细胞外囊泡在双相障碍中的机制和潜在应用[☆]

江晗* 漆学宇* 于雪莉* 徐艳* 李涛*[⊗]

【摘要】 双相障碍(bipolar disorder, BD)发病机制不明,目前缺乏具有临床指导意义的客观生物标志物。细胞外囊泡(Extracellular vesicles, EV)是一类脂质双分子层包裹的囊泡,它们携带起源细胞的多种生物活性分子,能够通过细胞外排而影响受体细胞的功能和状态。EV能够通过血脑屏障,可反映和影响大脑的病理生理状态。已有研究表明EV可介导神经认知功能损害、神经炎症扩散、代谢功能异常等BD病理生理过程。因此, EV有潜力成为BD可靠的生物标志物 and 治疗方法,为揭示BD的发病机制和临床诊疗提供了新思路。

【关键词】 双相障碍 细胞外囊泡 外泌体 病理过程 神经认知障碍 炎症 代谢 生物标志物 个体化治疗

【中图分类号】 R749.4

【文献标识码】 A

Mechanisms and potential applications of extracellular vesicles in bipolar disorder. JIANG Han, QI Xueyu, YU Xueli, XU Yan, LI Tao. Department of Neurobiology, Affiliated Mental Health Center & Hangzhou Seventh People's Hospital, Zhejiang University School of Medicine, Hangzhou 310013, China. Tel: 0571-85124613.

【Abstract】 The pathogenesis of bipolar disorder (BD) is unknown, and objective biomarkers with clinical guidance are lacking. Extracellular vesicles (EV) are lipid bilayer-enclosed vesicles that carry cargo from originating cells, influencing the processes of recipient cells. They are capable of crossing the blood-brain barrier and reflecting the ongoing processes in the central nervous system. Compelling data indicates that EV could mediate BD pathophysiological processes such as neurocognitive impairment, neuroinflammatory diffusion, and metabolic dysfunction. Therefore, EV has the potential to become a reliable biomarker and therapy for BD, providing new ideas for revealing the pathogenesis and clinical diagnosis and treatment of BD.

【Key words】 Bipolar disorder Extracellular vesicles Exosomes Pathologic processes Neurocognitive disorders Inflammation Metabolism Biomarker Individualized treatment

双相障碍(bipolar disorder, BD)在我国的终身患病率约为0.5%,其发病机制尚不明确,给BD的诊断和治疗带来了严峻挑战^[1]。细胞外囊泡(extracellular vesicles, EV)是一类存在于细胞外基质中的膜性小囊泡,介导细胞间通讯,对调控中枢神经系统稳态具有重要作用^[2]。此外,由于EV可以通过血脑屏障,能够动态反映大脑在患病状态下变化,并且

EV的表达谱在BD患者中发生显著改变,这提示EV参与了BD的病理生理变化^[3-5]。故探究BD患者外周血中的EV表达谱特征,能够为解释BD的病理机制、发现生物标志物等开辟新路径^[6]。本文拟从神经认知功能障碍、神经炎症以及代谢异常角度探讨EV在BD发病机制中的潜在作用,并探究其在预测、诊断和治疗BD的应用前景,为揭示BD的发病机制以及发现生物标志物提供新思路。

1 EV在BD神经认知功能障碍的作用

认知功能损伤是BD患者的核心症状之一,通常在疾病发作前就开始出现,并且在疾病缓解后依然持续存在^[7]。CEYLAN等^[8]指出,与健康对照组相比, BD患者血浆中EV内微小核糖核酸(microRNAs, miRNAs)的表达水平发生明显改变,并且这些差异表达的miRNAs作用主要是调控神经

doi:10.3969/j.issn.1002-0152.2023.10.010

* 浙江省重点研发计划(编号:2022C03096);浙江省自然科学基金(编号:LY22H090009);杭州市生物医药和健康产业发展扶持科技专项(编号:2021WJCY195)

* 浙江大学医学院附属精神卫生中心&杭州市第七人民医院(杭州 310013)

⊗ 通信作者(E-mail: litaozjusc@zju.edu.cn)

元信号传递和存活,提示EV可能参与了BD患者认知功能损害的发生和发展。最近的meta分析指出,BD患者脑的皮质厚度越薄,其认知功能障碍就越严重^[8]。MANSUR等^[4]发现,随着BD患者病情缓解,外周血中神经细胞起源的EV(neuron-derived extracellular vesicles, NDEV)中肿瘤坏死因子受体(tumor necrosis factor- α receptors, TNFRs)的水平会逐渐降低,脑皮质厚度会逐渐增厚,二者呈明显的负相关关系。此外,BD患者前扣带回皮质区域的EV中miR-149显著上调,上调的miR-149可以减少该区域神经胶质细胞的数量^[9]。神经胶质细胞对神经元具有营养支持和代谢物清除的作用,神经胶质细胞减少会损害神经元的突触可塑性,进而影响学习和记忆^[10]。

这些研究结果提示,EV在BD的神经认知功能中扮演着负向调控作用。因此,EV有望成为评估BD疾病严重程度和预后的临床生物学指标,是改善BD患者认知功能障碍的潜在治疗靶点。

2 EV在BD神经炎症的作用

虽然神经炎症是BD公认的病理变化^[11],但是神经炎症在BD中是如何发生发展的尚未可知。由于EV对细胞间通讯起重要作用,EV能够作为神经炎症扩散的介质。中枢神经系统的小胶质细胞和白细胞在炎症状态下能够被激活,并分泌大量具有免疫调节作用的EV,使周围处于静息态的免疫细胞激活,从而加重神经炎症反应^[12]。但是EV在BD中是否同样引发了促炎效应,以及抑制这些免疫细胞合成与释放EV是否能成为BD治疗靶点,仍有待进一步探究。

此外,BD患者外周血中EV含有的炎症相关分子或许能反映神经炎症的动态变化。有研究证明,抑郁发作期BD患者在接受英夫利西单抗(infliximab,一种抗肿瘤坏死因子药物)治疗后,外周血中NDEV的免疫炎症相关标志物表达水平会明显下降,并且炎症水平的下降程度与抑郁症状的改善程度呈正相关关系^[4]。这提示外周循环中的EV可以反映中枢神经系统炎症水平,有望成为BD神经炎症的生物标志物。

3 EV在BD糖代谢障碍的作用

BD中常见的代谢功能障碍,如糖代谢异常,已经被视为BD主要的病理变化之一^[13]。DU等^[14]发现,与健康对照相比,BD患者外周血EV中存在26种代谢分子水平异常变化。这些差异水平的代谢分子主要集中在糖代谢相关途径,如半乳糖代谢、戊糖和葡萄糖醛酸盐的相互转化、淀粉和蔗糖代谢,以及糖酵解和糖异生等。这表明EV中的代谢分子可

能参与了BD糖代谢障碍的病理生理过程。此外,CEYLAN等^[3]研究发现,与健康对照相比较,BD患者EV中异常表达的miRNAs主要集中在磷脂酰肌醇-3-激酶(phosphatidylinositol-3-kinase, PI3K)/丝氨酸-苏氨酸蛋白激酶(serine-threonine protein kinase, Akt)信号通路上。PI3K/Akt信号通路是胰岛素通路的中心环节,该通路激活可增加胰岛素的敏感性,促进糖代谢^[15]。失调的PI3K/Akt信号通路会引起胰岛素抵抗,导致细胞的能量代谢异常,引起氧化应激和炎症,是BD预后不良的重要病理机制之一^[16-17]。锂盐能够作用于PI3K/Akt信号通路来恢复胰岛素受体的敏感性,改善BD的糖代谢障碍,从而对BD患者起到稳定情绪的作用^[18]。这提示临床上可以通过检测BD患者EV内miRNAs来预测患者对锂盐的敏感性,从而优化治疗方案。同样地,MANSUR等^[9]通过Bootstrap中介检验发现,BD患者血浆中神经细胞起源的EV中糖代谢相关标志物表达水平与认知功能障碍之间的联系,是由腹内侧前额叶皮质体积介导。该研究进一步发现,在给予BD患者常规药物治疗基础上,增加胰岛素受体增敏剂治疗可以使患者的大脑皮质体积和认知功能得到更大程度地增加及改善^[19]。

以上研究提示,EV中的糖代谢相关指标能反映BD患者临床和生物学特征,是潜在的干预靶点。进一步探索EV中与糖代谢相关的生物指标,将有助于阐明BD的病理机制,并为开发新型治疗方法提供重要依据。表1总结了目前EV在BD中的临床研究。

4 EV在BD的应用前景

4.1 研究BD的新窗口:来自中枢神经系统的EV

外周生物标志物在有关BD的研究中受到广泛关注,但其能否反映大脑的病理功能改变仍然存在争议。最近出现的一项创新性技术,利用在神经细胞具有高表达量和特异度的糖蛋白,如神经细胞粘附分子、L1细胞黏附分子等,对外周血中的EV进行免疫捕获,从而富集外周血中的NDEV。这些囊泡源自中枢神经系统,因此可以更准确地反映发生在大脑的病理生理变化^[6]。LI等^[20]发现, β 淀粉样蛋白和miR-384在外周血NDEV中表达水平及其在脑脊液中的表达水平,对阿尔茨海默病(Alzheimer disease, AD)有着相同的诊断效能,并且这两种物质在NDEV中表达水平与其在脑脊液的表达水平存在严格的相关关系^[20]。因此该研究推测外周血中的NDEV或许能替代脑脊液诊断AD。此外,SUIRE等^[21]研究发现,对比运动能力正常的老年人,运动能力受损的老年人NDEV中的脑源性神经营养因子前体(brain-derived neuro-

trophic factor precursor, Pro-BDNF)表达水平显著增加,但未观察到EV中Pro-BDNF表达水平在两组间存在差异。因此,对神经精神疾病而言,研究NDEV更有机会发现大脑在疾病状态下潜在的病理生理变化。已经有研究证明NDEV参与神经精神疾病的各种病理生理机制,如神经炎症、突触可塑性和能量代谢等^[19-20,22]。应用NDEV来探索BD的病理生理机制是将来重要的研究方向。

4.2 EV在BD精准医疗的前景展望 精准医疗的目标是提供基于个体的治疗和预防策略,其强调对疾病潜在治疗靶点的精确筛选,并根据病理生理学基础对患者进行分类。然而,由于BD具有高度异质性,包括遗传、生理病理和临床症状的差异,以及其尚未完全明确的病理机制和治疗靶点,使得BD的精准医疗变得困难。随着EV在疾病病理机制研究的不断深入,EV在精准医疗中展现出较好的应用前景。KHADIMALLAH等^[23]研究发现,精神分裂症患者外周血EV中miR-137水平显著上调,而细胞色素c氧化酶A2(cytochrome c oxidase complex IVA2, COX6A2)水平显著下调,并且miR-137与COX6A2表达量的比值越高,患者皮质微环路的损伤程度越重,患者的神经认知功能与社会功能越差。该研究使用的思路方法或能同样应用于BD患者研究,从而为发现BD生物标志物和精准医疗提供新思路。

4.3 EV在药物治疗中的应用 近年来,应用EV治疗一直备受关注^[24]。已有研究证明,某些特定细胞来源的EV对精神疾病具有治疗作用。例如,GUO等^[25]指出通过尾静脉注射到大鼠体内的骨髓间充质干细胞来源EV(bone marrow mesenchymal stem cells, BMSC-EV),可以明显改善皮质酮诱导大鼠的抑郁样行为,并促进其海马神经元损伤修复,为抑郁症的临床治疗提供了新方向。此外,在细胞研究和动物研

究中,BMSC-EV均被证实具有促进神经元再生、减轻神经炎症、清除代谢产物等功能^[26],这提示BMSC-EV对BD可能同样具有潜在的治疗作用,值得进一步研究。

血脑屏障作为循环血液和神经系统之间的天然屏障,能有效阻止病原体、外周免疫因子等大分子进入中枢神经系统,但这也限制了药物进入脑组织,给神经精神疾病的药物治疗带来了巨大挑战。经过膜蛋白修饰的EV,可以与脑内靶细胞特异性结合,这为脑靶向递送药物提供了新的思路。例如,一种经修饰后能表达狂犬病毒糖蛋白(rabies virus glycoprotein, RVG)的EV,可以与烟碱乙酰胆碱受体特异性结合,从而具有脑靶向性^[27],这类EV可以特定地输送药物进入中枢神经系统,进而提高药物利用率,并减少外周神经系统的副作用,对精神科药物的精准给药具有重要意义。ZHANG等^[28]发现,重性抑郁障碍患者外周血中环状RNA DYM(circular RNA DYM, circDYM)的表达水平较健康对照显著降低,进一步研究发现, circDYM通过吸附miR-9来抑制小胶质细胞的激活,从而改善抑郁症状。在这项研究基础上,进一步的研究构建了能够靶向中枢神经系统递送的RVG-circDYM-EV。动物实验表明,尾静脉注射后,该RVG-circDYM-EV主要在大脑富集,并能显著改善慢性不可预见应激诱导小鼠的抑郁样行为^[29]。对比口服或静脉注射给药,静脉注射搭载药物的EV更容易靶向大脑,从而减少药物的使用剂量,减轻药物对其他脏器的损害,减少不良反应的发生。

综上所述,开发特异性EV作为治疗BD的手段或给药方式,对中毒风险较高和不良反应频发的BD传统药物具有重要意义,值得进一步探索。

表1 EV在BD中的临床研究

作者(发表年份)	测定的EV内容物	EV来源	研究对象	所涉及的机制
CEYLA等 ^[31] (2020年)	microRNAs	血浆	69例BD患者;41名健康对照	PI3K/Akt信号通路异常;脂肪酸代谢障碍;细胞外基质黏附途径异常
MANSUR等 ^[4] (2020年)	肿瘤坏死因子受体;NF-κB信号通路相关蛋白	血浆	27例英夫利西单抗治疗的BD患者;28例安慰剂治疗的BD患者	TNF-α信号通路异常;NF-κB信号通路异常
MANSUR等 ^[19] (2021年)	胰岛素信号通路相关蛋白	血浆	27例英夫利西单抗治疗的BD患者;28例安慰剂治疗的BD患者	神经元胰岛素信号通路异常
FRIES等 ^[5] (2019年)	microRNAs	血浆	20例BD患者;21名健康对照	神经元轴突导向异常;血清素受体信号通路异常
CHOI等 ^[9] (2017年)	miR-149	前扣带回皮质	4例BD患者;6名健康对照	前扣带回皮质的神经胶质细胞数量减少
DU等 ^[14] (2022年)	代谢物	血清	32例BD患者;40名健康对照	糖代谢异常;脂质代谢异常;氧化应激障碍
BANIGAN等 ^[30] (2013年)	microRNAs	前额叶皮质	9例BD患者;13名健康对照	经典Wnt信号通路激活

注:EV,细胞外囊泡;BD,双相障碍;microRNAs,微小核糖核酸;PI3K/Akt,磷脂酰肌醇-3-激酶/丝氨酸-苏氨酸蛋白激酶;NF-κB,核因子-κB;TNF-α,肿瘤坏死因子-α

5 结论

最近的研究表明, EV可通过一些生物学途径参与BD的神经认知功能障碍、神经炎症和代谢异常等病理生理变化(表1)。外周循环中EV能直观地反映BD的动态病理生理变化,并与BD患者的临床症状密切相关,显示出其成为BD生物标志物的巨大潜力。此外,对比传统的药物和给药方式, EV具有稳定、免疫原性低、靶向脑组织等优点,自身有治疗作用的EV或作为药物递送系统的EV在BD治疗中具有良好应用前景。然而要将EV作为BD的生物标志物或治疗剂的临床转化仍需要更深入研究。目前有关EV,尤其是NDEV在BD中的研究,样本量较少,研究结果可能存在假阴性和假阳性。此外,由于EV提取方法和表达谱检测方法存在差异,使得各研究间的交叉分析比较变得困难。这提示将来还需纳入更多的BD患者,分析特异性更高的NDEV表达谱,以及使用标准化的EV提取和检测方案,这对于EV的研究至关重要。

参 考 文 献

- [1] HUANG Y, WANG Y, WANG H, et al. Prevalence of mental disorders in China: a cross-sectional epidemiological study[J]. *Lancet Psychiatry*, 2019, 6(3): 211-224.
- [2] YATES A G, PINK R C, ERDBRÜGGER U, et al. In sickness and in health: The functional role of extracellular vesicles in physiology and pathology in vivo: Part I: Health and Normal Physiology: Part I: Health and Normal Physiology[J]. *J Extracell Vesicles*, 2022, 11(1): e12151.
- [3] CEYLAN D, TUFEKCI K U, KESKINOGLU P, et al. Circulating exosomal microRNAs in bipolar disorder[J]. *J Affect Disord*, 2020, 262: 99-107.
- [4] MANSUR R B, DELGADO-PERAZA F, SUBRAMANIAPILLAI M, et al. Extracellular Vesicle Biomarkers Reveal Inhibition of Neuroinflammation by Infliximab in Association with Antidepressant Response in Adults with Bipolar Depression[J]. *Cells*, 2020, 9(4): 895.
- [5] FRIES G R, LIMA C N C, VALVASSORI S S, et al. Preliminary investigation of peripheral extracellular vesicles' microRNAs in bipolar disorder[J]. *J Affect Disord*, 2019, 255: 10-14.
- [6] SAEEDI S, ISRAEL S, NAGY C, et al. The emerging role of exosomes in mental disorders[J]. *Transl Psychiatry*, 2019, 9(1): 122.
- [7] SOLÉ B, JIMÉNEZ E, TORRENT C, et al. Cognitive Impairment in Bipolar Disorder: Treatment and Prevention Strategies[J]. *Int J Neuropsychopharmacol*, 2017, 20(8): 670-680.
- [8] KARANTONIS J A, CARRUTHERS S P, BURDICK K E, et al. Brain Morphological Characteristics of Cognitive Subgroups of Schizophrenia-Spectrum Disorders and Bipolar Disorder: A Systematic Review with Narrative Synthesis[J]. *Neuropsychol Rev*, 2023, 33(1): 192-220.
- [9] CHOI J L, KAO P F, ITRIAGO E, et al. miR-149 and miR-29c as candidates for bipolar disorder biomarkers[J]. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*, 2017, 174(3): 315-323.
- [10] KUROSIŃSKI P, GÖTZ J. Glial cells under physiologic and pathologic conditions[J]. *Arch Neurol*, 2002, 59(10): 1524-1528.
- [11] RAO J S, HARRY G J, RAPOPORT S I, et al. Increased excitotoxicity and neuroinflammatory markers in postmortem frontal cortex from bipolar disorder patients[J]. *Mol Psychiatry*, 2010, 15(4): 384-392.
- [12] RUAN J, MIAO X, SCHLÜTER D, et al. Extracellular vesicles in neuroinflammation: Pathogenesis, diagnosis, and therapy[J]. *Mol Ther*, 2021, 29(6): 1946-1957.
- [13] CALKIN C V. Insulin resistance takes center stage: a new paradigm in the progression of bipolar disorder[J]. *Ann Med*, 2019, 51(5-6): 281-293.
- [14] DU Y, DONG J H, CHEN L, et al. Metabolomic Identification of Serum Exosome-Derived Biomarkers for Bipolar Disorder[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2022, 2022: 5717445.
- [15] MOLINARO A, BECATTINI B, MAZZOLI A, et al. Insulin-Driven PI3K-AKT Signaling in the Hepatocyte Is Mediated by Redundant PI3K α and PI3K β Activities and Is Promoted by RAS [J]. *Cell Metab*, 2019, 29(6): 1400-1409.
- [16] SCAINI G, REZIN G T, CARVALHO A F, et al. Mitochondrial dysfunction in bipolar disorder: Evidence, pathophysiology and translational implications[J]. *Neurosci Biobehav Rev*, 2016, 68: 694-713.
- [17] CALKIN C V, RUZICKOVA M, UHER R, et al. Insulin resistance and outcome in bipolar disorder[J]. *Br J Psychiatry*, 2015, 206(1): 52-57.
- [18] CAMPBELL I H, CAMPBELL H, SMITH D J. Insulin signaling as a therapeutic mechanism of lithium in bipolar disorder[J]. *Transl Psychiatry*, 2022, 12(1): 350.
- [19] MANSUR R B, DELGADO-PERAZA F, SUBRAMANIAPILLAI M, et al. Exploring brain insulin resistance in adults with bipolar depression using extracellular vesicles of neuronal origin[J]. *J Psychiatr Res*, 2021, 133: 82-92.
- [20] LI Y, MENG S, DI W, et al. Amyloid- β protein and MicroRNA-384 in NCAM-Labeled exosomes from peripheral blood are po-

- tential diagnostic markers for Alzheimer's disease[J]. *CNS Neurosci Ther*, 2022, 28(7): 1093-1107.
- [21] SUIRE C N, EITAN E, SHAFFER N C, et al. Walking speed decline in older adults is associated with elevated pro-BDNF in plasma extracellular vesicles[J]. *Exp Gerontol*, 2017, 98: 209-216.
- [22] GOETZL E J, SRIHARI V H, GULOXSUZ S, et al. Neural cell-derived plasma exosome protein abnormalities implicate mitochondrial impairment in first episodes of psychosis[J]. *FASEB J*, 2021, 35(2): e21339.
- [23] KHADIMALLAH I, JENNI R, CABUNGAL J H, et al. Mitochondrial, exosomal miR137-COX6A2 and gamma synchrony as biomarkers of parvalbumin interneurons, psychopathology, and neurocognition in schizophrenia[J]. *Mol Psychiatry*, 2022, 27(2): 1192-1204.
- [24] CHENG L, HILL A F. Therapeutically harnessing extracellular vesicles[J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2022, 21(5): 379-399.
- [25] GUO H, HUANG B, WANG Y, et al. Bone marrow mesenchymal stem cells-derived exosomes improve injury of hippocampal neurons in rats with depression by upregulating microRNA-26a expression[J]. *Int Immunopharmacol*, 2020, 82: 106285.
- [26] YIN T, LIU Y, JI W, et al. Engineered mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles: A state-of-the-art multifunctional weapon against Alzheimer's disease[J]. *Theranostics*, 2023, 13(4): 1264-1285.
- [27] ALVAREZ-ERVITI L, SEOW Y, YIN H, et al. Delivery of siRNA to the mouse brain by systemic injection of targeted exosomes[J]. *Nat Biotechnol*, 2011, 29(4): 341-345.
- [28] ZHANG Y, DU L, BAI Y, et al. CircDYM ameliorates depressive-like behavior by targeting miR-9 to regulate microglial activation via HSP90 ubiquitination[J]. *Mol Psychiatry*, 2020, 25(6): 1175-1190.
- [29] YU X, BAI Y, HAN B, et al. Extracellular vesicle-mediated delivery of circDYM alleviates CUS-induced depressive-like behaviours[J]. *J Extracell Vesicles*, 2022, 11(1): e12185.
- [30] BANIGAN M G, KAO P F, KOZUBEK J A, et al. Differential expression of exosomal microRNAs in prefrontal cortices of schizophrenia and bipolar disorder patients[J]. *PLoS One*, 2013, 8(1): e48814.

(收稿日期:2023-08-09)

(责任编辑:肖雅妮)

本刊目前有两种收款方式:通过邮局汇款,在“中国神经精神疾病杂志”微信公众号中微信支付。本刊未开通网上银行,不设有对私银行账号,请注意防骗,切勿汇款给个人。

汇款地址:

邮编:510080

地址:广州中山二路58号

收款人:中山大学附属第一医院期刊中心

附言请注明:神经杂志,稿件编号,发票抬头及纳税人识别号

微信支付:

关注“中国神经精神疾病杂志”(或搜索 nervousmental)微信公众号

在菜单栏中选择“稿件处理”→“交审稿费”或“交版面费”,即可获得“中国神经疾病杂志”收款码
支付时请在备注框中留下稿件编号