文献、发表时间较久远的文献; ②准确性不好、关联性差的文献。

1.3 质量评估 选择了研究内容贴近目标领域的最新研究、专业领域内影响力大的文章进行综述分析, 排除内容重复、关联性差、内容陈旧的文章, 最终对 52 篇纳入文献展开综述。

1.4 数据的提取 见图 2。

## 2 结果 Results

### 2.1 许旺细胞在促进受损周围神经再生修复中的作用

2.1.1 许旺细胞的可塑性及其作用 许旺细胞起源于神经嵴干细胞, 它通过髓鞘形成独立的轴突, 并允许神经冲动在较长距离上完成快速传播。许旺细胞可以分化成不同的表型, 包括髓鞘化许旺细胞、非髓鞘化许旺细胞和修复型许旺细胞<sup>[19-20]</sup>。不同的分化亚型有着不同的生理和病理作用。随着环境信号刺激和

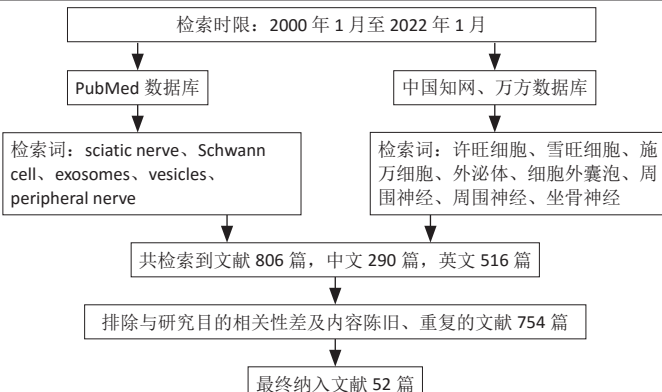


图 2 | 文献筛选流程图

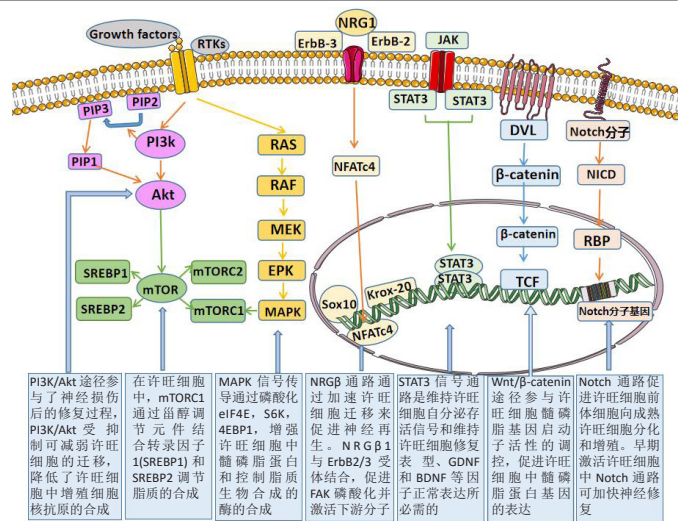
控制基因的改变，非髓鞘表型许旺细胞可以转变为髓鞘表型许旺细胞，这体现出了许旺细胞的可塑性<sup>[21]</sup>。

周围神经损伤后因缺乏营养支持，神经远端会出现变形、解体、髓鞘及轴突破坏等一系列连锁反应，即 Wallerian 变性<sup>[22]</sup>。在 Wallerian 变性过程中，成熟的髓鞘许旺细胞和非髓鞘许旺细胞会在细胞层面和分子层面发生复杂的变化，形成修复型许旺细胞，从而启动整体修复过程。首先髓鞘分化发生逆转，促髓鞘转录因子表达水平下调，随后未成熟的许旺细胞的生物标志物、神经营养因子和相应的细胞因子上调，最后结构发生重组形成修复许旺细胞表型。修复的许旺细胞与未成熟的许旺细胞有着显著的区别，前者可利用受体酪氨酸激酶亚家族 (TAM 家族) 对其他表型许旺细胞进行调控<sup>[23]</sup>，利用神经营养因子促使损伤的轴突出芽和延长，并通过分泌相应的细胞因子来影响神经变性的速率，然后通过募集临近区域内的巨噬细胞，吞噬并清除损伤区域内的髓鞘碎片，从而启动局部免疫反应，为损伤神经的再生修复开辟通道。通过在两断端神经之间形成半透明的带状外观的“神经桥”——Bünger 带，以此来维系轴突再生与修复的微环境<sup>[22]</sup>。许旺细胞还可以促进血管再生，从而为轴突的再生恢复提供营养支持。发生去分化的许旺细胞可为神经元的轴突再生提供生长通道，使再生轴突穿过瘢痕组织并被重新引导至相应的靶组织<sup>[20]</sup>。在轴突完成再生后，修复型的许旺细胞再次分化成髓鞘表型或非髓鞘化表型以支持神经功能恢复<sup>[24]</sup>。许旺细胞的可塑性使得它在细胞发育、轴突的生长和维持以及周围神经损伤后的再生修复过程中具有重要意义。

**2.1.2 许旺细胞调控损伤神经再生修复的机制** 周围神经损伤后，许旺细胞先后发生去分化、突触传递、轴突再生等一系列复杂的级联反应，这一过程是神经轴突、许旺细胞和微环境三者之间通过多种信号通路相互作用的结果<sup>[25]</sup>。许旺细胞调控损伤神经再生修复的信号通路，见图 3。

**2.2 外泌体在周围神经损伤修复中的应用研究** 外泌体的形成经历以下阶段：首先细胞质膜发生内陷形成早期的分泌内体；随后向内发芽形成腔内囊泡；分泌内体继续酸化进一步发育成熟；最终通过与质膜融合向胞外释放囊泡，即外泌体<sup>[26-27]</sup>。这些释放到胞外的外泌体将携带的多种生物活性物质释放到细胞质中，通过与受体结合、吞噬作用、巨胞饮作用，以及质膜融合等方式在细胞脂质双层结构内完成远距离运输，在翻译和转录过程中调节特定的受体细胞，从而实现与受体细胞之间的相互作用。

研究表明，几乎所有体液中都可以检测到外泌体，包括血液、尿液、脑脊液、唾液、母乳等<sup>[28]</sup>。外泌体具有可调节的免疫原性、能够穿过血脑屏障、输送细胞因子、分泌特异性的脂质和蛋白质等广泛的功能特性<sup>[17, 29]</sup>。根据外泌体数据库的最新



图注：PI3K-Akt 为磷酸肌醇 3 激酶-蛋白激酶 B；ErbB 为酪氨酸激酶受体；FAK 为黏着斑激酶；mTOR 为雷帕霉素靶蛋白；SREBP 为胆固醇调节元件结合蛋白；MAPK 为丝裂原活化蛋白激酶；Krox20 为转录激活因子；GDNF 为胶质细胞源性神经营养因子；BDNF 为脑源性神经营养因子

图 3 | 许旺细胞中周围神经损伤后再生的信号通路图解

显示，外泌体含有 9 769 种蛋白质，3 408 种 mRNA，2 838 种 miRNA 和 1 116 种脂质<sup>[30]</sup>，并成为肿瘤、心血管疾病和免疫反应等多种生理病理过程中的重要参与者<sup>[31]</sup>。除此以外，巨噬细胞、多种干细胞、许旺细胞分泌的外泌体可以有效刺激受损神经的轴突再生，刺激血管生成以及细胞增殖，为神经修复营造理想的微环境<sup>[32]</sup>。因此，外泌体在周围神经修复再生领域具有广阔的前景。

随着对外泌体研究的不断进展，如何高效快速地分离纯化外泌体是实验研究和蛋白组学分析的关键。外泌体体积微小，且不同外泌体的成分含量和形态也存在差异，因此外泌体在分离提取阶段面临着巨大的挑战。目前常用的分离提纯方法有差速离心法、密度梯度离心法、超滤法、免疫亲和法、聚合物沉淀法、凝胶过滤色谱法等<sup>[33-35]</sup>。对于外泌体的提取目前还没有标准化的流程，为了高效率得到高纯度的外泌体，可以在实验过程中结合具体情况将不同方法相互联合以达到最好的提取效果。

**2.3 许旺细胞源性外泌体修复周围神经损伤的应用进展**

**2.3.1 许旺细胞源性外泌体修复周围神经损伤的研究成果汇总表 1<sup>[36-41]</sup>**

第一作者	发表年份	主要结论及意义
LÓPEZ-VERILLI <sup>[36]</sup>	2013	周围神经损伤后许旺细胞去分化，将轴突引导至原靶组织。许旺细胞源性外泌体将生长锥形态转变为促再生表型并降低 GTP 酶 RhoA 的活性，促进体外轴突再生
WEI <sup>[37]</sup>	2019	许旺细胞源性外泌体主要参与信号传导和细胞通讯，外泌体的生物发生、形成、摄取和轴突再生与信号通路密切相关
GONCALVES <sup>[38]</sup>	2020	许旺细胞源性外泌体参与了轴突稳态，P75 神经营养因子受体和分拣蛋白参与了许旺细胞衍生外泌体中 microRNA 和 tRNA 的特征性调节
LÓPEZ-LEAL <sup>[39]</sup>	2020	c-Jun 和 Sox2 在分化型许旺细胞重编程为修复型许旺细胞过程中起到了重要的作用。miRNA-21 表达增加，修复性许旺细胞源性外泌体促进轴突再生和组织稳态
ZHU <sup>[40]</sup>	2021	用芍药苷处理许旺细胞，其衍生的许旺细胞源性外泌体通过肌醇依赖酶 1α 通路改善背根神经节神经元凋亡
HUANG <sup>[41]</sup>	2021	许旺细胞源性外泌体对循环机械拉伸引起的背根神经节细胞损伤具有修复作用，Wnt/β-catenin 通路可能参与该过程

**2.3.2 内源性许旺细胞衍生的外泌体对周围神经损伤的修复作用** 许旺细胞源性外泌体对周围神经系统损伤后轴突再生的促进作用已被广泛证实。WEI等<sup>[37]</sup>对许旺细胞源性外泌体进行蛋白质组学分析,发现内源性许旺细胞衍生的外泌体在修复损伤神经过程中主要促进信号传导和细胞通讯,通过PI3K/Akt和CAMP信号通路、神经营养因子在修复受损神经过程中发挥着重要的作用。另一项研究对内源性许旺细胞衍生的外泌体进行RNA测序,发现许旺细胞源性外泌体参与了轴突的稳态,通过敲除许旺细胞中p75神经营养因子受体或sortilin基因来改变tRNAs和miRNAs的表达水平,可以影响自噬和磷脂酰肌醇等相关信号通路<sup>[38]</sup>。许旺细胞分泌的外泌体携带的表达最高的20种miRNA主要与轴突发生、轴突导向和轴突延伸的调节有关<sup>[42]</sup>,其中内源性许旺细胞分泌的外泌体携带的miRNA-93-5p、miRNA-16-5p、miRNA21-5p、miRNA-99b-5p和miRNA-9a-5p是调节轴突生长过程的最重要的miRNA<sup>[38]</sup>,这些生物活性物质的作用和机制将是接下来重点研究的问题。

LÓPEZ-LEAL等<sup>[39]</sup>研究认为周围神经的再生修复需要在机体的微环境下将分化型许旺细胞重编程为修复型许旺细胞,而重编程这一过程需要c-Jun和Sox2的参与,c-Jun和Sox2的上调抑制了分化表型许旺细胞的髓鞘形成,促进了修复型许旺细胞分泌的外泌体被外周神经元内化,从而介导了轴突的再生。虽然分化表型许旺细胞分泌的外泌体没有表现出增强轴突再生的能力,但用环腺苷酸诱导分化型许旺细胞并对其分泌的外泌体进行测序,结果发现分化表型许旺细胞分泌的外泌体携带的miRNA通过自分泌或旁分泌途径传递相关信息来抑制内源性许旺细胞的迁移,促进髓鞘形成,从而发挥许旺细胞修复周围神经损伤的功能<sup>[35]</sup>。分化表型许旺细胞分泌的外泌体通过改变miRNA的表达来调节许旺细胞的迁移,这取决于磷酸酶张力蛋白同源物基因(phosphatase and tensin homology deleted on chromosome ten, PTEN)表达水平的下调和磷酸肌醇(phosphatidylinositol-3-kinase, PI3K)的活化<sup>[39]</sup>。这表明不同分化表型的内源性许旺细胞衍生的外泌体功能是不同的,因为不同外泌体携带的物质成分、含量是有差异的,修复表型许旺细胞分泌的外泌体可以特异性修复周围神经损伤。但受时间影响较大,修复型许旺细胞在长时间缺失轴突接触后,许旺细胞凋亡数量增加,再生功能也会相应减低<sup>[40]</sup>。因此争取周围神经损伤后的时间非常重要。

**2.3.3 外源性许旺细胞分泌的外泌体在周围神经损伤修复过程中促进作用** HRANG等<sup>[41]</sup>发现输入外源性许旺细胞衍生的外泌体可以通过促进背根神经节细胞增殖,促进细胞周期向G<sub>2</sub>期转变、抑制细胞凋亡、促进轴突再生等途径对机械损伤后的背根神经节细胞发挥治疗作用,Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路参与其中。同时外源性许旺细胞分泌的外泌体可以通过增加自噬和减少细胞凋亡来诱导脊髓损伤后的轴突再生,从而促进运动功能的恢复,EGFR/Akt/mTOR信号通路参与了这一过程,研究还显示增加的许旺细胞源性外泌体可导致EGFR表达水平降低,对Akt/mTOR信号通路产生抑制作用<sup>[43]</sup>。PAN等<sup>[44]</sup>实验证明,外源性许旺细胞分泌的外泌体通过NF- $\kappa$ B/PI3K信号通路增加星形胶质细胞上Toll样受体2的表达、减少硫酸软骨素蛋白聚糖的沉积,来促进轴突再生、神经功能恢复,从而促进创伤性脊髓损伤后小鼠的功能恢复。许旺细胞源性外泌体携带的诸如siRNA,miRNA和蛋白质等生物活性分子可以在外泌体形成期间或者外泌体分离后加载到外泌体中,通过外泌体递送到相应的靶细胞<sup>[45]</sup>。CONG等<sup>[46]</sup>研究表明许旺细胞源性外泌体携带miRNA-21-5p负调节PTEN,同时调节PI3K途

径的下游信号分子,从而促进氧-葡萄糖剥夺损伤的神经元恢复。这些生物活性物质在周围神经损伤后的再生修复过程中起到不同程度的修饰作用。

**2.3.4 外源性物质对许旺细胞源性外泌体功能的影响** 研究发现皮肤前体细胞经N2、神经调节蛋白1 $\beta$ 和毛喉素体外诱导后可衍生为许旺细胞<sup>[47]</sup>,并具有分泌外泌体的功能,利用蛋白印迹实验证实,外泌体通过PI3K/Akt信号通路改善氧-葡萄糖剥夺后神经元的活力,通过调节Bax/Bcl-2增强氧-葡萄糖剥夺损伤后感觉神经元的抗凋亡作用,从而促进受损神经的轴突再生。另一项研究发现高葡萄糖环境会对原代许旺细胞造成一定程度的伤害,并通过激活细胞外信号调节激酶这一信号通路抑制许旺细胞活性和分化<sup>[48]</sup>。通过体外研究表明,高葡萄糖刺激可使许旺细胞源性外泌体携带的miRNA-28、miRNA-31a和miRNA-130a的表达水平增加,其相关靶蛋白DNA甲基转移酶3a、NUMB内吞衔接蛋白、轴突中的突触体相关蛋白25等表达减少,从而使远端轴突生成减少<sup>[49]</sup>。利用芍药苷来干预许旺细胞源性外泌体,可显著降低葡萄糖调节蛋白78、肌醇依赖酶1 $\alpha$ 的表达以及肌醇依赖酶1 $\alpha$ 的磷酸化水平,调节肌醇依赖酶1 $\alpha$ 通路下游蛋白的表达,以此来抑制背根神经节神经元的凋亡<sup>[40]</sup>。这进一步证实了外泌体携带的生物活性物质参与了轴突-神经胶质细胞间的通讯,并在促进轴突再生和增强神经元存活方面起到了一定的修饰作用<sup>[39]</sup>。

**2.3.5 许旺细胞源性外泌体的优势与挑战** 周围神经损伤后的再生修复涉及许旺细胞表型的变化、巨噬细胞的激活和血管网络的重建<sup>[49]</sup>。许旺细胞是周围神经损伤后神经修复的重要细胞。首先从许旺细胞和成纤维细胞中提取外泌体,然后将提取的外泌体分别与骨髓间充质干细胞共培养,结果发现许旺细胞源性外泌体显著增加了骨髓间充质干细胞中许旺细胞的特异标志物的表达;而成纤维细胞衍生的外泌体并未表现出相同的效果<sup>[50]</sup>,揭示了许旺细胞源性外泌体在修复受损神经方面的优越性。LÓPEZ-VERILLI等<sup>[36]</sup>用PKH67标记许旺细胞源性外泌体和原代成纤维细胞分泌的外泌体,将两种不同来源的外泌体在体外作用于背根神经节神经元,结果显示轴突会选择性地与许旺细胞源性外泌体结合,也证实了许旺细胞源性外泌体在神经修复方面的作用。COURT等<sup>[51]</sup>研究进一步表明轴突的延长和再生依赖于许旺细胞的调节,许旺细胞通过其分泌的外泌体提供mRNAs,来协助轴突合成相应蛋白质,许旺细胞源性外泌体为受损轴突提供高效、特异的支持。同时许旺细胞源性外泌体的不同表型中只有修复表型许旺细胞分泌的外泌体能够促进周围神经损伤后的轴突再生,分化表型许旺细胞衍生的外泌体未表现出此功能<sup>[39]</sup>。许旺细胞源性外泌体可以通过增强表皮神经纤维、促进髓鞘和轴突再生,来提高运动神经元的存活和抑制细胞凋亡来保护周围神经<sup>[52]</sup>,而许旺细胞源性外泌体介导的神经细胞活力增强的潜在机制与caspase3依赖性细胞凋亡有关,这也部分揭示了许旺细胞源性外泌体发挥作用的可能机制。

许旺细胞源性外泌体在修复周围神经损伤过程中也存在一些挑战,一方面,许旺细胞源性外泌体来源有限,许旺细胞体外增殖相对困难,易被成纤维细胞污染,无法大规模提取外泌体,因此在投入临床使用过程中存在一定的局限性。另一方面,对于外泌体的分离纯化目前尚没有标准流程,现有的外泌体分离提取方法有着不同的局限性,例如回收率低、纯度低、耗时、费力等。因此如何高效率得到纯度高、稳定的外泌体是利用许旺细胞源性外泌体修复周围神经损伤面临的巨大挑战。第三方面,许旺细胞源性外泌体的给药途径、使用安全性、能否在临床上广

泛应用等问题也有待更加深入的探究,利用许旺细胞源性外泌体作为治疗载体将生物活性分子递送至受损神经元以改善周围神经损伤后的神经功能、促进受损神经的轴突再生有着良好的前景。

### 3 总结与展望 Summary and prospects

**3.1 既往他人在该领域研究的贡献和存在的问题** 周围神经的再生修复是一个涉及许旺细胞分化表型的变化、巨噬细胞的募集、血管新生网络的重建以及涉及多条信号通路的高度异质的过程。周围神经损伤发生后,神经远端发生 Wallerian 变性,许旺细胞显著的可塑性使得它可以对周围神经损伤做出适应性的反应,不同的分化表型会在细胞及分子层面发生一系列复杂的变化来满足直径不同的轴突的再生需求,从而启动整体修复过程。修复表型许旺细胞有利于髓鞘的清除,引导轴突再生,防止神经元死亡。然而修复细胞的表型不稳定,很快会再次分化为原表型,如何长时间维持周围神经的初始修复能力,是研究者面临的一项挑战。对周围神经损伤后不同时期内源性许旺细胞的表型演变分析,将为精准利用外源性外泌体以及靶向改造外泌体提供依据。

研究表明许旺细胞源性外泌体具有能够有效增强神经元的细胞活性、促进细胞增殖、刺激轴突再生等功能特性。但是关于许旺细胞源性外泌体如何修复受损神经的具体机制还不明确。大量研究数据表明不同分化表型许旺细胞分泌的外泌体的功能特性是有差异的,周围神经损伤后的再生修复依赖于修复型许旺细胞分泌的外泌体,但许旺细胞源性外泌体在治疗周围神经损伤时具体的使用剂量、最佳的给药方式尚不清楚。根据蛋白组学实验结果表明许旺细胞源性外泌体通过传递生物活性物质对周围神经损伤后的再生修复起到一定的修饰作用,许旺细胞源性外泌体携带多种 miRNA,与轴突再生及其延伸密切相关。许旺细胞源性外泌体能够抑制细胞凋亡、增加细胞自噬来诱导神经损伤后的轴突再生,从而修复受损周围神经这一结果已经被体外实验广泛证实,尚缺乏动物体内实验关于药物的安全性以及长期使用是否会出现不良反应等相关研究。

**3.2 作者综述区别于他人他篇的特点** 该综述重点着眼于许旺细胞源性外泌体携带生物活性物质通过相关信号通路修复周围神经损伤的研究进展、许旺细胞源性外泌体的提取方式、应用许旺细胞源性外泌体修复周围神经损伤面临的挑战。除了对现有实验方案的总结外,还值得探讨的方向有:许旺细胞源性外泌体及其携带的生物活性物质修复受损周围神经的具体机制,如何克服许旺细胞来源有限、易被污染等弊端,从而实现大批量获取许旺细胞源性外泌体等。明确问题所在,对今后开展更为深入的研究提供思路。

**3.3 综述的局限性** 利用许旺细胞源性外泌体修复周围神经损伤的生物学机制目前仍处于研究的早期阶段,虽已取得部分进展,但实验数据还相对匮乏,应用于临床还面临很多问题和挑战,这使得该综述具有一定的研究局限性。在进行文献筛选时,因筛选方法和标准不同,获取的文献可能存在一定的偏差,也存在一定的时间滞后性,但仍能为利用许旺细胞源性外泌体修复周围神经损伤进行更深入的研究指引方向。

**3.4 综述的重要意义** 该综述选取近 20 年来许旺细胞源性外泌体修复受损周围神经专业领域内高质量的文献,提炼既往研究中的重要成果及观点,对文献中的相关信息进行归纳,对最新的研究动态进行挖掘,介绍最新研究的技术及成果,揭示现有的利用许旺细胞源性外泌体修复周围神经损伤亟待解决的问题,为后续研究者能够在短时间内了解该领域内的最新研究进展提供依据。

**致谢:** 感谢基金、资助计划给予的研究资金支持。感谢谢利德老师、付秀美老师的指导,感谢承德医学院给予的研究平台支持。

**作者贡献:** 文章设计者和文章撰写者、资料收集者均为袁博,通讯作者审核。

**利益冲突:** 文章的全部作者声明,在课题研究和文章撰写过程中不存在利益冲突。

**开放获取声明:** 这是一篇开放获取文章,根据《知识共享许可协议》“署名-非商业性使用-相同方式共享 4.0”条款,在合理引用的情况下,允许他人以非商业性目的基于原文内容编辑、调整和扩展,同时允许任何用户阅读、下载、拷贝、传递、打印、检索、超级链接该文献,并为之建立索引,用作软件的输入数据或其它任何合法用途。

**版权转让:** 文章出版前全体作者与编辑部签署了文章版权转让协议。

**出版规范:** 该文章撰写遵守国际医学期刊编辑委员会《系统综述和荟萃分析报告规范》(PRISMA 指南);文章出版前已经过专业反剽窃文献检测系统进行 3 次文字和图表查重;文章经小同行外审专家双盲审稿,同行评议认为文章符合期刊发稿宗旨。

### 4 参考文献 References

- CASTILLO-GALVÁN ML, MARTÍNEZ-RUIZ FM, DE LA GARZA-CASTERO O, et al. Study of peripheral nerve injury in trauma patients. *Gac Med Mex.* 2014;150(6):527-532.
- NOCERA G, JACOB C. Mechanisms of Schwann cell plasticity involved in peripheral nerve repair after injury. *Cell Mol Life Sci.* 2020;77(20):3977-3989.
- BHANDARI PS. Management of peripheral nerve injury. *J Clin Orthop Trauma.* 2019;10(5):862-866.
- KLIMOVICH P, RUBINA K, SYSOEVA V, et al. New frontiers in peripheral nerve regeneration: concerns and remedies. *Int J Mol Sci.* 2021;22(24):13380.
- 宋凯凯,张镨,贾龙. 周围神经系统损伤的微环境与修复方式 [J]. *中国组织工程研究*, 2021,25(4):651-656.
- LKUMI A, GINGERY A, TOYOSHIMA Y, et al. Administration of purified exosome product in a rat sciatic nerve reverse autograft model. *Plast Reconstr Surg.* 2021;148(2):200-211.
- KUBIAK CA, KUNG TA, BOWN DL, et al. State-of-the-art techniques in treating peripheral nerve injury. *Plast Reconstr Surg.* 2018;141(3):702-710.
- RAZA C, RIAZ HA, ANJUM R, et al. Repair strategies for injured peripheral nerve: review. *Life Sci.* 2020;243:117308.
- 朱芳慧. 甲钴胺联合硫辛酸治疗糖尿病周围神经病变的临床疗效 [J]. *实用心脑血管病杂志*, 2017,25(S2):32-34.
- 赵华飞,王维新,崔硕,等. 几丁糖对鼠坐骨神经损伤后再生的影响 [J]. *中国临床药理学杂志*, 2018,34(14):1659-1661.
- MODRAK M, TALUKDER MAH, GURGENASHVILI K, et al. Peripheral nerve injury and myelination: Potential therapeutic strategies. *J Neurosci Res.* 2020;98(5):780-795.
- LI Y, MA Z, REN Y, et al. Tissue engineering strategies for peripheral nerve regeneration. *Front Neurol.* 2021;12:768267.
- BUSUTTIL F, RAHIM AA, PHILLIPS JB. Cand stem cell therapy for peripheral nerve tissue engineering. *Stem Cells Dev.* 2017;26(4):231-238.
- 陈渝,邓忠良,翁政,等. NGF/MAG 双基因共表达腺病毒修复大鼠周围神经损伤的试验研究 [J]. *中国修复重建外科杂志*, 2016,30(8):1026-1033.
- LI H, CHANG LJ, NEUBAUER DR, et al. Immortalization of human normal and NF1 neurofibroma Schwann cells. *Laboratory Investigation.* 2016;96(10):1105-1115.

- [16] CHEN J, REN S, DUSCHER D, et al. Exosomes from human adipose-derived stem cells promote sciatic nerve regeneration via optimizing Schwann cell function. *J Cell Physiol.* 2019;234(12):23097-23110.
- [17] DAI J, SU Y, ZHONG S, et al. Exosomes: key players in cancer and potential therapeutic strategy. *Signal Transduct Target Ther.* 2020; 5(1):145.
- [18] 袁一鸣, 王艳, 陈程程, 等. 外泌体在周围神经损伤进程中的效应 [J]. *中国组织工程研究*, 2020, 24(31):5079-5084.
- [19] MONK KR, FELTRI ML, TAVEGGIA C. New insights on Schwann cell development. *Glia.* 2015;63(8):1376-1393.
- [20] JESSEN KR, MIRSKY R. The success and failure of the Schwann cell response to nerve injury. *Front Cell Neurosci.* 2019;13:33.
- [21] HARTY BL, MONK KR. Unwrapping the unappreciated: recent progress in remak Schwann cell biology. *Curr Opin Neurobiol.* 2017;47:131-137.
- [22] 蒋玲丽, 魏在荣. 周围神经损伤修复过程以及 miRNA 在周围神经修复中的研究进展 [J]. *遵义医科大学学报*, 2020, 43(6):801-806.
- [23] MADISON RD, MCGEE C, RAWSON R, et al. Extracellular vesicles from a muscle cell line (C2C12) enhance cell survival and neurite outgrowth of a motor neuron cell line (NSC-34). *J Extracell Vesicles.* 2014;3(1): 22865.
- [24] BOERBOOM A, DION V, CHARIOT A, et al. Molecular mechanisms involved in Schwann cell plasticity. *Front Mol Neurosci.* 2017;10:38.
- [25] WONG FC, YE L, DEMIR IE, et al. Schwann cell-derived exosomes: Janus-faced mediators of regeneration and disease. *Glia.* 2022;70(1):20-34.
- [26] IBRAHIM A, MARBÁN E. Exosomes: Fundamental biology and roles in cardiovascular physiology. *Annu Rev Physiol.* 2016;78:67-83.
- [27] DE GREGORIO C, DÍAZ P, LÓPEZ-LEAL R, et al. Purification of exosomes from primary Schwann cells, RNA extraction, and next-generation sequencing of exosomal RNAs. *Methods Mol Biol.* 2018;1739:299-315.
- [28] 谢欢. HUVECs 分泌的外泌体通过抑制 miR-21-3p 减弱缺氧 / 复氧诱导的神经细胞凋亡 [D]. 南昌: 南昌大学, 2019.
- [29] KALLURI R, LEBLEU VS. The biology, function, and biomedical applications of exosomes. *Science.* 2020;367(6478):6977.
- [30] XIE F, ZHOU X, FANG M, et al. Extracellular vesicles in cancer immune microenvironment and cancer immunotherapy. *Adv Sci (Weinh).* 2019; 6(24):1901779.
- [31] ZHOU B, XU K, ZHENG X, et al. Application of exosomes as liquid biopsy in clinical diagnosis. *Signal Transduct Target Ther.* 2020;5(1):144.
- [32] 周敏, 洪莉, 胡鸣, 等. 外泌体在周围神经损伤中的研究进展 [J]. *医学综述*, 2017, 23(13):2497-2500.
- [33] 高方园, 焦丰龙, 张养军, 等. 外泌体分离技术及其临床应用研究进展 [J]. *色谱*, 2019, 37(10):1071-1083.
- [34] HYUNG S, KIM JY, YU CJ, et al. Neuroprotective effect of glial cell-derived exosomes on neurons. *Immunotherapy: Open Access.* 2019; 5(1):156.
- [35] SOHN E J, PARK H T, SHIN YK. Exosomes derived from differentiated Schwann cells inhibit Schwann cell migration via microRNAs. *Neuroreport.* 2020;31(7):515-522.
- [36] LÓPEZ-VERILLI MA, PICOU F, COURT FA. Schwann cell-derived exosomes enhance axonal regeneration in the peripheral nervous system. *Glia.* 2013;61(11):1795-1806.
- [37] WEI Z, FAN B, DING H, et al. Proteomics analysis of Schwann cell-derived exosomes: a novel therapeutic strategy for central nervous system injury. *Mol Cell Biochem.* 2019;457(1-2):51-59.
- [38] GONCALVES NP, YAN Y, ULRICHSEN M, et al. Modulation of small RNA signatures in Schwann-cell-derived extracellular vesicles by the p75 neurotrophin receptor and Sortilin. *Biomedicines.* 2020;8(11):450.
- [39] LÓPEZ-LEAL R, DÍAZ-VIRAQUE F, CATALÁN RJ, et al. Schwann cell reprogramming into repair cells increases miRNA-21 expression in exosomes promoting axonal growth. *J Cell Sci.* 2020;133(12):239004.
- [40] ZHU Y, HAN S, LI X, et al. Paeoniflorin effect of Schwann cell-derived exosomes ameliorates dorsal root ganglion neurons apoptosis through IRE1 $\alpha$  pathway. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2021; 2021:6079305.
- [41] HRANG G, HU M, LU D, et al. Protective effect and potential mechanism of Schwann cell-derived exosomes on mechanical damage of rat dorsal root ganglion cells. *J Obstet Gynaecol Res.* 2021;47(10):3691-3701.
- [42] GONÇALVES NP, VÆGTER CB, ANDERSEN H, et al. Schwann cell interactions with axons and microvessels in diabetic neuropathy. *Nat Rev Neurol.* 2017;13(3):135-147.
- [43] PAN D, ZHU S, ZHANG W, et al. Autophagy induced by Schwann cell-derived exosomes promotes recovery after spinal cord injury in rats. *Biotechnol Lett.* 2022;44(1):129-142.
- [44] PAN D, LI Y, YANG F, et al. Increasing toll-like receptor 2 on astrocytes induced by Schwann cell-derived exosomes promotes recovery by inhibiting CSPGs deposition after spinal cord injury. *J Neuroinflammation.* 2021;18(1):172.
- [45] HU M, HONG L, LIU C, et al. Electrical stimulation enhances neuronal cell activity mediated by Schwann cell derived exosomes. *Sci Rep.* 2019; 9(1):4206.
- [46] CONG M, SHEN M, WU X, et al. Improvement of sensory neuron growth and survival via negatively regulating PTEN by miR-21-5p-contained small extracellular vesicles from skin precursor-derived Schwann cells. *Stem Cell Res Ther.* 2021;12(1):80.
- [47] LIU D, LIANG X, ZHANG H. Effects of High Glucose on Cell Viability and Differentiation in Primary Cultured Schwann Cells: Potential Role of ERK Signaling Pathway. *Neurochem Res.* 2016;41(6):1281-1290.
- [48] JIA L, CHOPP M, WANG L, et al. Exosomes derived from high-glucose-stimulated Schwann cells promote development of diabetic peripheral neuropathy. *FASEB J.* 2018;32(12):fj201800597R.
- [49] DONG R, LIU Y, YANG Y, et al. MSC-Derived Exosomes-Based Therapy for Peripheral Nerve Injury: A Novel Therapeutic Strategy. *Biomed Res Int.* 2019;2019:6458237.
- [50] WANG H, JIA Y, LI J, et al. Schwann cell derived exosomes induce bone marrow derived mesenchymal stem cells to express Schwann cell markers in vitro. *Mol Med Rep.* 2020;21(3):1640-1646.
- [51] COURT FA, ALVAREZ J. Schwann cell and axon: an interlaced unit-from action potential to phenotype expression. *Adv Exp Med Biol.* 2016; 949:183-201.
- [52] WANG L, CHOPP M, SZALAD A, et al. Exosomes derived from schwann cells ameliorate peripheral neuropathy in type 2 diabetic mice. *Diabetes.* 2020;69(4):749-759.

(责任编辑: MZH, ZN, ZH)