doi：10.7499/j.issn.1008-8830.2504160

论著·实验研究

间充质干细胞来源外泌体通过靶向NLRP3炎症小体减轻新生大鼠脑白质损伤的研究

王超[1] 朱艳萍[2] 巴依尔才次克[2] 冯玉晴[2] 王彦梅[2]

（1.新疆医科大学儿科学院，新疆乌鲁木齐 830054；
2.新疆医科大学第一附属医院新生儿科，新疆乌鲁木齐 830054）

［摘要］**目的** 探索间充质干细胞来源外泌体（mesenchymal stem cell-derived exosome, MSC-Exo）是否通过靶向核苷酸结合寡聚化结构域样受体蛋白3（nucleotide-binding oligomerization domain-like receptor protein 3, NLRP3）减轻新生大鼠脑白质损伤（white matter damage, WMD）。**方法** 将3日龄Sprague-Dawley大鼠随机分为假手术组、缺氧缺血（hypoxia-ischemia, HI）组、MSC-Exo组及MCC950（NLRP3抑制剂）组（*n*=24）。采用单侧颈总动脉结扎联合缺氧法构建WMD模型，脑立体定位仪辅助侧脑室移植外泌体（1×10^8粒子/μL）。建模后14 d，通过苏木精-伊红染色观察脑组织病理变化，透射电镜观察有髓鞘轴突的表达情况，蛋白质印迹法检测髓鞘碱性蛋白（myelin basic protein, MBP）、NLRP3、半胱天冬酶-1（cysteine-dependent aspartate-specific protease 1, caspase-1）及白细胞介素-1β（interleukin-1β, IL-1β）蛋白表达，免疫组化检测NLRP3、caspase-1、IL-1β表达；建模后28 d，利用Morris水迷宫检测各组大鼠行为学变化。**结果** HI组可见炎性细胞浸润、大量空泡结构，有髓鞘轴突数量较假手术组减少；与HI组相比，MSC-Exo组炎性细胞浸润减轻，仅见少量空泡结构，有髓鞘轴突数量增加；MCC950组细胞形态基本恢复正常。与假手术组相比，HI组MBP蛋白表达水平、平台穿越次数、目标象限停留时间减少（*P*<0.05），NLRP3、caspase-1、IL-1β阳性表达和蛋白表达水平、逃避潜伏期增加（*P*<0.05）；与HI组相比，MSC-Exo组和MCC90组MBP蛋白表达水平、平台穿越次数、目标象限停留时间增加（*P*<0.05），NLRP3、caspase-1、IL-1β阳性表达和蛋白表达水平、逃避潜伏期减少（*P*<0.05）。**结论** MSC-Exo可通过靶向NLRP3炎症小体及促进少突胶质细胞成熟，减轻新生大鼠WMD。 ［中国当代儿科杂志，2025，27（9）：1119-1127］

［关键词］脑白质损伤；间充质干细胞；外泌体；核苷酸结合寡聚化结构域样受体蛋白3；新生大鼠

Exosomes derived from mesenchymal stem cells alleviate white matter damage in neonatal rats by targeting the NLRP3 inflammasome

WANG Chao, ZHU Yan-Ping, Bayiercaicike, FENG Yu-Qing, WANG Yan-Mei. Department of Neonatology, First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830054, China (Wang Y-M, Email: 479913619@qq.com)

Abstract: Objective To investigate whether mesenchymal stem cell-derived exosomes (MSC-Exo) alleviate white matter damage (WMD) in neonatal rats by targeting the nucleotide-binding oligomerization domain-like receptor protein 3 (NLRP3). **Methods** Three-day-old Sprague-Dawley rats were randomly assigned to four groups: Sham, hypoxia-ischemia (HI), MSC-Exo, and MCC950 (NLRP3 inhibitor) (*n*=24 per group). The WMD model was established by unilateral common carotid artery ligation combined with hypoxia. Exosomes (1×10^8 particles/μL) were transplanted into the lateral ventricle using stereotaxic guidance. Fourteen days after modeling, hematoxylin-eosin staining was used to observe pathological changes in brain tissue, and transmission electron microscopy was used to assess myelinated axons. Western blotting was performed to detect the expression of myelin basic protein (MBP), NLRP3, caspase-1, and interleukin-1β (IL-1β). Immunohistochemistry was used to measure NLRP3, caspase-1, and IL-1β expression. Twenty-

［收稿日期］2025-04-25；［接受日期］2025-07-25
［基金项目］国家自然科学基金地区科学基金（82060288）；“青年科研起航”专项基金（2022YFY-QKQN-51）。
［作者简介］王超，男，博士研究生。
［通信作者］王彦梅，女，主治医师。Email：479913619@qq.com。

eight days post-modeling, behavioral changes were evaluated using the Morris water maze. **Results** In the HI group, marked inflammatory cell infiltration, extensive vacuolation, and decreased numbers of myelinated axons were observed compared to the Sham group. The MSC-Exo group showed reduced inflammatory infiltration, fewer vacuoles, and increased myelinated axons compared to the HI group, while the MCC950 group showed nearly normal cell morphology. Compared to the Sham group, the HI group exhibited decreased MBP expression, fewer platform crossings, shorter time in the target quadrant, increased expression of NLRP3, caspase-1, and IL-1β, and longer escape latency (all $P<0.05$). Compared to the HI group, the MSC-Exo and MCC950 groups showed increased MBP expression, more platform crossings, longer target quadrant stay, and reduced NLRP3, caspase-1, and IL-1β expression, as well as shorter escape latency (all $P<0.05$). **Conclusions** MSC-Exo may attenuate white matter damage in neonatal rats by targeting the NLRP3 inflammasome and promoting oligodendrocyte maturation.

[Chinese Journal of Contemporary Pediatrics, 2025, 27(9): 1119-1127]

Key words: White matter damage; Mesenchymal stem cell; Exosome; Nucleotide-binding oligomerization domain-like receptor protein 3; Neonatal rat

早产是新生儿死亡和发病的主要原因，成为全球性的公共卫生问题[1-2]。脑白质损伤（white matter damage, WMD）作为早产儿最常见的脑部疾病之一，其病理特征包括髓鞘形成异常、少突胶质细胞（oligodendrocyte, OL）成熟障碍、突触发育不良及神经炎症，最终可引发脑瘫、癫痫等神经功能障碍[3]。妊娠23~32周是WMD发病的高危期，在此期间，OL分化和髓鞘形成受阻的风险高，进而导致轴突变性和大脑连接受损[4]。WMD的病理生理学机制复杂且目前尚未完全阐明，其发病与炎症和缺氧缺血（hypoxia-ischemia, HI）密切相关，二者可触发免疫细胞激活、兴奋性毒性及氧化应激[5]。此外，胱天蛋白酶（caspase）介导的细胞死亡也被证实通过影响OL前体细胞和神经元，参与WMD的病理进程[6]。迄今为止，临床上仍缺乏有效的治疗WMD的方法。

间充质干细胞（mesenchymal stem cell, MSC）具有自我更新和多向分化能力，已被广泛应用于新生儿脑病的临床研究[7-8]。研究证实，MSC主要通过旁分泌机制在脑损伤中发挥治疗作用，如释放微泡、外泌体（exosome, Exo）等细胞外囊泡[9]。更重要的是，MSC对WMD动物模型具有修复作用[10]，其可通过促进髓鞘形成和OL成熟、抑制神经元死亡，减缓HI引起的新生大鼠脑损伤[11]。此外，研究发现，间充质干细胞来源外泌体（mesenchymal stem cell-derived exosome, MSC-Exo）可通过促进OL成熟，诱导髓鞘形成及减缓神经炎症，在早产儿脑损伤治疗中显示出巨大应用前景[12-13]。鉴于此，本研究旨在探索MSC-Exo在WMD大鼠模型中的分子调控机制，为早产脑损伤的治疗策略提供新思路。

1 材料与方法

1.1 主要材料

成骨分化培养基（PD-017）、成脂分化培养基（PD-019）和成软骨分化培养基（PD-018）均购自武汉普诺赛生命科技有限公司，CD9、CD63、CD73、CD90、CD184、CD11b、热休克蛋白70（heat shock protein 70, HSP70）抗体购自美国Thermo Fisher公司，髓鞘碱性蛋白（myelin basic protein, MBP）、核苷酸结合寡聚化结构域样受体蛋白3（nucleotide binding oligomerization domain-like receptor protein 3, NLRP3）、caspase-1、白细胞介素（interleukin, IL）-1β、calnexin和β-actin抗体购自英国Abcam公司，BCA蛋白浓度测定试剂盒购自北京索莱宝有限公司；主要仪器包括光学显微镜（日本Nikon公司）、脑立体定位仪（深圳市瑞沃德生命科技有限公司）、透射电子显微镜（transmission electron microscope, TEM；日本JEOL公司）、流式细胞仪（美国Becton Dickinson公司）。

1.2 MSC提取和培养

本研究经新疆医科大学第一附属医院伦理委员会批准（编号：IACUC-20200318-65）。获患者知情同意后收集剖宫产健康足月分娩的脐带，经清洗、血管剔除、华通氏胶分离、组织匀浆后进行消化，离心收集沉淀。将其接种于T175细胞培养瓶中，重悬于α-MEM完全培养基，置于细胞培养箱（37℃、5% CO_2）孵育72 h，每3 d更换1次培养基，至出现成纤维样细胞集落后进行传代培养。后续实验选用第3代MSC。

1.3 MSC的鉴定

第3代MSC经胰酶消化后，离心收集细胞，重悬并调整浓度，分别与CD73、CD90、CD11b和CD184抗体孵育30 min，通过流式细胞仪检测上述

表面标志物的表达水平。采用成骨、成脂和成软骨分化培养基对MSC进行培养和诱导，经茜素红染色、油红O染色和甲苯胺蓝染色评估MSC的多向分化能力。

1.4 MSC-Exo的获取与鉴定

第3代MSC经无血清培养基培养48 h后收集上清，依次经过离心程序1（4℃，3 453 r/min，30 min）、程序2（4℃，23 769 r/min，50 min）、程序3（4℃，75 165 r/min，90 min）去除细胞碎片、凋亡小体和较大囊泡并获取MSC-Exo，PBS溶液洗涤后备用。通过TEM评估MSC-Exo的超微结构；纳米颗粒跟踪分析（nanoparticle tracking analysis, NTA）测定MSC-Exo的粒径和浓度；蛋白质印迹法（Western blot, WB）测定Exo标志物CD63、CD9、HSP70和calnexin蛋白表达。

1.5 分组与模型制备

选用3日龄、体重8~10 g的Sprague-Dawley大鼠，随机分为假手术组、HI组、MSC-Exo组和NLRP3抑制剂MCC950组，每组24只。WMD模型制备：大鼠经异氟醚麻醉后固定于解剖板，暴露左侧颈总动脉后，于其上下两端结扎后将中间离断；缝合伤口，待大鼠恢复1 h后，放入缺氧实验箱（8% O_2+92% N_2，气体流量为2 L/min）中缺氧处理2.5 h。假手术组大鼠暴露左侧颈总动脉后缝合伤口，不进行结扎和缺氧处理。

1.6 MSC-Exo移植

MSC-Exo组和MCC950组大鼠通过脑立体定位仪进行MSC-Exo移植，以前囟中点为坐标点，向后1.5 mm、向左1.5 mm处为注射点，垂直缓慢进针至颅骨内约3 mm，有突破感时停止。以1 μL/min的速度缓慢注入MSC-Exo（1×10^8粒子/μL），移植剂量为1 μL，注射结束后注射器滞留3 min，防止MSC-Exo溢出。假手术组和HI组通过相同方法注入等量PBS。MCC950组在上述处理基础上，予以腹腔注射20 mg/kg MCC950，每日1次，持续注射7 d；其余各组大鼠以同样的方式注射等体积生理盐水。

1.7 样本收集

建模后14 d，腹腔注射80 mg/kg戊巴比妥钠处死大鼠。其中6只经生理盐水体循环灌注后，取左侧胼胝体用于WB检测；另6只经4%戊二醛再灌注后，取左侧胼胝体行TEM检测；还有6只大鼠取脑组织，经4%多聚甲醛固定、梯度乙醇脱水、二甲苯透明及石蜡包埋后，制成4 μm切片，用于苏木精-伊红（hematoxylin-eosin, HE）染色及免疫组化实验。

1.8 TEM检测

取左侧胼胝体组织，经4%戊二醛固定后，室温下用1%锇酸避光处理1 h；梯度乙醇脱水后，置于丙酮与包埋介质1∶1混合物中过夜。环氧树脂包埋后，采用超切片机制成60 nm切片，依次用2%醋酸铀、2.6%柠檬酸铅溶液染色，在TEM下采集图像。

1.9 HE染色

组织切片脱蜡、水合后，苏木精染色1 min，自来水返蓝并经1%盐酸乙醇分化，蒸馏水清洗后伊红染色2 min，常规脱水、透明、封片，通过光学显微镜采集图像与分析。

1.10 免疫组化

组织切片脱蜡、水合后，置于柠檬酸钠抗原修复液中热修复，随后依次与内源性过氧化物酶阻断剂、10%山羊血清各孵育30 min，再分别与NLRP3（1∶200）、caspase-1（1∶100）和IL-1β（1∶400）抗体4℃避光孵育12 h。次日与二抗（1∶200）37°C孵育20 min，经3,3'-二氨基联苯胺显色后苏木精复染，常规脱水、透明、封片。采用Image J软件对阳性信号进行量化分析，平均光密度值代表目的蛋白的表达水平。

1.11 WB

取组织样本，置于含PMSF的RIPA裂解缓冲液中冰上裂解提取蛋白，BCA法测定浓度后取等量（20 μg）蛋白变性，经10%十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶分离，电转移至聚偏二氟乙烯膜，室温快速封闭10 min，依次与CD9（1∶1 000）、CD63（1∶1 000）、HSP70（1∶1 000）、MBP（1∶500）、NLRP3（1∶1 000）、caspase-1（1∶2 000）、IL-1β（1∶2 000）、calnexin（1∶1 000）及β-actin（1∶4 000）一抗4℃孵育12 h，TBST洗涤3次（每次5 min）。次日与对应二抗（1∶10 000）室温孵育2 h，TBST洗涤3次（每次5 min）。通过化学发光仪显影可视化蛋白条带，采用Image J软件测定目的蛋白条带灰度值，以β-actin灰度值校准并计算相对表达量。

1.12 Morris水迷宫测试

建模后28 d，在安静环境中对大鼠进行Morris水迷宫（Morris water maze, MWM）测试，包括定向航行实验（第1~5天）和空间探索实验（第6天）。定向航行实验：训练大鼠1 min内在水箱中4

个象限依次入水游泳并找到平台位置，记录其逃避潜伏期，实验持续 5 d，每日训练 4 次。空间探索实验：次日移除平台，记录大鼠 2 min 内在水箱中的游行轨迹，以及原平台穿越次数和目标象限停留时间，实验持续 1 d。所有实验参数均通过行为学系统捕捉并记录。

1.13 统计学分析

使用 SPSS 22.0、GraphPad Prism 8.0 软件进行数据分析。符合正态分布的数据以均值 ± 标准差（$\bar{x} \pm s$）表示。对数据进行正态性检验和方差齐性检验，符合条件者采用单因素方差分析；组间两两比较时，方差齐性数据采用 LSD-t 检验，方差不齐时采用 Dunnett-t 检验。P<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 MSC 的鉴定

流式细胞术结果显示，MSC 高表达 CD73、CD90（阳性率 99.6%，图 1A），CD11b、CD184 呈阴性（阳性率 0%，图 1B）。光学显微镜下观察，细胞呈纺锤形（图 1C）。成脂诱导后油红 O 染色可见 MSC 内橘红色脂滴积聚（图 1D）；成骨诱导后茜素红染色显示红色钙结节沉积，提示成骨分化（图 1E）；成软骨诱导后甲苯胺蓝染色呈蓝色阳性，提示成软骨分化（图 1F）。以上结果表明 MSC 提取及鉴定成功。

2.2 MSC-Exo 的表征

WB 结果显示，MSC-Exo 中阳性标志物 CD9、CD63 和 HSP70 呈高表达，阴性标志物 calnexin 呈低表达（图 2A）；通过 TEM 观察 MSC-Exo 形态呈“杯状”（图 2B）；NTA 分析显示 MSC-Exo 粒径分布集中在 30~150 nm 之间，MSC-Exo 平均粒径为（83 ± 18）nm，浓度为 1.03×10^{10} 粒子/mL（图 2C）。表明从 MSC 培养上清中成功提取 Exo。

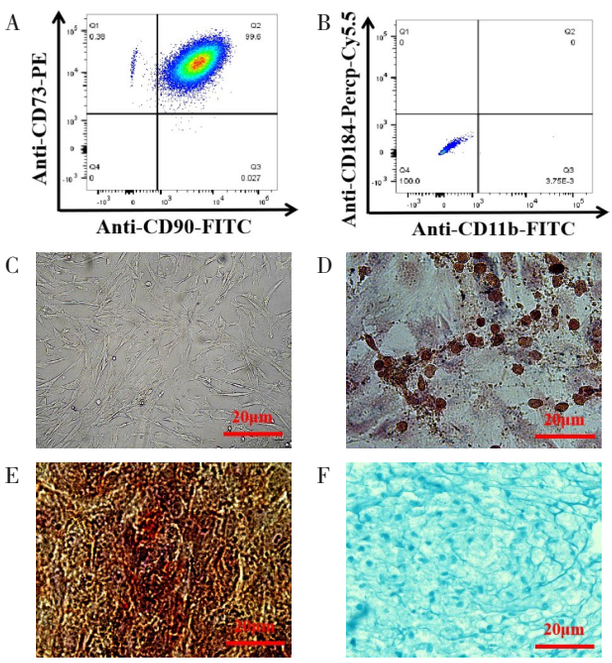


图 1 MSC 的形态学和组织学特征 A~B：流式细胞术检测 MSC 中 CD73、CD90、CD184 及 CD11b 表达（n=3），Q1 为 $CD90^-$ $CD73^+/CD11b^-$ $CD184^+$ 细胞，Q2 为 $CD90^+$ $CD73^+/CD11b^+$ $CD184^+$细胞，Q3 为 $CD90^+$ $CD73^-/CD11b^+$ $CD184^-$细胞，Q4 为 $CD90^-$ $CD73^-/CD11b^-$ $CD184^-$细胞；C：光学显微镜观察 MSC 形态（n=3），细胞呈纺锤形；D：成脂分化油红 O 染色（n=3），橘红色为脂滴；E：成骨分化茜素红染色（n=3），红色为钙结节沉积；F：成软骨分化甲苯胺蓝染色（n=3），蓝色为软骨基质。

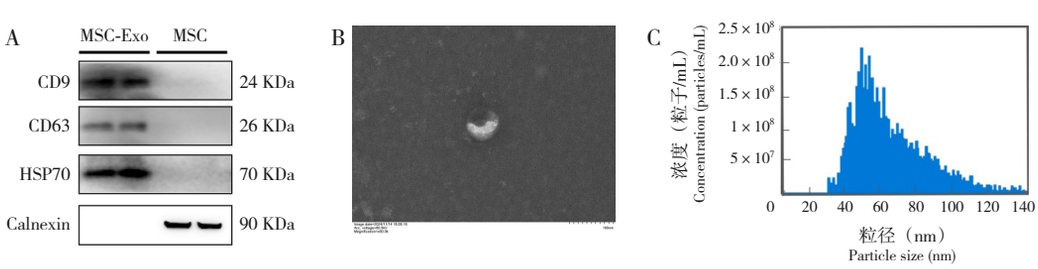


图 2 MSC-Exo 的表征 A：WB 检测 MSC-Exo 中 CD9、CD63、HSP70 和 calnexin 蛋白表达条带图（n=3）；B：TEM 观察 MSC-Exo 形态表现（n=3）；C：NTA 测定 MSC-Exo 的粒径和浓度（n=3）。MSC-Exo 阳性表达 CD9、CD63 和 HSP70，其形态呈“杯状”，粒径分布集中在 30~150 nm 之间，符合国际细胞外囊泡协会对于 Exo 定义标准。

2.3 MSC-Exo 对 WMD 模型病理改变的影响

HE 染色结果显示，假手术组细胞核质分明，形态正常，无明显空泡结构。HI 组炎性细胞浸润，细胞肿胀坏死，出现大量空泡结构。与 HI 组相比，MSC-Exo 组病理损伤减轻，炎性细胞浸润及细胞变性减少，仅见少量空泡；MCC950 组细胞形态基本恢复正常。

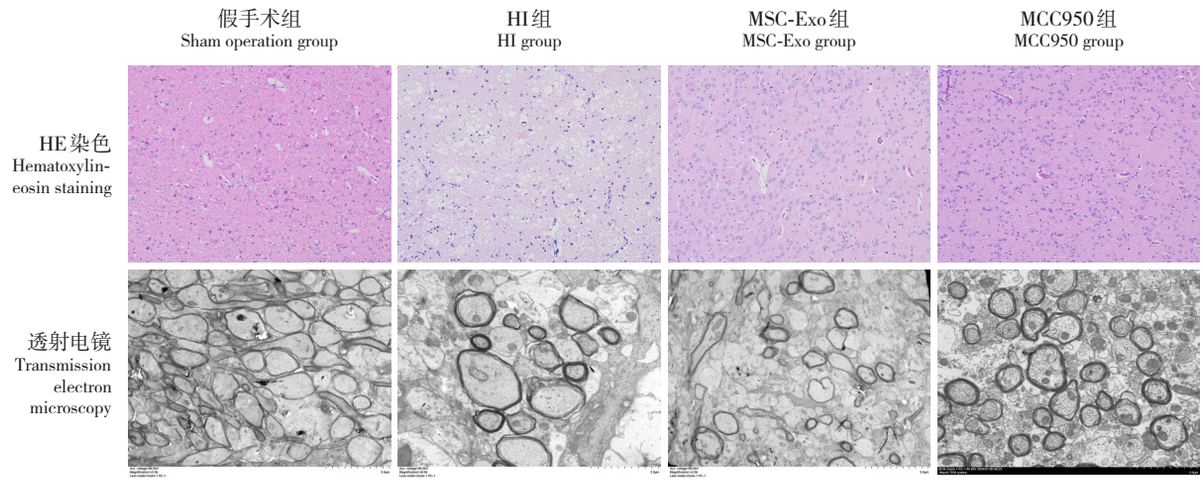


图3　各组脑组织病理变化比较　HE染色（光学显微镜，×200）和TEM（×8 000）结果显示，假手术组细胞形态正常，无明显空泡结构，轴突髓鞘完整；HI组可见炎性细胞浸润，细胞肿胀坏死伴大量空泡，轴突髓鞘松散，有髓鞘轴突数量减少；MSC-Exo组炎性细胞浸润及细胞变性减少，仅见少量空泡，髓鞘形态完整性改善；MCC950组细胞形态基本恢复。红色为细胞质，蓝色为细胞核。

2.4　MSC-Exo对OL成熟的影响

TEM结果显示，与假手术组相比，HI组轴突髓鞘松散，有髓鞘轴突数量减少；与HI组相比，MSC-Exo组和MCC950组有髓鞘轴突数量增加，髓鞘形态完整性改善（图3）。WB结果显示，与假手术组（0.838±0.042）相比，HI组（0.113±0.014）MBP蛋白表达水平降低（P<0.05）；与HI组相比，MSC-Exo组（0.624±0.043）和MCC950组（0.842±0.031）MBP蛋白表达水平升高，且MCC950组升高更显著（P<0.05）（图4）。

2.5　各组新生大鼠NLRP3、caspase-1和IL-1β表达比较

WB结果显示，与假手术组相比，HI组NLRP3、caspase-1和IL-1β蛋白表达增加（P<0.05）；与HI组相比，MSC-Exo和MCC950组NLRP3、caspase-1和IL-1β蛋白表达减少（P<0.05）（图4、表1）。免疫组化结果显示，与假手术组相比，HI组NLRP3、caspase-1及IL-1β阳性表达升高（P<0.05）；与HI组比较，MSC-Exo组和MCC950组NLRP3、caspase-1及IL-1β阳性表达降低（P<0.05）（表1、图5）。

2.6　MSC-Exo对WMD模型认知功能的影响

MWM结果显示，与假手术组相比，HI组逃避潜伏期增加（P<0.05），平台穿越次数、目标象限停留时间减少（P<0.05）；与HI组相比，MSC-Exo组和MCC950组逃避潜伏期减少（P<0.05），平台穿越次数、目标象限停留时间增加（P<0.05）。见图6、表2。

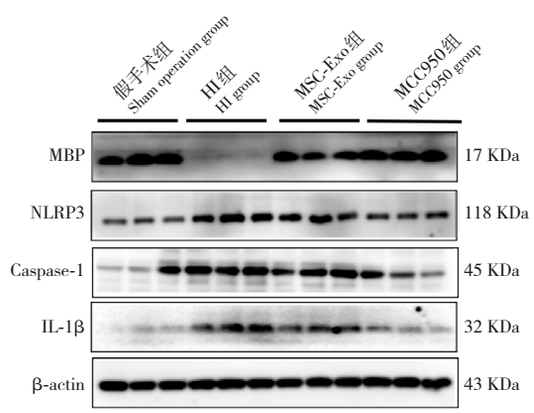


图4　WB检测各组MBP、NLRP3、caspase-1及IL-1β蛋白表达条带图

表 1　各组 NLRP3、caspase-1 及 IL-1β 表达水平比较　（$\bar{x} \pm s$，n=6）

组别	蛋白相对表达量			平均光密度值		
	NLRP3	caspase-1	IL-1β	NLRP3	caspase-1	IL-1β
假手术组	0.451 ± 0.023	0.132 ± 0.022	0.324 ± 0.024	0.092 ± 0.013	0.102 ± 0.011	0.074 ± 0.009
HI 组	0.892 ± 0.041^{a}	0.573 ± 0.031^{a}	0.671 ± 0.032^{a}	0.281 ± 0.032^{a}	0.241 ± 0.032^{a}	0.212 ± 0.033^{a}
MSC-Exo 组	0.623 ± 0.032^{a,b}	0.312 ± 0.013^{a,b}	0.422 ± 0.021^{a,b}	0.184 ± 0.015^{a,b}	0.173 ± 0.012^{a,b}	0.151 ± 0.022^{a,b}
MCC950 组	0.461 ± 0.022^{b,c}	0.181 ± 0.020^{b,c}	0.341 ± 0.011^{b,c}	0.112 ± 0.008^{b,c}	0.131 ± 0.014^{a,b,c}	0.091 ± 0.012^{a,b,c}
F 值	59.623	39.482	45.532	69.642	92.521	67.581
P 值	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注：［HI］缺氧缺血；［MSC-Exo］间充质干细胞来源外泌体；［NLRP3］核苷酸结合寡聚化结构域样受体蛋白 3；［caspase-1］半胱天冬酶-1；［IL-1β］白细胞介素-1β。a 示与假手术组比较，P<0.05；b 示与 HI 组比较，P<0.05；c 示与 MSC-Exo 组比较，P<0.05。

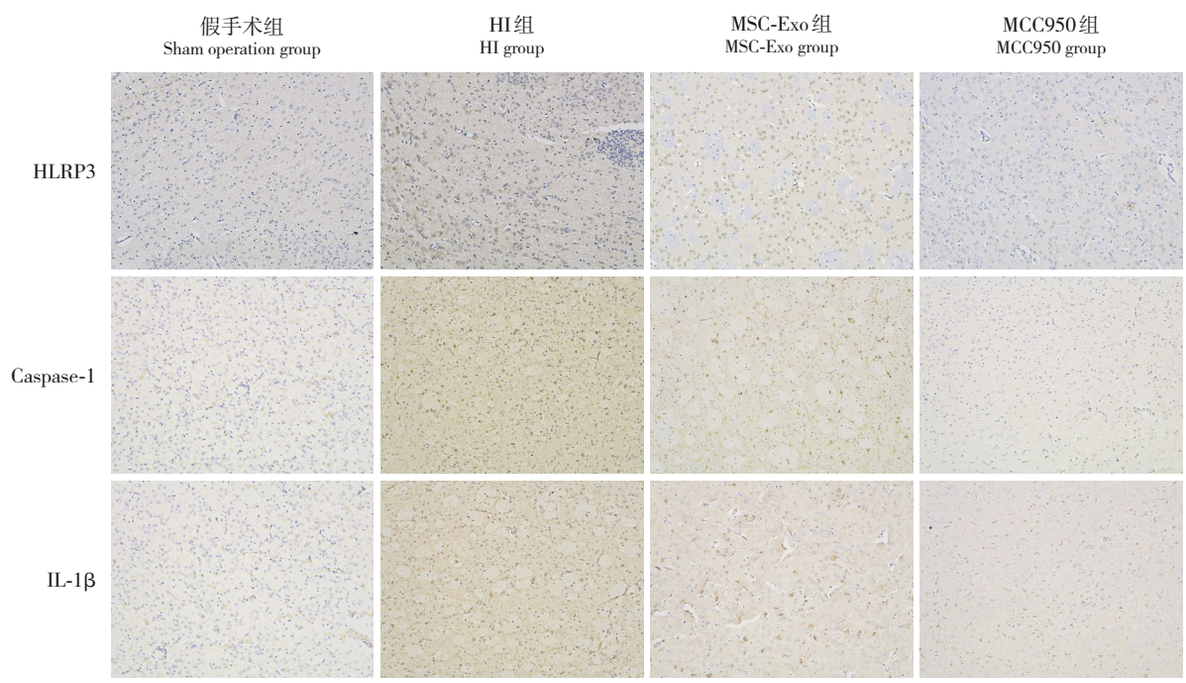


图 5　免疫组化法检测各组 NLRP3、caspase-1 和 IL-1β 表达情况（光学显微镜，×200）　棕黄色代表 NLRP3、caspase-1 及 IL-1β 阳性表达，蓝色代表细胞核。MSC-Exo 组和 MCC950 组 NLRP3、caspase-1 和 IL-1β 阳性表达较 HI 组减少。

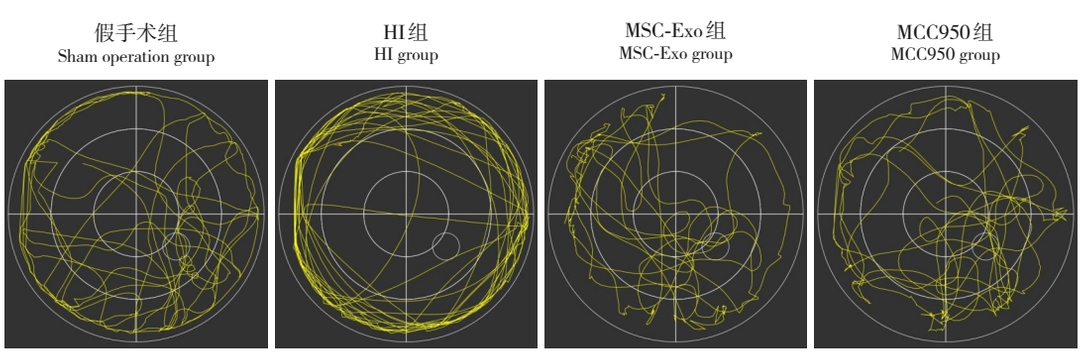


图 6　各组大鼠在空间探索实验阶段的游行轨迹比较　第 4 象限的小圆圈代表定向航行实验阶段的平台位置。MSC-Exo 组和 MCC950 组平台穿越次数及目标象限停留时间高于 HI 组。

表2　各组大鼠逃避潜伏期、平台穿越次数及目标象限停留时间比较　（$\bar{x} \pm s$，n=6）

组别	逃避潜伏期(s)	平台穿越次数(次)	目标象限停留时间(s)
假手术组	9.3 ± 0.6	13.2 ± 2.2	43.1 ± 2.7
HI组	40.1 ± 2.2[a]	2.1 ± 0.8[a]	18.0 ± 1.6[a]
MSC-Exo组	22.4 ± 1.2[a,b]	6.0 ± 0.5[a,b]	29.2 ± 0.8[a,b]
MCC950组	16.1 ± 0.8[a,b,c]	9.2 ± 0.9[a,b,c]	36.1 ± 1.2[a,b,c]
*F*值	100.04	24.47	28.35
*P*值	<0.001	<0.001	<0.001

注：［HI］缺氧缺血；［MSC-Exo］间充质干细胞来源外泌体。a示与假手术组比较，*P*<0.05；b示与HI组比较，*P*<0.05；c示与MSC-Exo组比较，*P*<0.05。

3　讨论

WMD作为早产儿脑损伤最常见的表现形式，主要表现为OL成熟障碍及髓鞘形成不良，这可能进一步导致神经发育缺陷与神经功能障碍[14]。WMD的发生常与脑缺血、缺氧及炎症反应相关。其中，HI可触发炎症反应，通过激活小胶质细胞诱发神经炎症，影响OL成熟，从而导致WMD[14-15]。研究证实，神经炎症可导致产生髓鞘的OL凋亡及髓鞘丢失[16-18]；当髓鞘无法再生时，最终会导致神经功能障碍[19]。此外，脱髓鞘过程中炎症反应的减弱有助于促进神经系统恢复并阻止脱髓鞘恶化[20]。研究表明，多种信号通路（如PPAR-γ、BDNF-TrkB、NF-κB及NLRP3炎症小体信号通路）通过参与神经元焦亡、炎症及氧化应激的调节影响WMD进程[2, 21-22]。其中，NLRP3炎症小体通过介导神经炎症及小胶质细胞表型极化影响WMD的进展，已成为WMD潜在的治疗靶点[23-24]。其作用机制为：NLRP3通过募集caspase-1前体并将其激活成caspase-1，形成炎症小体复合物，促使IL-1β和IL-18释放至细胞外，进而诱导神经炎症及轴突损伤[25]。研究证实，NLRP3炎症小体在脱髓鞘疾病中被过度激活，使其失活可通过控制炎症反应阻止脱髓鞘，改善新生大鼠WMD所致神经功能障碍[26]。因此，靶向NLRP3炎症小体可能是治疗新生儿WMD的有效策略。近年研究证实，Exo对NLRP3炎症小体具有调控作用，且NLRP3炎症小体在HI诱导的WMD中发挥重要作用[27-28]。本研究旨在通过探索MSC-Exo对NLRP3炎症小体的影响，阐明其在WMD中的调控机制。结果显示，与假手术组相比，HI组NLRP3、caspase-1和IL-1β表达明显增加；MSC-Exo可显著降低脑组织中NLRP3、caspase-1及IL-1β表达水平，提示MSC-Exo可能通过抑制NLRP3炎症小体活化，从而减缓WMD。该结果与既往研究一致：Xu等[29]报道MSC-Exo可通过抑制NLRP3炎症小体，减轻大鼠缺血再灌注损伤引起的氧化应激及细胞焦亡；另有研究发现，MSC-Exo可通过调节小胶质细胞极化，抑制NLRP3炎症小体介导的神经炎症[30]。

Exo在早产儿脑损伤治疗中展现出巨大潜力[31]。值得注意的是，已有研究证实Exo可通过释放长链非编码RNA和微小RNA等关键物质，对HI所致WMD发挥修复作用。例如，研究表明Exo可通过释放miR-101-3p和长链非编码RNA TM7SF3-AU1等致病性分子，加剧缺血性WMD[32-33]。与之相反，M2型小胶质细胞分泌的Exo可通过miR-144-5p抑制PTEN/AKT通路活性，从而减轻WMD[34]。更重要的是，MSC-Exo被发现可通过调节神经胶质细胞活性，在WMD治疗中显示出巨大潜能[12]。本研究结果显示，与假手术组相比，HI组有髓鞘轴突数量和MBP表达均减少；与HI组相比，MSC-Exo组和MCC950组的有髓鞘轴突数量和MBP表达均明显增加，提示MSC-Exo在WMD中可促进轴突的髓鞘形成。这些结果与既往研究一致，如研究证实MSC-Exo可通过抑制NLRP3炎症小体，减轻多发性硬化症小鼠的神经炎症，进而改善髓鞘修复[35]；另有研究发现，MSC-Exo可通过miR-17-92激活PI3K/AKT/mTOR通路，促进中风大鼠模型的髓鞘重塑[36]。

本研究中，从脐带组织中提取MSC，经流式细胞术检测显示，MSC中CD73和CD90呈阳性表达，CD184和CD11b呈阴性表达，与既往研究报道的MSC表征特点一致[37]。此外，MSC呈纺锤形态，且具有成骨、成脂及成软骨分化能力，符合MSC的生物学特性[38]。MSC-Exo的鉴定结果显示，其阳性表达CD9、CD63和HSP70，呈杯状形态，平均直径为（83 ± 18）nm，表明已成功提取MSC-Exo[39]。HE染色结果显示，HI组脑白质组织中可见炎性细胞浸润及大量细胞坏死；经MSC-Exo和MCC950处理后，脑组织病变减轻，细胞形态基本恢复正常。MWM测试结果表明，MSC-Exo可通过靶向NLRP3炎症小体减轻WMD引发的认知功能障碍。然而，本研究尚未明确MSC-Exo是否通过释放微小RNA等关键介质调控NLRP3炎症小体，进

而影响WMD的发展。后续研究中，我们将进一步探索MSC-Exo靶向NLRP3炎症小体的具体机制。

综上，本研究证实MSC-Exo可通过调控NLRP3炎症小体，促进OL成熟并改善WMD导致的长期认知障碍，这为WMD的治疗策略提供了新的见解。

作者贡献声明：王超负责实验设计、文章撰写、数据整理；朱艳萍负责数据统计、论文审阅、经费支持；巴依尔才次克负责水迷宫、HE染色实验；冯玉晴负责免疫组化染色、透射电镜实验；王彦梅负责免疫印迹实验、论文审阅、论文指导。

利益冲突声明：所有作者声明不存在利益冲突。

［参　考　文　献］

[1] Ge Y, Zhen F, Liu Z, et al. Alpha-asaronol alleviates dysmyelination by enhancing glutamate transport through the activation of PPARγ -GLT-1 signaling in hypoxia-ischemia neonatal rats[J]. Front Pharmacol, 2022, 13: 766744. PMID: 35401225. PMCID: PMC8984140. DOI: 10.3389/fphar.2022.766744.

[2] Fang M, Lu L, Lou J, et al. FGF21 alleviates hypoxic-ischemic white matter injury in neonatal mice by mediating inflammation and oxidative stress through PPAR-γ signaling pathway[J]. Mol Neurobiol, 2025, 62(4): 4743-4768. PMID: 39485628. DOI: 10.1007/s12035-024-04549-y.

[3] Shahsavani N, Kataria H, Karimi-Abdolrezaee S. Mechanisms and repair strategies for white matter degeneration in CNS injury and diseases[J]. Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis, 2021, 1867(6): 166117. PMID: 33667627. DOI: 10.1016/j.bbadis.2021.166117.

[4] Nakao M, Nanba Y, Okumura A, et al. Fetal heart rate evolution and brain imaging findings in preterm infants with severe cerebral palsy[J]. Am J Obstet Gynecol, 2023, 228(5): 583.e1-583.e14. PMID: 36370872. DOI: 10.1016/j.ajog.2022.11.1277.

[5] Huang Q, Tang J, Xiang Y, et al. 4-Benzyl-2-methyl-1, 2, 4-thiadiazolidine-3, 5-dione rescues oligodendrocytes ferroptosis leading to myelin loss and ameliorates neuronal injury facilitating memory in neonatal hypoxic-ischemic brain damage [J]. Exp Neurol, 2025, 390: 115262. PMID: 40246011. DOI: 10.1016/j.expneurol.2025.115262.

[6] Li Z, Zhang F, Huang L, et al. Akt/mTOR pathway agonist SC79 inhibits autophagy and apoptosis of oligodendrocyte precursor cells associated with neonatal white matter dysplasia[J]. Neurochem Res, 2024, 49(3): 670-683. PMID: 38015410. PMCID: PMC10884134. DOI: 10.1007/s11064-023-04057-w.

[7] De Palma ST, Hermans EC, Shamorkina TM, et al. Hypoxic preconditioning enhances the potential of mesenchymal stem cells to treat neonatal hypoxic-ischemic brain injury[J]. Stroke, 2025, 56(7): 1872-1882. PMID: 40248869. PMCID: PMC12180708. DOI: 10.1161/STROKEAHA.124.048964.

[8] Chang YS, Yang M, Ahn SY, et al. Improving the future of clinical trials and translation of mesenchymal stromal cell therapies for neonatal disorders[J]. Stem Cells Transl Med, 2024, 13(10): 941-948. PMID: 39120439. PMCID: PMC11465171. DOI: 10.1093/stcltm/szae060.

[9] Vinukonda G, La Gamma EF. Emerging therapies for brain recovery after IVH in neonates: cord blood derived mesenchymal stem cells (MSC) and unrestricted somatic stem cells (USSC)[J]. Semin Perinatol, 2022, 46(5): 151598. PMID: 35589461. DOI: 10.1016/j.semperi.2022.151598.

[10] 张军, 李明霞, 王超, 等. 不同剂量人脐带间充质干细胞移植对新生大鼠脑白质损伤的修复作用[J]. 中国当代儿科杂志, 2024, 26(4): 394-402. PMID: 38660904. PMCID: PMC11057307. DOI: 10.7499/j.issn.1008-8830.2310081.

[11] Tapia-Bustos A, Lespay-Rebolledo C, Vío V, et al. Neonatal mesenchymal stem cell treatment improves myelination impaired by global perinatal asphyxia in rats[J]. Int J Mol Sci, 2021, 22(6): 3275. PMID: 33806988. PMCID: PMC8004671. DOI: 10.3390/ijms22063275.

[12] Zhang X, Zhang Y, Peng X, et al. Targeting neuroinflammation in preterm white matter injury: therapeutic potential of mesenchymal stem cell-derived exosomes[J]. Cell Mol Neurobiol, 2025, 45(1): 23. PMID: 40072734. PMCID: PMC11903990. DOI: 10.1007/s10571-025-01540-6.

[13] Gao X, Yang H, Xiao W, et al. Modified exosomal SIRPα variants alleviate white matter injury after intracerebral hemorrhage via microglia/macrophages[J]. Biomater Res, 2022, 26(1): 67. PMID: 36435797. PMCID: PMC9701394. DOI: 10.1186/s40824-022-00311-4.

[14] Shao R, Sun D, Hu Y, et al. White matter injury in the neonatal hypoxic-ischemic brain and potential therapies targeting microglia[J]. J Neurosci Res, 2021, 99(4): 991-1008. PMID: 33416205. DOI: 10.1002/jnr.24761.

[15] Song S, Hasan MN, Yu L, et al. Microglial-oligodendrocyte interactions in myelination and neurological function recovery after traumatic brain injury[J]. J Neuroinflammation, 2022, 19 (1): 246. PMID: 36199097. PMCID: PMC9533529. DOI: 10.1186/s12974-022-02608-6.

[16] Rivellini C, Porrello E, Dina G, et al. JAB1 deletion in oligodendrocytes causes senescence-induced inflammation and neurodegeneration in mice[J]. J Clin Invest, 2022, 132(3): e145071. PMID: 34874913. PMCID: PMC8803330. DOI: 10.1172/JCI145071.

[17] Groh J, Abdelwahab T, Kattimani Y, et al. Microglia-mediated demyelination protects against $CD8^+$ T cell-driven axon degeneration in mice carrying PLP defects[J]. Nat Commun, 2023, 14(1): 6911. PMID: 37903797. PMCID: PMC10616105. DOI: 10.1038/s41467-023-42570-2.

[18] Xie D, Ma Y, Gao C, et al. Piezo1 activation on microglial cells exacerbates demyelination in sepsis by influencing the CCL25/GRP78 pathway[J]. Int Immunopharmacol, 2024, 142(Pt A): 113045. PMID: 39236454. DOI: 10.1016/j.intimp.2024.113045.

[19] Paul S, Bhardwaj J, Binukumar BK. Cdk5-mediated oligodendrocyte myelin breakdown and neuroinflammation: Implications for the link between type 2 diabetes and Alzheimer's disease[J]. Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis, 2024, 1870(2): 166986. PMID: 38092158.
DOI: 10.1016/j.bbadis.2023.166986.

[20] Micili SC, Engür D, Genc S, et al. Oxygen exposure in early life activates NLRP3 inflammasome in mouse brain[J]. Neurosci Lett, 2020, 738: 135389. PMID: 32949661.
DOI: 10.1016/j.neulet.2020.135389.

[21] Ran Y, Su W, Gao F, et al. Curcumin ameliorates white matter injury after ischemic stroke by inhibiting microglia/macrophage pyroptosis through NF- κB suppression and NLRP3 inflammasome inhibition[J]. Oxid Med Cell Longev, 2021, 2021: 1552127. PMID: 34630845. PMCID: PMC8497115.
DOI: 10.1155/2021/1552127.

[22] Huang J, Zhang L, Qu Y, et al. Histone acetylation of oligodendrocytes protects against white matter injury induced by inflammation and hypoxia-ischemia through activation of BDNF-TrkB signaling pathway in neonatal rats[J]. Brain Res, 2018, 1688: 33-46. PMID: 29155093.
DOI: 10.1016/j.brainres.2017.11.005.

[23] Yang L, Zhang Y, Yu X, et al. Periventricular microglia polarization and morphological changes accompany NLRP3 inflammasome-mediated neuroinflammation after hypoxic-ischemic white matter damage in premature rats[J]. J Immunol Res, 2023, 2023: 5149306. PMID: 37636861. PMCID: PMC10460280. DOI: 10.1155/2023/5149306.

[24] Xiao L, Wang M, Shi Y, et al. Secondary white matter injury mediated by neuroinflammation after intracerebral hemorrhage and promising therapeutic strategies of targeting the NLRP3 inflammasome[J]. Curr Neuropharmacol, 2023, 21(3): 669-686. PMID: 36043798. PMCID: PMC10207923.
DOI: 10.2174/1570159X20666220830115018.

[25] Xiao L, Wang M, Shi Y, et al. Neuroinflammation-mediated white matter injury in Parkinson's disease and potential therapeutic strategies targeting NLRP3 inflammasome[J]. Int Immunopharmacol, 2024, 143(Pt 3): 113483. PMID: 39488915. DOI: 10.1016/j.intimp.2024.113483.

[26] Liu Y, Fan H, Li X, et al. Trpv4 regulates Nlrp3 inflammasome via SIRT1/PGC-1α pathway in a cuprizone-induced mouse model of demyelination[J]. Exp Neurol, 2021, 337: 113593. PMID: 33387462. DOI: 10.1016/j.expneurol.2020.113593.

[27] Huo L, Liu X, Wang H. Leukemia inhibitory factor attenuates hypoxic-ischemic white matter injury via NLRP3 inflammasome activity suppressing through the Nrf2/HO-1 pathway[J]. Front Biosci (Landmark Ed), 2025, 30(3): 36630. PMID: 40152399. DOI: 10.31083/FBL36630.

[28] 李美伶, 徐明 . 外泌体对NLRP3炎症小体调控作用的研究进展[J]. 药学学报, 2025, 60(4): 853-863.
DOI: 10.16438/j.0513-4870.2024-0909.

[29] Xu M, Don M, Chen Y, et al. Bone marrow mesenchymal stem cell-originated exosomes curb oxidative stress and pyroptosis triggered by ovarian ischemia/reperfusion via the TXNIP/NLRP3 inflammasome pathway[J]. Appl Biochem Biotechnol, 2025, 197(6): 3819-3840. PMID: 40042757.
DOI: 10.1007/s12010-025-05188-2.

[30] Liu X, Zhang M, Liu H, et al. Bone marrow mesenchymal stem cell-derived exosomes attenuate cerebral ischemia-reperfusion injury-induced neuroinflammation and pyroptosis by modulating microglia M1/M2 phenotypes[J]. Exp Neurol, 2021, 341: 113700. PMID: 33741350.
DOI: 10.1016/j.expneurol.2021.113700.

[31] Gamage TKJB, Fraser M. The role of extracellular vesicles in the developing brain: current perspective and promising source of biomarkers and therapy for perinatal brain injury[J]. Front Neurosci, 2021, 15: 744840. PMID: 34630028. PMCID: PMC8498217. DOI: 10.3389/fnins.2021.744840.

[32] Zhang H, Zhou LQ, Yang S, et al. The foam cell-derived exosomes exacerbate ischemic white matter injury via transmitting metabolic defects to microglia[J]. Cell Metab. PMID: 40345179.
DOI: 10.1016/j.cmet.2025.04.009. Epub ahead of print.

[33] Zhang Z, Yan J, Chen H, et al. Exosomal LncRNA TM7SF3-AU1 aggravates white matter injury via MiR-702-3p/SARM1 signaling after subarachnoid hemorrhage in rats[J]. Mol Neurobiol, 2024, 61(7): 4783-4803. PMID: 38135853.
DOI: 10.1007/s12035-023-03811-z.

[34] Zhu Z, Meng M, Mo S, et al. M2 microglia-derived exosomal miR-144-5p attenuates white matter injury in preterm infants by regulating the PTEN/AKT pathway through KLF12[J]. Mol Biotechnol. PMID: 39841378.
DOI: 10.1007/s12033-025-01364-1. Epub ahead of print.

[35] Askari H, Yavarpour-Bali H, Shirzad M, et al. Combination therapy with exosomes and NLRP3 inhibition enhances myelin repair in a cuprizone-induced demyelination model[J]. Eur J Pharmacol, 2025, 1002: 177851. PMID: 40532841.
DOI: 10.1016/j.ejphar.2025.177851.

[36] Bi W, Mu X, Li Y, et al. Delivery of neurotrophin-3 by RVG-Lamp2b-modified mesenchymal stem cell-derived exosomes alleviates facial nerve injury[J]. Hum Cell, 2024, 37(5): 1378-1393. PMID: 38858338. DOI: 10.1007/s13577-024-01086-7.

[37] Malige A, Gates C, Cook JL. Mesenchymal stem cells in orthopaedics: a systematic review of applications to practice[J]. J Orthop, 2024, 58: 1-9. PMID: 39035449. PMCID: PMC11254590. DOI: 10.1016/j.jor.2024.06.026.

[38] Choudhery MS, Mahmood R, Harris DT, et al. Minimum criteria for defining induced mesenchymal stem cells[J]. Cell Biol Int, 2022, 46(6): 986-989. PMID: 35293653.
DOI: 10.1002/cbin.11790.

[39] González-Cubero E, González-Fernández ML, Gutiérrez-Velasco L, et al. Isolation and characterization of exosomes from adipose tissue-derived mesenchymal stem cells[J]. J Anat, 2021, 238(5): 1203-1217. PMID: 33372709. PMCID: PMC8053584. DOI: 10.1111/joa.13365.

（本文编辑：杨丹）

（版权所有©2025 中国当代儿科杂志）