

植物外泌体在炎症反应中的作用研究进展

宗宪春* 马朝学¹

牡丹江师范学院生命科学与技术学院 黑龙江 牡丹江 157000

【摘要】：炎症是机体的一种防御机制，是所有人类都要面临的疾病，因此开发副作用小且高效的抗炎药物非常重要。在疾病应用方面，植物外泌体的研究已经取得了显著进展，植物外泌体成分和功能已得到很好验证。结果显示植物外泌体是30~150 nm的天然纳米囊泡，携带蛋白质、脂质、核酸和其他活性物质，对炎症、癌症等疾病有治疗效果。在炎症反应中，植物外泌体既可以直接作为药物减轻炎症反应，又可以作为抗炎药物递送载体。本文综述了炎症反应发生机制、植物外泌体作为药物载体优势，同时分析了其在炎症反应中的应用。

【关键词】：植物外泌体；炎症；载体；抗炎药物

DOI:10.12417/3041-0630.26.07.029

1 前言

炎症是一种基本的病理过程，是机体对各种有害刺激产生的一种保护性免疫反应，代表清除病原体和维持组织稳态的一种防御机制，一般表现为红、肿、热、痛、白细胞增多和组织功能障碍，会引起全身不适，如发烧、恶心、食欲不振、疲倦、睡眠不全、易怒、情绪低落、注意力不集中、健忘、社交退缩等^[1]。每年都有无数炎症性疾病患者，但是许多合成抗炎药物有较强的毒副作用，因此，将目光放在从天然药物中开发有效的抗炎药物非常重要。

植物外泌体纳米囊泡（PELNs）是由多泡体与质膜融合后释放到细胞外的一种天然膜性小囊泡，从发生机制上看可以将其分为三种类型：①外泌体：直径为30~150 nm，来自细胞的胞内体；②微囊泡：直径100~1 000 nm，由质膜向外释放（出芽）产生；③凋亡小体：直径1 000~5 000 nm，由凋亡细胞释放^[2]。它们常被称为“纳米囊泡”“微囊泡”“外泌体”或“外泌体样囊泡”^[3]。

PELNs的大小、形态与纳米载体相匹配，因其高载药效率、良好生物相容性和无毒性等优势更适合作为药物载体，将药物定向输送到需要的部位。不同来源PELNs活性物质可能有所差异，导致在不同生理活动中表现不同的效果。如生姜外泌体纳米囊泡中发现的6-姜辣素不仅有良好抗炎效果，在抗肿瘤方面也有巨大潜力。芦荟外泌体样纳米囊泡能促进组织再生，对伤口愈合具有促进作用。此外，PELNs与动物外泌体有相似的结构和成分，且可以跨物种进行信息交流，实现植物—植物、植物—动物和植物—微生物基因跨界调控，参与免疫、抗炎、抗癌、组织修复和维持肠道菌群等过程。针叶樱桃外泌体样纳米囊泡（AELNs）通过包裹特定类型的核酸实现口服给药使核

酸的功能在消化道中得到充分发挥；人参外泌体样纳米囊泡可以使肿瘤相关细胞巨噬细胞极化从而抑制黑色素瘤生长；葡萄柚外泌体样纳米囊泡作为载体递送miR-18a，可以规避miRNA靶向递送的局限性，通过诱导M1巨噬细胞治疗结肠癌的肝转移。本文综述了炎症的发生机制，PELNs的特点、作为药物载体优势以及在炎症中的作用，为抗炎药物的研发提供依据。

2 炎症

2.1 炎症的分类

炎症有很多分类方式。根据炎症作用时间分为急性炎症和慢性炎症。急性炎症持续时间相对较短，以发红、肿胀、疼痛等为主要症状，并出现局部血管扩张、血流缓慢、血浆及中性粒细胞等血液成分渗出到组织内等现象。慢性炎症由于循环促炎细胞因子持续升高导致持续时间较长。根据炎症因子的不同，炎症有菌性和非菌性炎症。菌性炎症一般是由生物性的致炎因子侵袭、感染机体所导致。这些生物性的致炎因子包括细菌、病毒、真菌、支原体等。非菌性炎症一般是由物理性因子、化学性致炎因子、外来异物、异常免疫反应等所导致的，包括高温、低温、放射性物质、机械损伤、强酸、强碱、缺氧、过敏性鼻炎、荨麻疹等干扰因素。非菌性炎症比较明显的特征是发生炎症反应的器官组织部位没有病原微生物感染症状。炎症根据发病部位不同可分为心血管系统、大脑、呼吸道、胃肠道、皮肤、口腔等炎症性疾病。

2.2 炎症发生机制

典型的炎症反应由四个部分组成：炎症诱导物、炎症识别受体、炎症介质以及受炎症介质影响的靶组织。炎症发生机制大致包括四个阶段，首先，诱导物诱导炎症反应；其次，识别

通讯作者：宗宪春；地址：牡丹江师范学院生命科学与技术学院

受体识别诱导物；第三，产生炎症介质；最后，炎症介质作用于各种组织、器官。

炎症的根本原因归结于诱导物所触发的生理反应。诱导物可以是外源性的，如感染、创伤和化学物质的暴露等，也可以是内源性的，如代谢产物、DNA 损伤自身抗原和异种蛋白等。这些内在因素可能刺激免疫系统，引发炎症反应，这涉及到促炎细胞因子的产生和免疫细胞的活化，最终造成组织及器官的炎症性损害。外源性因素是指外界环境中的一系列因素，包括感染、微生物组失调、饮食、社会和文化变化以及环境和工业毒物等，可以通过不同途径诱导炎症。炎症识别受体是一类响应诱导物的重要受体，一般分布于细胞内或细胞表面。它们包括“Toll 样受体(Toll-like receptors,TLRs)、RIG-I 样受体(RIG-I like receptors,RLRs)、NOD 样受体(NOD-like receptors,NLRs)和 C 型凝集素样受体(C-type lectin receptors,CLRs)”，受体通过与不同病原体结合，激发一系列信号通路，随后引发机体炎症反应并释放炎症介质。炎症介质是参与和介导炎症反应的化学因子，能放大炎症反应，并使更多细胞参与反应过程，包括促炎细胞因子如肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor,TNF)、白细胞介素(interleukin,IL)-1 β 、IL-6 等，以及趋化因子、补体蛋白和凝血因子等。受炎症介质影响的靶细胞是炎症反应的最终目标，通过与目标组织或细胞表面的受体结合，改变其功能状态。

炎症是人体天然的防御机制，它帮助抵抗感染、修复损伤。但如果炎症长期存在无法消除，则有可能引发癌症、类风湿性关节炎、心脏病、2 型糖尿病、阿尔茨海默病等疾病。所以开发有效的天然抗炎药物和高效的炎症药物载体非常重要。

3 PELNs 特性

过去几十年，人们对动物外泌体进行了深入研究，并阐明其参与不同的生理机制，例如，脐带间充质干细胞外泌体(UMSCs)在 LncRNA H19 的调控下促进软骨细胞的增殖再生，对卵巢有调节功能。动物外泌体在疾病诊断方面提供了新思路。通过文献资料知道，动物外泌体可以被不同类型的细胞分泌并释放，可以反映源细胞的组织和状态，因其广泛存在于包括“血液、尿液、唾液、羊水等在内的多种体液中”，所以可以运用免疫捕获技术和流式细胞技术检测出来。动物外泌体还可以从不同疾病条件下检测出来，例如炎症性疾病、癌症、神经性疾病等。此外，动物外泌体能作为载体递送生物活性分子。例如，脑脊液 CSF) 中的外泌体用于运输营养物质和生长因子，MSC 外泌体在多种恶性肿瘤中递送多种治疗性化合物，如 miRNA 促进和抑制肿瘤的生长。近年来，PELNs 的研究逐渐增多，发现在大小和形态上具有相似之处，但在分泌机制及功能上有显著差异，因此 PELNs 在生物体中具有一些特性。

3.1 稳定性

植物源纳米囊泡具有良好的结构稳定性和储存稳定性。将拟咪菁绿(ICG)加载到从芦荟中提取的纳米囊泡中，通过控制纳米囊泡的产量和质量，实现了稳定性和防漏性的要求；蓝莓外泌体样纳米囊泡(B-EV)在四种不同温度(-80 $^{\circ}$ C、-20 $^{\circ}$ C、4 $^{\circ}$ C 和 25 $^{\circ}$ C)下分别储存 7 天和 30 天，结果表明，在-80 $^{\circ}$ C 和 -20 $^{\circ}$ C 下储存 7 天的 B-EVs 尺寸更大(分别增加了 34%和 49%)，并且在冷冻 7 天后产生了一些直径高达 300nm 的较大纳米囊泡聚集体，而 4 $^{\circ}$ C 和 25 $^{\circ}$ C 条件下储存的 B-EV 被溶解，说明 PELNs 在 -80 $^{\circ}$ C 长期储存稳定性较好。PELNs 还具有耐酸性，在胃肠道溶液中保持稳定性，这是实现口服的前提^[3]。胃液具有低 pH，还存在消化酶，模拟 B-EV 在体外消化条件下的稳定性，在胃(GS)溶液中孵育的 B-EV 的平均尺寸从 85.5nm 扩大到 100.8nm，透射电镜结果还显示，大多数 B-EVs 的大小和形状得以保留。此外，脂质含量、水通道蛋白和 RNA 含量也会影响其稳定性。

3.2 无毒性且有良好的生物相容性

PELNs 因可以逃脱免疫系统的分解而具有良好的生物相容性，是实现细胞通讯，进行跨物种信息交流的前提。芦荟外泌体样纳米囊泡在人类皮肤细胞上表现出良好的细胞相容性，通过激活 Nrf 2 信号通路促进伤口愈合^[3]；来自桑树皮的外泌体样纳米颗粒通过 AhR/COPS8 途径预防 DSS 诱导的结肠炎；PELNs 是天然的纳米颗粒，因来源于细胞，毒性低。例如，卷心菜外泌体样纳米囊泡可以促进细胞增殖而不引起细胞毒性；草莓衍生的外泌体样纳米颗粒被人间充质细胞内化，不会对细胞产生任何显著毒性，且浓度增加间充质干细胞活力也逐渐增强。芹菜外泌体样纳米囊泡表现出更高的细胞摄取效率，在小鼠模型中验证了芹菜外泌体样纳米囊泡作为生物治疗作用的无毒性 and 更好的耐受性。

3.3 具有特异性靶向能力

PELNs 能装载自生生物活性物质，如蛋白质、脂质和 miRNA 并将其释放到细胞质中发挥作用。例如植物来源的外泌体样纳米颗粒(ELN)含有靶向鼠李糖乳杆菌(LGG)中各种基因的 microRNA，这些 microRNA 可以诱导 IL-22 的产生，改善小鼠结肠炎。

3.4 低成本大批量生产能力

我国植物资源丰富，可以从植物中提取大量 PELNs，且通过合适培养基培养植物，可以提高 PELNs 大批量生产的效率和产量。

3.5 内含物差异性

不同植物来源的外泌体样纳米囊泡内含物有所差异。从蓝

莓中提取外泌体中含有大量花青素。生姜外泌体中检测到6-姜辣素。

4 植物外泌体在炎性疾病中的应用

PELNs 由于特殊的结构和生物学功能,除了可以作为载体将各种药物运输到相应的患病部位外,还可以作为天然抗炎药物对疾病进行干预。

4.1 植物外泌体作为药物载体优势

目前,常见的纳米颗粒载体有病毒载体,如腺相关病毒(AAV),脂质体,树枝状聚合物等,已被展示为靶向药物递送的多功能工具。病毒载体是常用的基因递送载体之一,是通过改造病毒来递送基因。AAV载体能通过血脑屏障,具有更好的安全性和分子克隆速度且宿主范围广泛,长时程基因表达,治疗效果长久,但同时存在容量小,感染到表达时间长等缺点。脂质体是由脂质双分子层形成的一种超微球形载体制剂,它能够装载亲脂性和亲水性的药物以及通过在其表面添加靶向配体发挥靶向作用,是目前发展比较成熟的药物载体,但具有一定的局限性,如合成脂质体的毒性、靶向配体的生物相容性低等。树枝状聚合物是高度支化、球状、级联聚合物分子,能够将药物分子结合到表面,其表面具有多种官能团,可增加其功能并使其具有多功能性和生物相容性。最理想的药物载体是能将药物递送到相应部位,然后药物载体在正常的生理环境下被降解代谢,不发生蓄积。但是大多数树枝状聚合物是不能降解的,可能会产生在体内累积的风险。

外泌体是在细胞外产生的天然纳米颗粒,外部是疏水的脂质双分子层,内部是空腔,独特的囊状结构使其能将药物包裹在内部,免受肠道的消化作用,作为良好的递送载体。PELNs能跨物种进行细胞间通讯,有良好的生物相容性和安全性;而且能被肠道吸收,解决了在体内积聚的风险;其良好的靶向性和稳定性保证药物浓度,增强药物作用。PELNs对肠道性疾病有更好的靶向性,如葡萄柚衍生的纳米囊泡(GDN)对肠道具有更好的靶向作用,将抗炎药甲氨蝶呤(MTX)掺入GDN并将MTX-GDN递送至小鼠可显著降低MTX毒性,并显著增加其对鼠结肠炎的治疗效果。此外,PELNs分子量小,能穿过血脑屏障,为治疗神经炎性疾病带来新的治疗方案。综上所述:将药物精准高效地递送至病灶细胞并发挥药效,是最重要的一环,但人工合成的纳米颗粒面临生物相容性低、稳定性差、运载效率低及毒性大等问题,从植物中提取的外泌体生物相容性高,能被肠道选择性吸收,靶向能力强,无毒性,稳定性好等优势,是核酸、小分子药物高效递送载体。

4.2 植物外泌体作为载体递送药物

PELNs递送药物,可降低药物毒性,增强药物利用率。甲氨蝶呤(MTX)装载入葡萄柚衍生的纳米囊泡中,通过口服证

明了无毒性,并降低肠道巨噬细胞产生的促炎细胞因子,如TNF- α 、IL-1 β 和IL-6的水平保护肠道组织免受损伤和炎症细胞侵袭,从而减轻炎症反应。芝麻叶PELNs样纳米囊泡作为递送木犀草素载体,使其水溶性和稳定性得到显著提高,在减轻氧化应激和炎症反应方面增强了生物可及性和有效性。在LPS诱导的炎症模型中,红柑橘中提取的纳米囊泡装载橘皮素,可使IL-6和TNF α 基因表达水平显著降低,为治疗LPS诱导的炎症提供了更有效的方法。PELNs作为核酸类药物载体,可递送miRNA。西兰花衍生的纳米囊泡作为细胞外miRNA药物递送的治疗载体,能将miRNA递送至肠道细胞且被吸收,导致caco-2细胞的毒性。

4.3 作为治疗药物在炎症中的应用

炎症是机体抵抗外界刺激产生的一种防御机制。大量研究表明,PELNs活性成分在抗炎方面发挥一定作用。蓝莓衍生的纳米囊泡中的花青素调节免疫系统,抑制炎症介质的释放,减轻炎症反应,促进细胞修复和再生。芦荟作为一种成熟的草药具有抗氧化、抗炎、抗菌等,芦荟外泌体样纳米囊泡氧化减少促炎细胞因子分泌、抑制成纤维细胞分化以及降低其收缩能力方面的潜力,从而作为一种针对烧伤创面瘢痕形成的新治疗方法。从红柑橘中提取的纳米囊泡能有效降低脂多糖(LPS)诱导的细胞中促炎因子(IL-6、IL-1 β 和TNF α)基因表达水平,表明柑橘纳米囊泡对炎症的潜在治疗作用。口服食用生姜纳米囊泡能有效靶向结肠,减少促炎细胞因子,增加抗炎细胞因子,增强了肠道修复,并预防了慢性结肠炎和结肠炎相关癌症(CAC)。口服马齿苋衍生的纳米囊泡可缓解硫酸葡聚糖钠(DSS)诱导的小鼠急性结肠炎。

5 结论

炎症是一种基本的病理过程,是对外界感染的防御反应。近几年,炎性疾病患者逐渐增多,因此,开发天然新型抗炎药物和寻找高效药物载体刻不容缓。植物源纳米囊泡具有蛋白质,脂质,核酸和其他生物活性物质,可作为治疗药物在炎性疾病中发挥作用。

与其他纳米颗粒载体相比较,其稳定性,无毒性,低免疫原性,靶向性,载药效率高和能大批量生产等特点可作为药物载体将药物装载在囊泡中运输到相应的患病部位发挥作用,其作为药物载体相比其他纳米载体具有一些独特的优势,如其来源于植物,具有很好的生物相容性和生物可降解性,减少了在人体内引起不良反应的风险;可以利用其表面的特定蛋白和脂质与目标细胞或组织特异性结合,实现靶向药物递送;脂质双层结构可以保护包裹的药物分子免受降解,提高药物的稳定性和半衰期;有潜力穿越生物屏障,如血脑屏障,将药物递送到通常难以到达的区域。同时也面临一些挑战,如提取和纯化过程可能复杂且成本较高,需要优化的提取方法来提高产率和纯

度；目前缺乏标准化的生产流程，这可能影响其作为药物载体的一致性和可重复性；药物载荷能力和释放动力学可能需要进一步优化，以确保药物的有效载荷和在特定位置的可控释放。

PELNs 作为抗炎药物载体的临床应用需要通过严格的临

床试验和监管审批，这是一个长期且复杂的过程，尽管存在挑战，但在药物递送领域的潜力是显著的，并且随着研究的深入，这些挑战有望被克服。未来的研究可能会集中在改进提取和纯化方法、优化药物载荷和释放特性，以及评估其在临床应用中的安全性和有效性。

参考文献：

- [1] Bennett J M,Reeves G,Billman G E,et al.Inflammation–nature's way to efficiently respond to all types of challenges:implications for understanding and managing“the epidemic”of chronic diseases[J].Frontiers in medicine,2018,5:316.
- [2] Quesenberry P J,Goldberg L R,Aliotta J M,et al.Cellular phenotype and extracellular vesicles:basic and clinical considerations[J].Stem cells and development,2014,23(13):1429-1436.
- [3] 陈春苹,徐红艳,刘帅辰,等.植物类外泌体样纳米颗粒特性、成分与功能研究进展[J].食品与机械,2024,40(01):226-233.