

张俊峰,郝丽亚,高红艳,等. 外泌体 miRNA 在早期筛查与治疗阿尔茨海默病的相关研究进展 [J]. 中国比较医学杂志, 2023, 33(10): 140-145.

Zhang JF, Hao LY, Gao HY, et al. Research progress of exosomal miRNA in early screening and treatment of Alzheimer's disease [J]. Chin J Comp Med, 2023, 33(10): 140-145.

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2023.10.018

外泌体 miRNA 在早期筛查与治疗阿尔茨海默病的相关研究进展

张俊峰*, 郝丽亚, 高红艳, 刘光甫, 张祖源, 郭永刚

(平顶山学院医学院基础医学系, 河南 平顶山 467000)

【摘要】 外泌体作为一种能被不同细胞分泌的小分子细胞外囊泡,通过运输 miRNA 等多种生物活性物质在阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)的病理过程中发挥重要作用。研究表明,外泌体 miRNA 的表达在 AD 患者早期阶段发生变化,并且通过外源性注射间充质干细胞来源的外泌体 miRNA 可以改善 AD 动物模型的学习记忆能力。本文就该领域对外泌体在早期筛查和治疗 AD 的研究情况进行综述。

【关键词】 外泌体;微小 RNA;阿尔茨海默病;间充质干细胞

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856 (2023) 10-0140-06

Research progress of exosomal miRNA in early screening and treatment of Alzheimer's disease

ZHANG Junfeng*, HAO Liya, GAO Hongyan, LIU Guangfu, ZHANG Zuyuan, GUO Yonggang

(Department of Basic Medicine, Medical College, Pingdingshan University, Pingdingshan 467000, China)

【Abstract】 Exosomes are small molecule extracellular vesicles secreted by various cells and play a major role in the pathological process of Alzheimer's disease by transporting various bioactive substances such as miRNAs. Expression of exosomal miRNA changes in the early stages of AD, and exogenous injection of mesenchymal stem cell-derived exosomal miRNA improves learning and memory of AD animal models. This article reviews the research progress of exosomes in early screening and treatment of Alzheimer's disease.

【Keywords】 exosomes; miRNA; Alzheimer's disease; mesenchymal stem cell

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)是临床常见的一种神经退行性疾病,神经病理学特征是大脑内老年斑形成以及神经纤维缠结,主要临床表现为认知功能下降和记忆能力减退。随着全球人口的老龄化,AD的发病率也呈现逐年上升趋势。然而由于AD的病理机制复杂且尚未明确,目前仍然没有发现高效灵敏的AD早期诊断生物标记物,

同时临床常用药物治疗AD的效果也差强人意,这些都给社会 and 患者家庭带来了巨大的医疗经济负担。近年研究发现,外泌体(exosomes)是一种携带多种生物活性物质的细胞外囊泡,在AD、帕金森症(Parkinson's disease, PD)和亨廷顿病(Huntington's disease, HD)等神经退行性疾病中发挥重要作用^[1]。在中枢神经系统中,外泌体微小RNA(microRNA,

[基金项目] 河南省高等学校重点科研项目计划(21B310005)。

[作者简介] 张俊峰(1981—),男,本科,讲师,研究方向:神经病学临床治疗及人体解剖学教学研究。E-mail: 1161050450@qq.com

miRNA)可以由神经元和胶质细胞等各种细胞分泌而来,在不同细胞之间的通讯发挥重要作用并且通过观察表达含量变化间接反映大脑病变损伤程度,可以作为 AD 早期筛查的生物标志物^[2]。最重要的是外泌体可以通过血脑屏障从而到达病变脑区域发挥疗效,具有治疗神经退行性疾病的潜在价值^[3]。本文就外泌体 miRNA 在 AD 中的诊断意义及治疗前景进行综述,以期为临床早期筛查和治疗预防 AD 提供思路参考。

1 外泌体 miRNA 概述

外泌体是由内泌体衍生而来直径为 30~150 nm 的脂质层包膜囊泡,Trams 等^[4]于 1981 年首次在羊网织红细胞发现。随后的研究陆续发现,外泌体可以由神经元、神经胶质细胞、免疫细胞、间充质干细胞(mesenchymal stem cell, MSC)等多种类型细胞产生并释放到血清、血浆、尿液、唾液、脑脊液和羊水中^[2]。外泌体发挥生物学效应的主要活性物质由蛋白质、脂质、miRNA 等多种成分组成,供体细胞合成释放外泌体后,通过与靶细胞间接结合信号受体或直接与质膜融合将外泌体中活性成分输送至细胞质中,从而介导细胞之间的信息传递发挥生物学作用^[5]。作为外泌体的重要组成部分之一,miRNA 是一类由 22~25 个核苷酸组成的小的非编码 RNA,通过与靶基因的 3' 未翻译区(3'-Untranslated region, 3'-UTR)结合从而抑制转录或阻滞翻译^[6]。越来越多的研究证明 miRNA 与 AD 的病理过程密切相关。miRNA 可以调节 α -secretase 和 β -secretase 等淀粉前体蛋白代谢相关酶蛋白的表达,还可以下调载脂蛋白 E4 (apolipoprotein E, apoE4) 和 2 型髓样细胞触发受体(triggering receptor expressed on myeloid cells 2, TREM2)的表达介导 β 淀粉样蛋白(β -amyloid, A β)的清除,同时 miRNAs 的表达水平与 Tau 蛋白磷酸化水平密切相关;miRNA 还参与了其他与 AD 发病相关的机制,比如氧化应激、线粒体自噬、神经炎症、突触可塑性和神经递质释放与清除异常^[7]。

2 外泌体 miRNA 参与阿尔茨海默病的病变过程

近年来已经有很多研究证实海马神经发生抑制、突触可塑性损伤、神经炎症等多种因素是 AD 发生的重要病理机制^[8-9]。Abdullah 等^[10]使用 A β 刺激星形胶质细胞后发现,c-Jun 氨基末端激酶(c-Jun

N-terminal kinase, JNK)磷酸化增加从而减少外泌体的生成。同时另外一项研究指出炎症因子白介素 1 β (interleukin 1 β , IL-1 β)刺激星形胶质细胞后发现多个外泌体 miRNA 的表达发生了改变^[11]。这提示外泌体 miRNA 可能参与 AD 的病变过程。神经元来源的外泌体 miR-124 通过间接调控星形胶质细胞中谷氨酸转运体 1 (glutamate transporter-1, GLT-1) 的蛋白表达,从而介导突触可塑性变化^[12]。反复轻度颅脑外伤(repetitive mild traumatic brain injury, rmTBI)也被认为是 AD 的重要风险因素。Ge 等^[13]在 rmTBI 小鼠模型的海马和皮质损伤区域中发现有十个小胶质细胞来源外泌体 miRNA 的表达发生改变,其中变化最明显的是 miR-124-3p。有趣的是 AD 不同病程阶段的同个小胶质细胞源性外泌体 miRNA 变化也大相径庭,这提示外泌体 miRNA 在 AD 不同时期的作用可能有差异,因此需要在 AD 的不同时期确定特异性改变外泌体 miRNA 从而明确其具体作用机制。随后通过体内外实验证实随着外泌体 miR-124 的表达增加,可以直接调节 RelA/ApoE 信号通路活性使脑源性营养因子(brain-derived neurotrophic factor, BDNF)表达增加且淀粉前体蛋白(amyloid precursor protein, APP)和 A β 的生成减少,改善海马神经元损伤从而恢复小鼠的学习记忆能力^[13]。此外, Micci 等^[14]发现海马神经干细胞来源的外泌体 miR-17、miR-322 和 miR-485 的表达比成熟海马神经元来源的外泌体高,并且在 AD 小鼠模型中通过脑室注射海马神经干细胞来源的外泌体后,海马 Ca²⁺/钙调蛋白依赖性蛋白激酶 II (Ca²⁺/calmodulin-dependent kinase II, CaMKII) 的磷酸化水平上升,神经元轴突上 A β 表达减少,从而使兴奋性突触后电位幅度增加,AD 小鼠的学习记忆能力得到改善;然而脑室注射成熟海马神经元来源的外泌体并没有得到上述治疗效果,说明不同细胞来源的外泌体对 AD 的治疗效果具有一定差异性,未来研究还需要注意比较不同细胞来源的同种外泌体 miRNA 的表达是否有差别。综上所述,外泌体 miRNA 参与了 AD 病理生理过程,然而多种外泌体 miRNA 联合运用是否具有协同或拮抗调控作用值得后续深入分析研究。

3 外泌体 miRNA 作为阿尔茨海默病患者早期筛查生物标记物的应用

AD 患者在表现认知和记忆功能减退等症状之前,海马和前额叶皮层等脑区就已经出现 β 淀粉样

蛋白沉积形成细胞外斑块和 Tau 蛋白过度磷酸化形成细胞内神经纤维缠结等病理改变^[15]。因此早期筛查 AD 的生物标志物使用对疾病的预防治疗具有重要意义。Xing 等^[16]通过 meta 分析发现,外泌体 miRNA 生物标志物在 AD 尤其是轻度认知功能障碍 (mild cognitive impairment, MCI) 患者的早期筛查中具有潜在诊断价值。最新研究还发现,外泌体 miRNA 可以作为有效早期筛查生物标志物在 MCI 出现前 5~7 年检测出 AD 高患病率人群^[17]。外泌体在中枢神经系统中由神经元和胶质细胞合成释放后可以通过血脑屏障进入脑脊液或外周血液中,同时由于外泌体的双层磷脂酶层结构,可以使 miRNA 不被循环系统中的核糖核酸酶所降解^[18]。因此可以在 AD 患者的外周血液以及脑脊液中检测到外泌体 miRNA 的表达变化,对 AD 患者进行早期筛查从而达到预防治疗效果。

目前关于对临床常见样本的外泌体分离技术已逐渐成熟,主要分离方法有超速离心法、密度梯度分离法、尺寸排除色谱法、聚合物沉淀和免疫亲和力捕获法等^[19-20]。然而直接检测外泌体中的 miRNA 比较困难,并且在生物体液中,大多数体液循环的 miRNA 通常与蛋白质结合或被捕获在外泌体中^[18]。因此,需要特定的技术工具释放这些低分子量 RNA 分子才能对其进行分析和检测,这也是影响 AD 早期临床诊断效率的重要原因之一。但是随着生物技术和纳米医学的兴起,已经有多种新型检测方法被陆续研发使用,如电化学生物传感器、荧光生物传感器、表面等离子体共振生物传感器、DNA 纳米技术等^[21-23]。

3.1 外泌体 miRNA 在阿尔茨海默病患者血清和血浆的变化

血液外泌体是由活细胞分泌到循环血液中的细胞外囊泡,被认为是一种相对无创的监测脑生理和疾病状态的新型工具^[24]。越来越多的研究发现血液外泌体 miRNA 可能作为检测 AD 的重要生物标志物之一,Nie 等^[25]通过测序技术发现 AD 患者血浆中外泌体 miRNA 有 22 个表达上调和 21 个表达下调。此外,Lugli 等^[26]也检测到 AD 患者血浆外泌体 miRNA 有 20 个的表达发生变化。这两项研究数据中都显示外泌体 miR-34-3p 在 AD 患者血浆中表达下调,说明血浆外泌体 miR-342-3p 的表达变化与 AD 的病理过程密切相关。值得注意的是不同种族人群的 AD 患者外泌体 miRNA 表达谱变化还是

具有差异性,这也提示未来的研究还需要进一步精细不同种族人群 AD 患者的血液外泌体 miRNA 的诊断变化标准^[27]。同时,Cha 等^[28]利用 L1 细胞粘附分子(L1 cell adhesion molecule, L1CAM)抗体结合磁珠的方法捕获神经元来源的外泌体并发现 miR-212 和 miR-132 水平下调;Li 等^[29-30]神经细胞粘附分子(neural cell adhesion molecule, NCAM)/ amphiphysin 1 双标记方法检测 AD 患者血浆中外泌体 miR-29c 和 miR-384 的表达上升,并且与 A β 42、A β 42/40、Tau 和 P-T181-Tau 的表达呈正相关,这提示可以根据对不同细胞来源的血浆外泌体 miRNA 进行表达分析可能会使诊断结果更精准化。还有研究对 AD 患者血清中外泌体 miRNA 变化进行分析并发现 miR-135a 和 miR-384 表达上调,而 miR-193b 表达下调;同时,AD 患者血清外泌体 miR-384 的表达水平明显高于血管性痴呆(vascular dementia, VD)和帕金森病伴痴呆(Parkinson's disease with dementia, PDD)患者^[31]。这说明多种血清外泌体 miRNA 的同时检测有可能会使 AD 的早期诊断方面更加具体化。另外,Wei 等^[32]发现 AD 患者血清外泌体 miR-223 表达降低,且与简易精神状态检查量表(mini-mental state examination, MMSE)评分、临床痴呆分级量表(clinical dementia rating, CDR)评分以及血清中炎症因子 IL-1 β , IL-6 和肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor α , TNF- α)表达水平呈负相关性。以上均提示血清外泌体 miRNA 也是一种具有潜在诊断价值的 AD 生物标志物。值得注意的是外周血外泌体中 miRNAs 的水平是否受性别、种族、年龄、受教育程度等因素的影响还亟待进一步研究。

3.2 外泌体 miRNA 在阿尔茨海默病患者脑脊液的变化

脑脊液含有一定的细胞及化学成分,病理情况下这些物质成分会发生改变,可以通过对脑脊液检测分析从而进行疾病的初步诊断^[33]。Gui 等^[34]通过提取 AD 患者脑脊液中的外泌体进行 miRNA 表达谱变化检测发现 AD 患者脑脊液中外泌体 miRNA 的表达与健康人群相比有 6 个 miRNA (miR-29c、miR-136-3p、miR-16-2、miR-331-5p、miR-132-5p 和 miR-485-5p)表达水平发生改变。但是,Liu 等^[35]发现 AD 患者脑脊液中外泌体 miR-193b 的表达下降。而 McKeever 等^[36]在 AD 患者脑脊液中检测到外泌体 miR-605-5p、miR-451a、miR-125b-5p 和 miR-16-5p

的变化都发生了不同变化。造成这些研究结果出现差异性的原因,可能是由于不同样品中 miRNA 的稳定性和浓度差异以及分析方法使用多样性等因素造成,这些因素也阻碍了外泌体 miRNA 作为 AD 患者早期筛查的生物标志物在临床实践中的推广。

在临床诊断标准中将小于 65 岁的 AD 患者归类为早发型 AD (young-onset Alzheimer's disease, YOAD), 而将大于 65 岁的 AD 患者归类为晚发型 AD (late-onset Alzheimer's disease, LOAD)。在 YOAD 患者脑脊液中外泌体 miR-16-5p 的表达下降,而在 LOAD 中没有发现这种变化^[36]。Schneider 等^[37]发现脑脊液外泌体 miR-204-5p 和 miR-632 可能是遗传性额颞叶痴呆 (frontotemporal dementia, FTD) 的诊断生物标志物,而 miR-632 可能是散发性 FTD 的诊断生物标志物。以上提示不同病程阶段或不同类型的 AD 可以使用多种特异性外泌体 miRNA 作为生物标记物进行早期筛查。此外, Riancho 等^[38]发现 AD 患者脑脊液外泌体中 miR-9 和 miR-598 的含量明显高于无外泌体的脑脊液中 miR-9 和 miR-598 的含量,提示这两种 miRNA 可能被选择性包裹在外泌体中。虽然这些研究发现了 AD 患者脑脊液中外泌体 miRNA 的差异表达变化,为 AD 早期筛查方法提供新的参考。但目前临床抽取脑脊液需要进行有创操作,具有一定的难度和风险,因此在早期筛查中具有局限性,选择外周血液外泌体 miRNA 作为 AD 的特异性标记物比脑脊液外泌体 miRNA 更具优势。与此同时,尿常规也是临床检测中常用手段, Song 等^[39]在 5x FAD 小鼠模型尿液中发现 48 种外泌体 miRNA 表达发生变化,并且周颖等^[40]已经在 AD 患者的尿液中成功提取出外泌体。未来可以对 AD 患者尿液中外泌体 miRNA 表达是否发生变化展开进一步研究工作。

4 间充质干细胞来源外泌体 miRNA 作为阿尔茨海默病潜在治疗方法的研究前景

改善 AD 治疗有效性的主要困难之一就是缺乏有效转载体来运输药物穿过血脑屏障进入中枢神经系统发挥治疗功效。作为纳米载体的外泌体具有免疫原性低和天然稳定性好的特点,同时不会被单核巨噬细胞系统所吞噬且运输效率高并能穿过血脑屏障^[41]。近年研究报告,通过转染技术使 MSC 内的 miRNA 表达升高或降低,随后提取的外泌体都检测到 miRNA 发生相应的变化并将其通过不同的方式注射到 AD 大鼠体内可以改善其学习记

忆功能^[42]。将 MSC 来源的外泌体注射到 AD 大鼠海马 CA1 区,观察到过表达 miR-29b 的外泌体可以降低 β 位淀粉样前体蛋白裂解酶 1 (β -site amyloid precursor protein cleaving enzyme 1, BACE1) 和 Bcl-2 相互作用细胞凋亡介导因子 (Bcl-2 interacting mediator of cell death, BIM) 的表达,减少 A β 的形成和神经元丢失从而改善空间学习记忆能力^[43]。Ma 等^[44]通过尾静脉注射过表达 miR-132-3p 的外泌体后发现靶基因 Ras p21 蛋白活化子 1 (Ras p21 protein activator 1, RASA1) 在 VD 小鼠海马和皮质区域的表达减少, Ras/Akt/GSK-3 β 信号通路激活,导致海马和皮质区域的树突分支和树突棘数量增加且神经元凋亡率降低,从而减轻学习记忆能力下降症状。Nakano 等^[45]将过表达 miR-146a 的骨髓 MSC (bone marrow mesenchymal stem cells, BM-MSC) 注射到 APP/PS1 小鼠的侧脑室脉络丛中,突触数量恢复正常,提高学习记忆能力的同时也可以检测在脑脊液中检测到外泌体中的 miR-146a 表达也增加;随后在体外实验中观察到, BM-MSC 分泌的外泌体 miR-146a 作用于星形胶质细胞,导致靶基因肿瘤坏死因子受体相关因子 6 (tumor necrosis factor receptor-associated factor 6, TRAF6) 的表达下降,核因子- κ B (nuclear factor-kappa B, NF- κ B) 生成减少从而减轻神经炎症反应;值得注意的是 A β 的生成和神经元丢失的病变情况并没有得到改善,可能的原因是不同的外泌体 miRNA 改善 AD 症状的机制不相同或者使用不同类型的 AD 动物模型所导致。然而 AD 的病理机制复杂,目前常用实验动物模型并不能很好地模拟 AD 患者的所有临床分期的特点和病理特征。例如 Wenger 等^[46]使用基于定性和定量质谱的蛋白质组学方法对两种常用的 AD 小鼠模型 (Thy1-hTau. P301 S 和 rTg (tauP301 L) 4510) 进行深入分析发现这两种 AD 小鼠模型在疾病期间都会积累不溶性 Tau 种类,这反映了人类 AD 早期阶段携带 P301 L Tau 突变的病理学特征。然而,对于人类 AD 晚期阶段很重要的 Tau 泛素化和乙酰化在小鼠模型中没有表现出来^[46]。因此外泌体 miRNA 是否可以作为 AD 的一种临床治疗手段还需要在临床试验中进一步验证。

虽然外泌体是 miRNA 的一种理想转载体,但在实际应用上 miRNA 的装载效率并不高,并且静脉注射的方式会使经过循环系统传递后的外泌体被肝、肾和脾等其他器官所摄取^[47]。因此如何提高外

泌体的装载效率以及精准靶向且高效运输至病变脑区是需要未来不断完善解决的技术问题。近年有研究报告,外界条件干预可以影响外泌体内 miRNA 的含量^[48]。与正常氧处理组相比,低氧预处理 MSC 可以使分泌的外泌体内 miR-21 的表达增加,并且能更好恢复 APP/PS1 小鼠的学习记忆能力。此外,利用基因工程方法在外泌体表面添加生物分子可以改变其靶向能力。使用狂犬病病毒糖蛋白(rabies viral glycoprotein, RVG)多肽修饰 MSC 来源的外泌体可以提高静脉注射后靶向 APP/PS1 小鼠海马和皮质区域的数量,更有效地抑制星形胶质细胞活化和减少 A β 沉积^[49]。

5 总结与展望

综上所述,在 AD 患者的早期阶段,脑脊液和外周血液中的外泌体 miRNA 表达发生变化,可以作为早期诊断 AD 的有效生物标记物;并且作为小分子物质的外泌体能穿过血脑屏障,可以将装载 miRNA 的外泌体作为一种小分子治疗药物靶向输送至受损脑区,从而为临床诊治 AD 提供一种新的方案。但外泌体 miRNA 作为一种基因治疗方法在临床的应用仍然存在一些疑问。例如 miRNA 通常可以同时调节许多下游靶基因,然而不同靶基因之间的相互作用是否可以影响治疗效果知之甚少。同时由于这种生物特性,外泌体 miRNA 的治疗方法是否还存在副作用也需要在未来动物实验和临床试验中留意。

参考文献:

- [1] Hill AF. Extracellular vesicles and neurodegenerative diseases [J]. *J Neurosci*, 2019, 39(47): 9269-9273.
- [2] Kalluri R, LeBleu VS. The biology, function, and biomedical applications of exosomes [J]. *Science*, 2020, 367(6478): eaau6977.
- [3] Dong X. Current strategies for brain drug delivery [J]. *Theranostics*, 2018, 8(6): 1481-1493.
- [4] Trams EG, Lauter CJ, Salem N Jr, et al. Exfoliation of membrane ecto-enzymes in the form of micro-vesicles [J]. *Biochim Biophys Acta*, 1981, 645(1): 63-70.
- [5] Li C, Ni YQ, Xu H, et al. Roles and mechanisms of exosomal non-coding RNAs in human health and diseases [J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2021, 6(1): 383.
- [6] He M, Zhang HN, Tang ZC, et al. Diagnostic and therapeutic potential of exosomal microRNAs for neurodegenerative diseases [J]. *Neural Plast*, 2021, 2021: 8884642.
- [7] Wang X, Zhou Y, Gao Q, et al. The role of exosomal microRNAs and oxidative stress in neurodegenerative diseases [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2020, 2020: 3232869.
- [8] Babcock KR, Page JS, Fallon JR, et al. Adult hippocampal neurogenesis in aging and Alzheimer's disease [J]. *Stem Cell Reports*, 2021, 16(4): 681-693.
- [9] Sung PS, Lin PY, Liu CH, et al. Neuroinflammation and neurogenesis in Alzheimer's disease and potential therapeutic approaches [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(3): 701.
- [10] Abdullah M, Takase H, Nunome M, et al. Amyloid- β reduces exosome Release from Astrocytes by enhancing JNK phosphorylation [J]. *J Alzheimers Dis*, 2016, 53(4): 1433-1441.
- [11] Gayen M, Bhomia M, Balakathiresan N, et al. Exosomal microRNAs released by activated astrocytes as potential neuroinflammatory biomarkers [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(7): 2312.
- [12] Morel L, Regan M, Higashimori H, et al. Neuronal exosomal miRNA-dependent translational regulation of astroglial glutamate transporter GLT1 [J]. *J Biol Chem*, 2013, 288(10): 7105-7116.
- [13] Ge X, Guo M, Hu T, et al. Increased microglial exosomal miR-124-3p alleviates neurodegeneration and improves cognitive outcome after mTBI [J]. *Mol Ther*, 2020, 28(2): 503-522.
- [14] Micci MA, Krishnan B, Bishop E, et al. Hippocampal stem cells promotes synaptic resistance to the dysfunctional impact of amyloid beta oligomers via secreted exosomes [J]. *Mol Neurodegener*, 2019, 14(1): 25.
- [15] Reiman EM, Quiroz YT, Fleisher AS, et al. Brain imaging and fluid biomarker analysis in young adults at genetic risk for autosomal dominant Alzheimer's disease in the presenilin 1 E280A kindred: a case-control study [J]. *Lancet Neurol*, 2012, 11(12): 1048-1056.
- [16] Xing W, Gao W, Lv X, et al. The diagnostic value of exosome-derived biomarkers in Alzheimer's disease and mild cognitive impairment: a meta-analysis [J]. *Front Aging Neurosci*, 2021, 13: 637218.
- [17] Jia L, Zhu M, Yang J, et al. Exosomal microRNA-based predictive model for preclinical Alzheimer's disease: a multicenter study [J]. *Biol Psychiatry*, 2022, 92(1): 44-53.
- [18] Pishbin E, Sadri F, Dehghan A, et al. Recent advances in isolation and detection of exosomal microRNAs related to Alzheimer's disease [J]. *Environ Res*, 2023, 227: 115705.
- [19] Manna I, De Benedittis S, Quattrone A, et al. Exosomal miRNAs as potential diagnostic biomarkers in Alzheimer's disease [J]. *Pharmaceuticals (Basel)*, 2020, 13(9): 243.
- [20] Wang J, Yue BL, Huang YZ, et al. Exosomal RNAs: novel potential biomarkers for diseases-a review [J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(5): 2461.
- [21] 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]. *Biosens Bioelectron*,

- 2022, 199; 113864.
- [22] Song S, Lee JU, Jeon MJ, et al. Precise profiling of exosomal biomarkers via programmable curved plasmonic nanoarchitecture-based biosensor for clinical diagnosis of Alzheimer's disease [J]. *Biosens Bioelectron*, 2023, 230: 115269.
- [23] Zhou J, Sun Y, Zhang J, et al. Dumbbell aptamer sensor based on dual biomarkers for early detection of Alzheimer's disease [J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2023, 15 (13): 16394–16407.
- [24] Dong Z, Gu H, Guo Q, et al. Profiling of serum exosome miRNA reveals the potential of a miRNA panel as diagnostic biomarker for Alzheimer's disease [J]. *Mol Neurobiol*, 2021, 58(7): 3084–3094.
- [25] Nie C, Sun Y, Zhen H, et al. Differential expression of plasma exo-miRNA in neurodegenerative diseases by next-generation sequencing [J]. *Front Neurosci*, 2020, 14: 438.
- [26] 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.
- [27] Wang L, Zhen H, Sun Y, et al. Plasma exo-miRNAs correlated with AD-related factors of Chinese individuals involved in A β accumulation and cognition decline [J]. *Mol Neurobiol*, 2022, 59(11): 6790–6804.
- [28] Cha DJ, Mengel D, Mustapic M, et al. miR-212 and miR-132 are downregulated in neurally derived plasma exosomes of Alzheimer's patients [J]. *Front Neurosci*, 2019, 13: 1208.
- [29] Li Y, Xia M, Meng S, et al. microRNA-29c-3p in dual-labeled exosome is a potential diagnostic marker of subjective cognitive decline [J]. *Neurobiol Dis*, 2022, 171: 105800.
- [30] Li Y, Meng S, Di W, et al. Amyloid- β protein and microRNA-384 in NCAM-labeled exosomes from peripheral blood are potential diagnostic markers for Alzheimer's disease [J]. *CNS Neurosci Ther*, 2022, 28(7): 1093–1107.
- [31] Yang TT, Liu CG, Gao SC, et al. The serum exosome derived microRNA-135a, -193b, and-384 were potential Alzheimer's disease biomarkers [J]. *Biomed Environ Sci*, 2018, 31(2): 87–96.
- [32] Wei H, Xu Y, Xu W, et al. Serum exosomal miR-223 serves as a potential diagnostic and prognostic biomarker for dementia [J]. *Neuroscience*, 2018, 379: 167–176.
- [33] Riancho J, Santurtun A, Sánchez-Juan P. Characterization of Alzheimer's disease micro-RNA profile in exosome-enriched CSF samples [J]. *Methods Mol Biol*, 2019, 2044: 343–352.
- [34] Gui Y, Liu H, Zhang L, et al. Altered microRNA profiles in cerebrospinal fluid exosome in Parkinson disease and Alzheimer disease [J]. *Oncotarget*, 2015, 6(35): 37043–37053.
- [35] Liu CG, Song J, Zhang YQ, et al. microRNA-193b is a regulator of amyloid precursor protein in the blood and cerebrospinal fluid derived exosomal microRNA-193b is a biomarker of Alzheimer's disease [J]. *Mol Med Rep*, 2014, 10 (5): 2395–2400.
- [36] McKeever PM, Schneider R, Taghdiri F, et al. microRNA expression levels are altered in the cerebrospinal fluid of patients with young-onset Alzheimer's disease [J]. *Mol Neurobiol*, 2018, 55(12): 8826–8841.
- [37] Schneider R, McKeever P, Kim T, et al. Downregulation of exosomal miR-204-5p and miR-632 as a biomarker for FTD: a GENFI study [J]. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 2018, 89 (8): 851–858.
- [38] Riancho J, Vázquez-Higuera JL, Pozueta A, et al. microRNA profile in patients with Alzheimer's disease: analysis of miR-9-5p and miR-598 in raw and exosome enriched cerebrospinal fluid samples [J]. *J Alzheimers Dis*, 2017, 57(2): 483–491.
- [39] Song Z, Qu Y, Xu Y, et al. Microarray microRNA profiling of urinary exosomes in a 5XFAD mouse model of Alzheimer's disease [J]. *Animal Model Exp Med*, 2021, 4(3):233–242.
- [40] 周颖, 王周凡, 朱焰, 等. 阿尔茨海默病患者血清及尿液中外泌体的提取鉴定 [J]. *山东医药*, 2018, 58(35): 58–60.
- [41] Kim J, Lee Y, Lee S, et al. Mesenchymal stem cell therapy and Alzheimer's disease: current status and future perspectives [J]. *J Alzheimers Dis*, 2020, 77(1): 1–14.
- [42] Nakano M, Fujimiya M. Potential effects of mesenchymal stem cell derived extracellular vesicles and exosomal miRNAs in neurological disorders [J]. *Neural Regen Res*, 2021, 16(12): 2359–2366.
- [43] Jahangard Y, Monfared H, Moradi A, et al. Therapeutic effects of transplanted exosomes containing miR-29b to a rat model of Alzheimer's disease [J]. *Front Neurosci*, 2020, 14: 564.
- [44] Ma X, Wang Y, Shi Y, et al. Exosomal miR-132-3p from mesenchymal stromal cells improves synaptic dysfunction and cognitive decline in vascular dementia [J]. *Stem Cell Res Ther*, 2022, 13(1): 315.
- [45] Nakano M, Kubota K, Kobayashi E, et al. Bone marrow-derived mesenchymal stem cells improve cognitive impairment in an Alzheimer's disease model by increasing the expression of microRNA-146a in hippocampus [J]. *Sci Rep*, 2020, 10 (1): 10772.
- [46] Wenger K, Viode A, Schläffner CN, et al. Common mouse models of tauopathy reflect early but not late human disease [J]. *Mol Neurodegener*, 2023, 18(1): 10.
- [47] Lai CP, Mardini O, Ericsson M, et al. Dynamic biodistribution of extracellular vesicles *in vivo* using a multimodal imaging reporter [J]. *ACS Nano*, 2014, 8(1): 483–494.
- [48] Cui GH, Wu J, Mou FF, et al. Exosomes derived from hypoxia-preconditioned mesenchymal stromal cells ameliorate cognitive decline by rescuing synaptic dysfunction and regulating inflammatory responses in APP/PS1 mice [J]. *FASEB J*, 2018, 32(2): 654–668.
- [49] Cui GH, Guo HD, Li H, et al. RVG-modified exosomes derived from mesenchymal stem cells rescue memory deficits by regulating inflammatory responses in a mouse model of Alzheimer's disease [J]. *Immun Ageing*, 2019, 16: 10.