DOI:10.16016/j.2097-0927.202403095

# 热刺激后小胶质细胞细胞外囊泡对神经元的损伤作用

李 萍,罗 雪,罗 珍,何根林,王泽泽,申婷婷,刘晓倩,谭雨龙,杨学森 400038 重庆,陆军军医大学(第三军医大学)军事预防医学系热带医学教研室

[摘要] **目的** 探究热刺激后小胶质细胞细胞外囊泡对神经元损伤的影响。**方法** 热刺激 BV2 小胶质细胞后收集上清,通过不同的超速离心速度获取细胞外大囊泡和小囊泡。利用纳米粒度分析仪检测粒径,利用 Western blot 检测囊泡上 TSG101、CD63 和 flotillin-1 的表达。PKH67 标记 BV2 来源的囊泡后与 N2a 细胞共孵育,检测神经元对小胶质细胞细胞外囊泡的摄取情况。分别将热刺激后 BV2 来源的大囊泡和小囊泡与 N2a 共孵育,通过 CCK-8、细胞外乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase, LDH)、台盼蓝染色和 TUNEL 染色法评价热刺激后 N2a 的损伤情况。**结果** 小囊泡粒径介于 30~120 nm,高表达 TSG101 和 CD63,大囊泡粒径介于 90~1 000 nm,高表达 flotillin-1; BV2 来源的细胞外囊泡可被 N2a 细胞摄取并参与热刺激对 N2a 细胞损伤的调节,其中 CCK-8 检测结果表明小胶质细胞来源的大小囊泡均能降低热刺激后 N2a 细胞的活力($P<0.05$)。LDH 检测、台盼蓝染色及 TUNEL 检测结果表明大囊泡($P<0.05$)和小囊泡($P<0.01$)均能显著提高热刺激后 N2a 细胞 LDH 的释放水平、N2a 细胞的蓝染水平及凋亡程度,且小囊泡处理组中 N2a 细胞的 LDH 释放水平、蓝染和凋亡水平高于大囊泡处理组。**结论** 热刺激后小胶质细胞通过细胞外囊泡加剧了神经元的损伤。

[关键词] 小胶质细胞;细胞外囊泡;热刺激;神经元损伤
[中图法分类号] R338.1; R339.52; R363.21 [文献标志码] A

# Effect of microglial derived extracellular vesicles on neuronal damage after heat stress

LI Ping, LUO Xue, LUO Zhen, HE Genlin, WANG Zeze, SHEN Tingting, LIU Xiaoqian, TAN Yulong, YANG Xuesen Department of Tropical Medicine, Faculty of Military Preventive Medicine, Army Medical University (Third Military Medical University), Chongqing, 400038, China

[**Abstract**] Objective To investigate the effect of microglial derived extracellular vesicles on neuronal damage in the context of heat stress. Methods After BV2 microglial cells were exposed to heat stress, the supernatant was collected and subjected to ultracentrifugation at different speeds to obtain large and small vesicles, respectively. Nano Particle Tracking and Zeta Potential Distribution Analyzer was used to measure and analyze the size distribution of the large vesicles and small vesicles. Western blotting was used to detect the expression of specific vesicle surface markers, TSG101, CD63 and flotillin-1. Microglial extracellular vesicles were labeled with PKH67 dye and then co-cultured with N2a cells to examine the uptake by capacity the neurons. After large and small vesicles derived from microglia after heat stress stimulation were co-cultured with N2a cells, respectively, CCK-8 assay, lactate dehydrogenase (LDH) assay, Trypan blue staining and TUNEL assay were employed to evaluate heat stress induced neuronal damage. Results The small vesicles were in a particle size of 30~120 nm, and highly expressed TSG101 and CD63, whereas the large vesicles, in a size of 90~1 000 nm, highly expressed flotillin-1. The BV2-derived extracellular vesicles

[基金项目] 重庆市自然科学基金面上项目(cstc2020jcyj-msxmX1020)
[通信作者] 杨学森,E-mail: xuesenyyy@hotmail.com

2097-0927/Copyright © 2024, 陆军军医大学(第三军医大学)。这篇开放获取文章遵循 CC BY 许可协议(https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

could be taken up by N2a cells and were proved to be involved in the modulation of N2a cell injury caused by heat stress. CCK-8 assay showed that both large and small vesicles of microglial cells inhibited the viability of N2a cells after heat exposure ($P<0.05$). The results of LDH assay, Trypan blue staining and TUNEL assay showed that both large ($P<0.05$) and small vesicles ($P<0.01$) significantly enhanced the LDH release, blue stain intensity and apoptosis of N2a cells after heat exposure, and the release, intensity and apoptosis were stronger in the cells treated with small vesicles than those group of large vesicles. **Conclusion** Microglia aggravate heat stress-induced neuronal damage through releasing extracellular vesicles.

[**Key words**] microglia; extracellular vesicles; heat stress; neuronal damage

Supported by the General Project of Natural Science Foundation of Chongqing (cstc2020jcyj-msxmX1020). Corresponding author: YANG Xuesen, E-mail: xuesenyyy@hotmail.com

热射病(heatstroke, HS)是死亡率最高的临床中暑类型。患者由于长时间处于高温高湿的环境中,导致体内蓄积的过多热量不能及时发散引起核心体温超过40 ℃,出现以水、电解质代谢紊乱及神经系统功能损害为主要特征的临床表现[1]。脑是热射病的主要受累器官,高热可致脑组织发生急性组织病理学改变,持续性的高热使脑的损害变为不可逆,部分幸存者会遗留永久性中枢神经系统损害后遗症,发生率可达20%~30%[2-3]。神经元死亡是造成热射病脑损伤的主要原因,而在神经元死亡的过程中,聚集和活化的小胶质细胞与神经元的交互对话起着重要作用。

细胞外囊泡(Extracellular vesicles, EVs)是新近发现的一种细胞间信息交流载体,它是一类从细胞膜上脱落或者由细胞分泌的直径从数十到数百纳米不等的双层膜结构囊泡状小体,主要由微囊泡和外泌体构成。细胞外囊泡可以通过与靶细胞融合的方式将蛋白、脂质或核酸等信号分子从供体细胞传递到受体细胞,从而对受体细胞的生理病理过程产生影响。miR-20b-5p[4]、miR-212-5p[5]等作用分子在细胞外囊泡介导的小胶质细胞调节神经元功能中发挥了重要作用,通过调节靶基因的表达级联放大下游信号通路,进而介导对神经元的损伤或修复过程。有研究发现炎症环境能够促进小胶质细胞释放更多的细胞外囊泡[6],而我们前期研究发现热刺激可直接活化小胶质细胞释放炎症因子在脑内形成炎症环境[7],但是关于热刺激条件下活化的小胶质细胞是否可以通过细胞外囊泡影响神经元死亡的问题尚不清楚。

本研究分离并获取了高热活化的BV2小胶质细胞的细胞外囊泡,将其与N2a细胞共孵育,研究小胶质细胞细胞外囊泡对热刺激后神经元的损伤情况,为中枢神经系统疾病特别是热射病脑损伤的靶向干预提供新策略。

## 1 材料与方法

### 1.1 细胞和主要试剂

小鼠小胶质细胞系BV2细胞购自ATCC细胞库;小鼠神经瘤母细胞系N2a细胞购自中华细胞库;TUNEL凋亡检测试剂盒购自上海碧云天公司;Flotillin-1、TSG101和CD63一抗均购自美国Bimake公司;外泌体PKH67绿色荧光染料试剂盒购自美国Signa Aldrich公司。乳酸脱氢酶(LDH)购自天津TaKaRa公司;细胞活力检测试剂盒(CCK8)购自日本同仁Dojindo公司;台盼蓝购自美国Sigma公司。

### 1.2 细胞培养及模型建立

BV2和N2a培养于含10%胎牛血清的DMEM完全培养液,在37 ℃、5%$CO_2$培养箱中培养24 h。BV2细胞更换无血清细胞培养基。将BV2和N2a细胞分为对照组和热刺激组。热刺激组细胞给予42 ℃热刺激2 h后取出置于37 ℃恢复6 h,建立热刺激细胞模型;对照组细胞于37 ℃培养相同的时间。

### 1.3 细胞外囊泡分离

收集BV2小胶质细胞上清;随后300×$g$、4 ℃离心10 min,收集上清;2 000×$g$,4 ℃离心20 min,收集上清;10 000×$g$,4 ℃离心30 min,收集上清用于提取小囊泡。收集沉淀,1×PBS清洗后10 000×$g$、4 ℃再离心30 min,收集沉淀即为大囊泡,PBS重悬后冻存备用。将用于提取小囊泡的上清先用0.22 μm的滤头过滤后置于100 000×$g$,4 ℃离心70 min,1×PBS清洗后再用100 000×$g$,4 ℃离心70 min,收集到的沉淀即为小囊泡,PBS重悬后冻存备用。

### 1.4 细胞外囊泡粒径检测

用PBS将大囊泡和小囊泡稀释至(3~5)×$10^7$颗粒/mL,采用Zetasizer NanoZSP纳米粒度分析仪检测并分析囊泡粒径和浓度。

### 1.5 Western blot检测

提取囊泡总蛋白,CBA法检测蛋白浓度。蛋白变

性后用 SDS-PAGE 凝胶分离目的蛋白,再将目的蛋白印迹到 PVDF 膜上,5%的脱脂奶粉封闭后使抗体结合,经过 ECL 发光试剂显色后在成像分析系统中观察拍照。Image Lab 3.0 软件分析条带灰度值。

1.6 细胞外囊泡干预细胞实验

囊泡处理组的 N2a 细胞培养液中加 50 μg/mL 的 BV2 细胞外囊泡。

1.7 细胞外囊泡摄取实验

将 PKH67 染料加入细胞外囊泡室温孵育 5 min,终止染色后清洗多余的染料加入 N2a 细胞培养液,对照组加没有染色的细胞外囊泡。24 h 后用激光共聚焦显微镜观察细胞外囊泡的摄取情况,计算细胞外囊泡摄取率即 PKH67 阳性细胞率。PKH67 阳性细胞率=PKH67 着色细胞数/总细胞数×100%。

1.8 细胞活力检测

将 N2a 细胞接种于 96 孔板上,37 ℃、5%$CO_2$ 培养箱培养 24 h。热刺激处理结束后避光向每孔加入 10 μL 的 CCK-8 溶液,置于培养箱孵育 1 h,用分光光度计检测样品在 450 nm 处的 OD 值。细胞活力=(样品组 OD 值-背景 OD 值)/(无处理组 OD 值-背景 OD 值)×100%。

1.9 乳酸脱氢酶(LDH)检测

收集细胞培养液,根据乳酸脱氢酶试剂盒说明书步骤分别检测培养液和细胞内乳酸脱氢酶活性。乳酸脱氢酶释放率=培养液中乳酸脱氢酶活性/(细胞内乳酸脱氢酶活性+培养液中乳酸脱氢酶活性)×100%。

1.10 台盼蓝染色

按照 9∶1的体积比混匀细胞悬液和 0.4%台盼蓝,3 min 内在显微镜下观察细胞着色情况并拍照。

1.11 TUNEL 检测

细胞经 4%的多聚甲醛固定,PBS 清洗后按照试剂盒说明书操作进行 TUNEL 荧光染色,DAPI 复染细胞核后封片,荧光显微镜拍照。

1.12 统计学分析

采用 GraphPad Prism 5.0 软件进行统计学分析。计量结果以 $\bar{x}\pm s$ 表示,2 组间比较用 Student-$t$ 检验,多组间比较用单因素方差分析。$P<0.05$ 为差异有统计学意义。

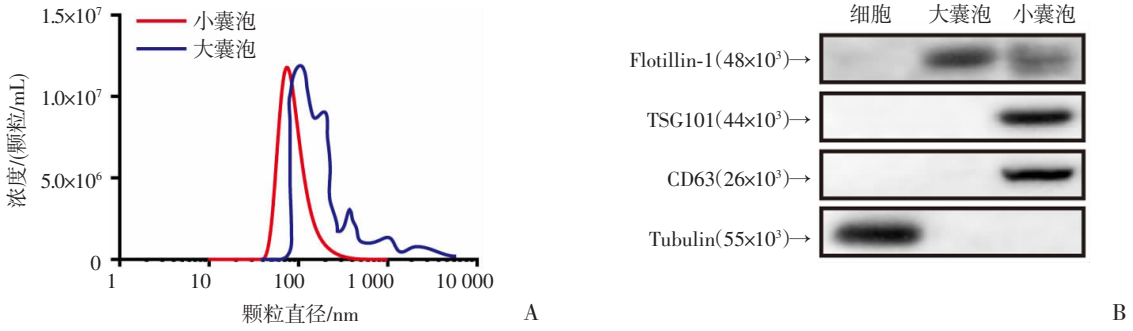
## 2 结果

2.1 小胶质细胞细胞外囊泡的鉴定

为研究热刺激后小胶质细胞来源的细胞外囊泡对神经元存活的影响,采用不同的超速离心方法从热刺激后的小胶质细胞培养上清中分离了大囊泡和小囊泡。随后用纳米粒子分析仪检测了小胶质细胞细胞外囊泡的大小。结果发现,小囊泡的粒径相对比较集中,位于 30~120 nm,峰值在 90 nm 左右。与小囊泡相比,大囊泡的粒径分布相对比较宽泛,从 90~1 000 nm 都有较多囊泡分布(图 1A)。通过 Western blot 检测细胞外囊泡标志蛋白 TSG101、CD63 和 flotillin-1 的表达,结果发现,小囊泡中高表达 TSG101 和 CD63,而 flotillin-1 在大囊泡中表达较高(图 1B)。这些结果表明从小胶质细胞分离出来的成分是细胞外囊泡。

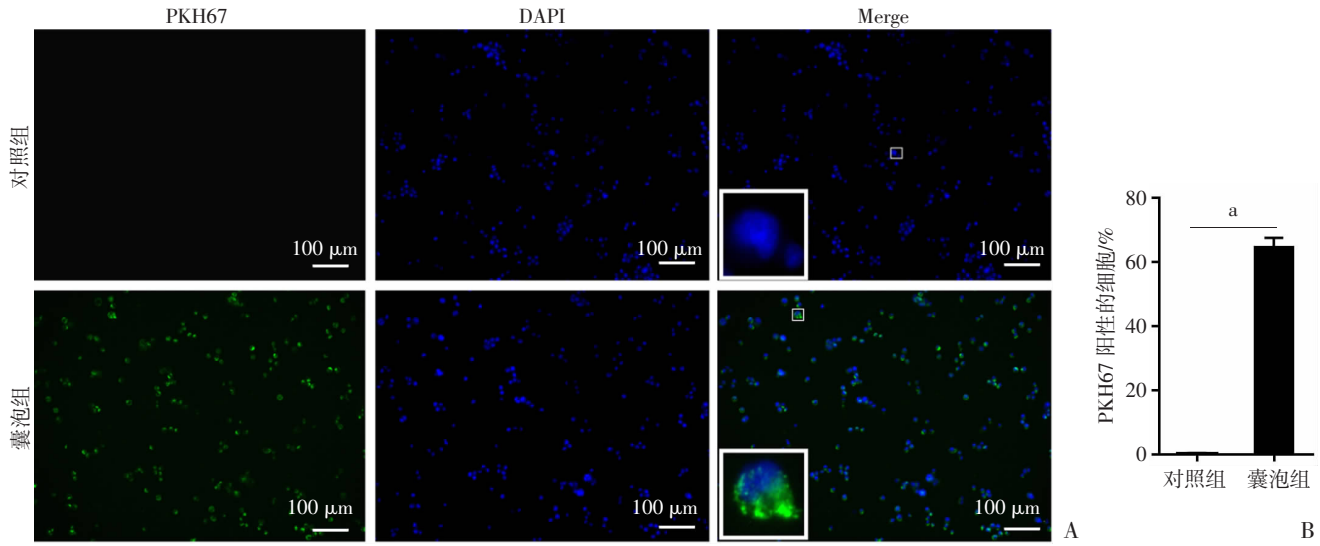
2.2 神经元对小胶质细胞细胞外囊泡的摄取情况

将 PKH67 标记的小胶质细胞细胞外囊泡与 N2a 细胞共孵育 24 h,以保证神经元对小胶质细胞细胞外囊泡有足够的摄取,清洗多余的细胞外囊泡后固定并经 DAPI 复染后于荧光显微镜下观察 N2a 细胞对小胶质细胞细胞外囊泡的摄取情况,发现受体 N2a 细胞内出现明显的 PKH67 绿色荧光(图 2),表明小胶质细胞细胞外囊泡被神经元内化。



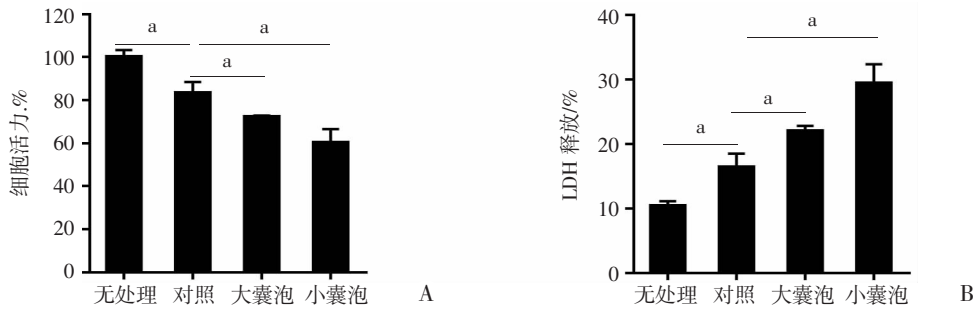

A:纳米粒度分析仪测量细胞外囊泡大小的分布;B:Western blot 检测细胞及细胞外囊泡中 Flotillin-1、TSG101 和 CD63 蛋白的表达

**图 1 小胶质细胞细胞外囊泡特征鉴定**




A：荧光显微镜下观察 N2a 细胞摄取细胞外囊泡;B:细胞外囊泡摄取率 a：$P<0.001$

**图 2 小胶质细胞细胞外囊泡在体外被神经元摄取**




A:神经元细胞活力检测;B:神经元中 LDH 的释放水平 a：$P<0.05$

**图 3 神经元细胞活力和 LDH 的释放水平**

### 2.3 小胶质细胞细胞外囊泡对热刺激后 N2a 细胞的损伤

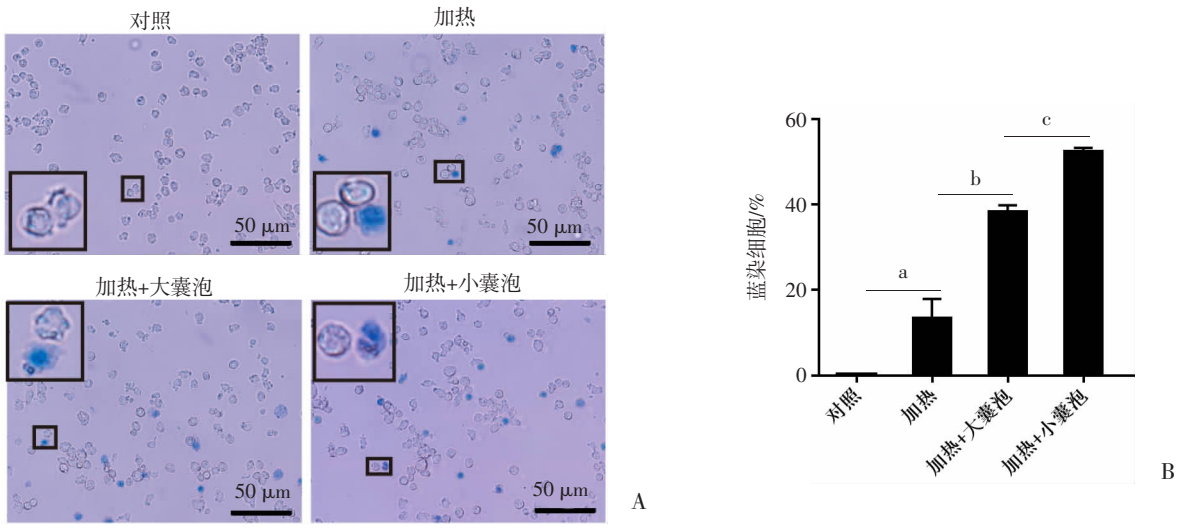
CCK-8 检测结果显示,与对照组相比,热刺激能够显著降低 N2a 细胞的活力($P<0.05$),加入热刺激后的小胶质细胞囊泡后,与单独热刺激相比,热刺激后的小胶质细胞大囊泡能够明显降低 N2a 细胞的细胞活力($P<0.05$),热刺激后小胶质细胞细胞外囊泡也能够显著降低 N2a 细胞的细胞活力($P<0.05$,图 3A)。LDH 的释放检测结果显示,与对照组相比,热刺激能够明显提高 N2a 细胞的 LDH 释放水平($P<0.05$),与热刺激后小胶质细胞囊泡共孵育后,与单独热刺激组相比,加入大囊泡能够明显提高 N2a 细胞 LDH 的释放($P<0.05$),小囊泡也能显著提高 N2a 细胞 LDH 的释放($P<0.01$,图 3B)。以上结果共同提示,热刺激后小胶质细胞细胞外囊泡能够明显增加热刺激后神经元的损伤水平。

### 2.4 小胶质细胞细胞外囊泡对 N2a 细胞存活的影响

对不同处理后的 N2a 细胞进行台盼蓝染色,结果发现,与对照组相比,热刺激能够明显增加 N2a 细胞的蓝染水平。与单独热刺组相比,热刺激后的小胶质细胞细胞外大囊泡和小囊泡均能够明显增加 N2a 细胞的蓝染水平,而且小囊泡处理组中 N2a 细胞的蓝染水平高于大囊泡处理组(图 4),结果表明,热刺激后小胶质细胞细胞外囊泡能够加剧热刺激后神经元的死亡水平,对神经元有损伤作用。

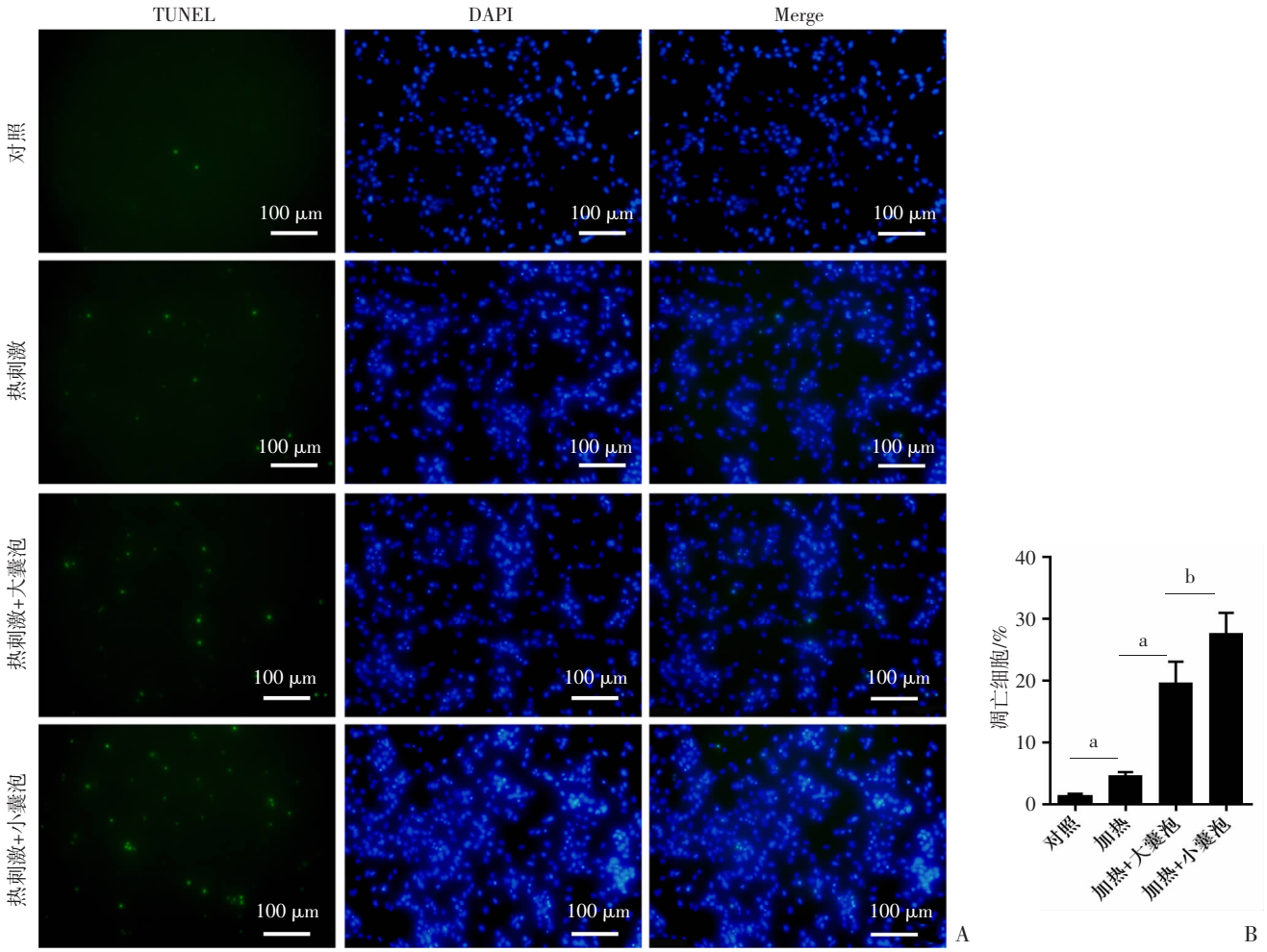
### 2.5 小胶质细胞细胞外囊泡对 N2a 细胞凋亡的影响

TUNEL 检测结果显示,与对照组相比,热刺激能够明显增加 N2a 细胞中的绿色荧光水平。与单独热刺组相比,热刺激后的小胶质细胞细胞外大囊泡和小囊泡均能够明显增加 N2a 细胞的绿色荧光水平,而且小囊泡处理组中 N2a 细胞中绿色荧光的水平高于大囊泡处理组(图 5),结果表明,热刺激后小胶质细胞细胞外囊泡能够增加热刺激后神经元的凋亡水平。




A:台盼蓝染色;B:细胞死亡率 a:$P<0.05$;b:$P<0.01$;c:$P<0.001$

**图 4 台盼蓝染色检测神经元死亡**




A:N2a 细胞凋亡水平;B:细胞凋亡率统计 a:$P<0.05$;b:$P<0.01$

**图 5 TUNEL 染色检测神经元凋亡**

## 3 讨论

造成热射病中神经元死亡的病理生理机制是复杂的。有研究者认为高温对神经元的直接物理损伤是导致神经元死亡的重要机制之一,高温刺激会引起细胞膜脂质过氧化,细胞表面酶活性和受体敏感性降低,过度的高热还会使热休克蛋白失去保护作用造成细胞内蛋白失去折叠能力,进而导致细胞毒性水肿,使神经元快速死亡[1,8]。还有研究者认为机体只有在超高温度极限时,热对脑组织的直接损害才能凸显其重要性,而在此之前由于脑灌注不足引起的脑组织缺血缺氧造成的继发性损害如代谢障碍,自由基生成等可能才是引起神经元死亡导致热射病脑损害的主要原因[9]。其中细胞间交互作用对神经元功能的影响在近些年受到广泛关注,但是从细胞外囊泡入手探究热射病中神经元死亡的原因却鲜有报道。本课题组前期在热射病在体和离体模型中均发现高度活化的小胶质细胞[7,10],而本研究发现高热刺激会导致神经元死亡,活化的小胶质细胞细胞外囊泡会加剧热刺激后神经元的死亡水平,表明高热刺激下细胞外囊泡是活化小胶质细胞调节神经元死亡的一种方式。

虽然有关细胞外囊泡的研究已经进行了很多年,但是如何分类的问题依然是业内一个尚未破解的难题。大部分的研究主要集中于两类细胞外囊泡,即大囊泡和小囊泡(也叫外泌体)。大囊泡是直接从质膜上脱落的大小从 100~1 000 nm 的细胞外囊泡,也叫微囊泡或外体,而小囊泡则是内体系统产生的腔内囊泡,在多泡体与质膜融合时被释放到细胞外基质,直径一般不超过 150 nm[11]。大小囊泡在粒径和来源上的不同也是目前业内普遍认可的区分二者的主要依据[12]。本研究通过不同的离心速度分离出了小胶质细胞的大囊泡和小囊泡,通过纳米粒子分析仪检测发现大囊泡的粒径分布主要位于 90~1 000 nm,小囊泡的粒径分布主要位于 30~120 nm,粒径大小与既往文献中报道的一致[13]。本研究还通过检测质膜标志蛋白 flotillin-1、参与多泡体发生的内体标志蛋白 TSG101 和囊泡标志蛋白 CD63 的表达,对分离到的小胶质细胞来源的大囊泡和小囊泡进行了进一步的区分。大小囊泡有很多共用的模式分子,虽然选择了常用的细胞外囊泡标志分子进行鉴定,但目前关于标志分子的选择仍没有固定的金标准[11,14]。更精确的生物标志分子仍有待于进一步的研究。

细胞外囊泡影响神经元存活的方式主要与其传递的功能性分子密切相关,例如胶质细胞分泌的细胞外囊泡能够将载脂蛋白 D 转运到神经元进而促进神经元的存活[15],氧糖剥夺条件下神经元分泌的细胞外囊泡可以通过传递差异表达的 miRNAs 抑制突触生长,进而促进神经元死亡[16],小胶质细胞分泌的细胞外囊泡也能通过传递 miR-466i-5p 加剧了炎症条件下神经元的凋亡过程[17]。在本研究中我们主要观察了热刺激条件下小胶质细胞细胞外囊泡对神经元死亡的影响,并未对其功能发挥的具体机制做进一步的研究,但 miRNAs 在其中发挥的作用不可忽视。miRNAs 是一类功能确切的分子,经细胞外囊泡传递被认为是 miRNAs 能够在循环中稳定存在的重要机制。已有研究指出 miR-146a,let-7a/b 等一些功能性的 miRNAs 分子可以通过细胞外囊泡参与病理状态下活化小胶质细胞对神经元死亡的影响[18-19]。本课题组前期研究也发现热刺激活化的小胶质细胞高表达 miRNA-155[10],有关参与活化小胶质细胞细胞外囊泡调节热刺激后神经元死亡的关键分子是 miRNA-155 还是其他分子,其具体作用机制是什么等相关问题的回答还需要进行进一步的实验探究。

本研究所获得的结果均为体外实验结果,缺乏体内实验数据。另外,本研究没有进一步对热刺激后的小胶质细胞细胞外囊泡内成分进行组学探究,进一步挖掘大囊泡和小囊泡分别处理后导致神经元死亡水平不同的真正原因。

综上所述,本研究通过高速离心法分离获得小胶质细胞的细胞外囊泡,初步证实了小胶质细胞细胞外囊泡可被神经元摄取并加剧了热刺激后神经元的死亡水平,本研究从细胞水平上揭示了热射病脑损伤的机制,为热射病脑损伤的防治提供了理论依据。

## 参考文献:

[1] BOUCHAMA A, ABUYASSIN B, LEHE C, *et al*. Classic and exertional heatstroke[J]. N Engl J Med, 2022, 8(1): 8. DOI: 10.1038/s41572-021-00334-6.

[2] SHIMADA T, MIYAMOTO N, SHIMADA Y, *et al*. Analysis of clinical symptoms and brain MRI of heat stroke: 2 case reports and a literature review[J]. J Stroke Cerebrovasc Dis, 2020, 29(2): 104511. DOI: 10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2019.104511.

[3] YANG M, LI Z, ZHAO Y, *et al*. Outcome and risk factors associated with extent of central nervous system injury due to exertional heat stroke[J]. Medicine, 2017, 96(44): e8417. DOI: 10.1097/MD.0000000000008417.

[4] WANG C, JI Y, ZHANG H, *et al*. Increased level of exosomal miR-20b-5p derived from hypothermia-treated microglia promotes neurite outgrowth and synapse recovery after traumatic brain injury[J]. Neurobiol Dis, 2023, 179:

106042. DOI: 10.1016/j.nbd.2023.106042.
[5] LI S S, WU J J, XING X X, *et al*. Focal ischemic stroke modifies microglia-derived exosomal miRNAs: potential role of mir-212-5p in neuronal protection and functional recovery [J]. Biol Res, 2023, 56(1): 52. DOI: 10.1186/s40659-023-00458-x.
[6] WANG K, YE L, LU H, *et al*. TNF-α promotes extracellular vesicle release in mouse astrocytes through glutaminase[J]. J Neuroinflammation, 2017, 14(1): 87. DOI: 10.1186/s12974-017-0853-2.
[7] LI P, SHEN T, LUO X, *et al*. Modulation of microglial phenotypes by dexmedetomidine through TREM2 reduces neuroinflammation in heatstroke[J]. Sci Rep, 2021, 11(1): 13345. DOI: 10.1038/s41598-021-92906-5.
[8] LI Q, HAN M, LUO X, *et al*. Application of diffusion tensor imaging and functional alterations in evaluating brain alterations related to heatstroke in a rat model[J]. Magn Reson Imaging, 2023, 95: 63-69. DOI: 10.1016/j.mri.2022.11.002.
[9] WANG L, YE B, LIU Y, *et al*. Xuebijing injection attenuates heat stroke-induced brain injury through oxidative stress blockage and parthanatos modulation via PARP-1/AIF signaling[J]. ACS Omega, 2023, 8(37): 33392-33402. DOI: 10.1021/acsomega.3c03084.
[10] LI P, WANG G, ZHANG X L, *et al*. MicroRNA-155 promotes heat stress-induced inflammation via targeting liver X receptor α in microglia[J]. Front Cell Neurosci, 2019, 13: 12. DOI: 10.3389/fncel.2019.00012.
[11] XU X, IQBAL Z, XU L, *et al*. Brain-derived extracellular vesicles: potential diagnostic biomarkers for central nervous system diseases[J]. Psychiatry Clin Neurosci, 2024, 78(2): 83-96. DOI: 10.1111/pcn.13610.
[12] JEPPESEN D K, ZHANG Q, FRANKLIN J L, *et al*. Extracellular vesicles and nanoparticles: emerging complexities[J]. Trends Cell Biol, 2023, 33(8): 667-681. DOI: 10.1016/j.tcb.2023.01.002.
[13] YANG Y, BOZA-SERRANO A, DUNNING C J R, *et al*. Inflammation leads to distinct populations of extracellular vesicles from microglia[J]. J Neuroinflammation, 2018, 15: 168. DOI: 10.1186/s12974-018-1204-7.
[14] DIXSON A C, DAWSON T R, VIZIO D, *et al*. Context-specific regulation of extracellular vesicle biogenesis and cargo selection[J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2023, 24(7): 454-476. DOI: 10.1038/s41580-023-00576-0.
[15] PASCUA-MAESTRO R, GONZÁLEZ E, LILLO C, *et al*. Extracellular vesicles secreted by astroglial cells transport apolipoprotein D to Neurons and Mediate Neuronal Survival Upon Oxidative Stress[J]. Front Cell Neurosci, 2019, 12: 526. DOI: 10.3389/fncel.2018.00526.
[16] CHIANG C S, FU S J, HSU C L, *et al*. Neuronal exosomes secreted under oxygen-glucose deprivation/reperfusion presenting differentially expressed miRNAs and affecting neuronal survival and neurite outgrowth[J]. Neuromolecular Med, 2021, 23(3): 404-415. DOI: 10.1007/s12017-020-08641-z.
[17] ZHU J, CHEN Y, JI J, *et al*. Microglial exosomal miR-466i-5p induces brain injury *via* promoting hippocampal neuron apoptosis in heatstroke[J]. Front Immunol, 2022, 13: 968520. DOI: 10.3389/fimmu.2022.968520.
[18] MUKHERJEE S, AKBAR I, KUMARI B, *et al*. Japanese Encephalitis virus-induced let-7a/b interacted with the NOTCH-TLR7 pathway in microglia and facilitated neuronal death via caspase activation[J]. J Neurochem, 2019, 149(4): 518-534. DOI: 10.1111/jnc.14645.
[19] BENEVENTANO M, SPAMPINATO S, MERLO S, *et al*. Shedding of microvesicles from microglia contributes to the effects induced by metabotropic glutamate receptor 5 activation on neuronal death[J]. Front Pharmacol, 2017, 8: 812. DOI: 10.3389/fphar.2017.00812.

(收稿:2024-03-23;修回:2024-05-19)
(编辑 吴培红)