

Application of Exosome for Diagnosis and Treatment of Diseases in the Central Nervous System

Jia Bak¹ and Yun-Sik Choi^{2*}

¹Department of Pharmaceutical Science and Technology, Kyungsoong University, Nam-Gu, Busan 48434, Korea

²Department of Pharmacy, Kyungsoong University, Nam-Gu, Busan 48434, Korea

Received August 10, 2023 /Revised September 21, 2023 /Accepted September 22, 2023

Exosomes are a type of extracellular vesicle containing proteins and messenger and microRNAs; they are secreted by all cell types. Once released, exosomes are selectively taken up by other cells adjacent or at a distance, releasing their contents and reprogramming the target cells. Since exosomes are natural vesicles produced by cells as small sizes, it is generally accepted that exosomes have a non-toxic nature and non-immunogenic behaviors. Recently, exosomes have elicited scientific attention as drug delivery vehicles to the central nervous system. The central nervous system has a blood-brain barrier that makes it difficult for drugs to penetrate. Thus, the blood-brain barrier has been a major obstacle to the development of drugs for treating neurodegenerative diseases. However, accumulating evidence suggests that exosomes can cross the blood-brain barrier primarily through transcytosis. Consequently, exosomes are expected to become a new delivery vehicle that can cross the blood-brain barrier and deliver drugs into the brain parenchyma. In addition, since different types of exosomes are secreted depending on the cell type and disease state, exosomes can also be utilized as biomarkers for the diagnosis of diseases in the central nervous system. In this review, we summarized recent research trends on exosomes, including clinical trials as biomarkers and treatment options for diseases in the central nervous system.

Key words : Blood-brain barrier, central nervous system, diagnosis, drug delivery, exosome

서 론

수십년에 걸쳐 약물의 약동학적(pharmacokinetic), 약력학적(pharmacodynamics) 성질을 개선하기 위한 다양한 연구가 진행되었으며 대표적인 사례로는 리포솜(liposome), 미셀(micelle), 덴드리머(dendrimer), 나노캡슐(nano capsule), 나노스폰지(nanosponge), 펩타이드 기반 나노입자 등 합성 나노 입자 전달 시스템(synthetic nanoparticulate delivery system)을 들 수 있다[12]. 가장 많은 연구가 진행된 리포솜은 생체 적합성, 자기 조립 능력, 대용량 약물 포집 능력 등 약물 전달체로서의 다양한 장점을 보유하고 있다[45]. 그러나, 리포솜은 약리학적 활성이 없고 독성이 매우 적은 것으로 알려진 반면에 최근의 연구들에서는 리포솜이 면역학적으로 비활성적이지 않다는 것이 밝혀지고 있다[32, 51]. 게다가 리포솜은 안정성과 장기 안전성에서

단점이 있고 급성 과민반응을 보일 수 있어 이를 극복하기 위한 새로운 전달체에 대한 연구들이 진행되고 있다[44, 45]. 이러한 노력의 결과로 최근에 세포 외 소포체(extracellular vesicle)에 대한 연구와 관심이 증가하고 있다.

세포 외 소포체는 나노 크기의 세포 유래 소포로서 분비한 세포와 동일한 핵산, 단백질, 지질 등 세포 구성 성분을 함유하고 있고 크기는 40~1,000 nm 범위로 다양하다[10]. 이러한 특징을 바탕으로 세포 외 소포체는 약물의 천연 전달체로서의 역할이 기대되고 있으며, 낮은 면역원성, 우수한 생체 적합성, 혈뇌장벽(blood-brain barrier) 투과 및 유전자 전달 능력 등 리포솜을 비롯한 기존 전달체 대비 많은 장점을 보유하고 있는 것으로 보고되고 있다[10, 36, 47]. 세포 외 소포체는 크기, 생합성, 그리고 특이 단백질의 발현 여부에 따라 엑소솜(exosome), 미세소포(microvesicle) 그리고 사멸소포(apoptotic vesicle)로 분류될 수 있다[10, 14]. 이 중에서 엑소솜은 상대적으로 크기가 작아 직경이 50~150 nm 정도이고 다양한 활성물질의 전달체로 활용 가능하여 조직 수복, 암의 진단 및 치료, 면역 조절 등 다양한 목적으로의 연구가 진행 중에 있다[10, 71]. 본 리뷰 논문에서는 세포 외 소포체 중 최근 의약학적 연구가 급격히 증가하고 있는 엑소솜에 대하여 논하고자 하며 특히 최근 들어 관심도가 증가하고 있는 중추신경계

*Corresponding author

Tel : +82-51-633-4890, Fax : +82-51-663-4809

E-mail : tiana@ks.ac.kr

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

질환을 중심으로 자료를 정리하였다.

본 론

엑소좀의 개념

1960년대 중반에 폐포 세포에서 폐포공간으로 소포와 유사한 구조체가 방출되는 것이 보고된 이래, 1980년대 초반까지 전자현미경을 통해 다양한 세포 외 소포체가 발견되었다[9, 51]. 구조적 발견뿐만 아니라 세포 외 소포체는 비후성 연골의 기질에 잠재되어 있고 골 무기질 침착(bone mineralization)에 역할을 할 수 있는 것으로 보고되는 등 기능적 연구도 활발히 진행되었다[2, 3]. 1981년에는 Trams 등[55]이 5'-nucleotidase 활성을 갖는 형질막-유래 소포를 발견하면서 엑소좀의 개념이 정의되기 시작하였다. 엑소좀은 생리적, 병리적 상태에서 분비되는 직경 50~150 nm 정도의 소포체로 단백질, 핵산 등을 함유하는 지질 이중층으로 둘러싸여 있다. 엑소좀은 뭇소포체(multivesicular body)가 원형질막과 융합되어 방출되고 인접한 또는 거리가 있는 다른 세포에 의해 선택적으로 흡수될 때 내용물이 방출되며 흡수한 세포를 재프로그램화한다[72]. 따라서 엑소좀은 면역반응, 신호 전달, 항원 제시와 같은 다양한 세포 과정에 중요한 역할을 담당하는 세포 간 의사소통의 새로운 방법임을 알 수 있다[72].

엑소좀의 생합성 및 분비를 통한 세포 간 소통

엑소좀의 생합성은 엔도시토시스(endocytosis) 과정과 밀접하게 연관되어 있다. 원형질막의 엔도시토시스 과정을 통해 생성된 초기 엔도솜(endosome)은 내부로 출아(budding)하여 후기 엔도솜을 형성한다. 후기 엔도솜은 내강 소포(intraluminal vesicle)를 함유하는 뭇소포체로 발전한다. 대부분의 뭇소포체는 용해소체와 융합하여 소멸되거나 일부는 원형질막과 융합하여 세포 외로 내강 소포를 분비하며 이를 엑소좀이라 한다[39]. 내강 소포의 생합성과 분비는 막 리모델링에 필수적인 ESCRT (endosomal sorting complex required for transport) 기구에 의해 주로 작동하는데, ESCRT 기구는 소포의 출아와 뭇소포체 내의 내용물의 분류(cargo sorting)를 가능하게 한다. ESCRT 기구는 5가지 핵심 구성 요소, 즉 ESCRT-0, -I, -II, -III 그리고 Vps4에 의존한다[18].

엑소좀은 국소적으로 세포와 세포 사이의 소통 역할을 담당한다. 그러나 엑소좀은 모유, 혈액, 소변, 타액, 양수 및 윤활액에서도 발견되는 것으로 보아 전신적 소통 역할도 담당하는 것으로 보인다[38]. 실제로 암세포에서 유래한 엑소좀은 인접 세포가 아닌 다른 기관의 세포에 영향을 미쳐 암의 전이에 유리한 국소적 환경을 조성하는 것이 밝혀졌다. 예를 들어, 직결장암 세포에서 miR-29a의 발현이 증가되었고, 이들 암세포에서 분비된 엑소좀에 포

함된 miR-29a는 혈관 내피세포의 투과도를 낮추어 간로의 전이를 유발하는 것이 밝혀졌다[27]. 게다가 암환자의 혈액 내 엑소좀의 miRNA 발현 프로파일을 이용한 연구에서 Has-miR-125a-3p를 포함하여 4종의 엑소좀 유래 miRNA가 전립선암의 골 전이 바이오마커로 사용될 수 있음이 확인되었다[28]. 이와는 반대로 엑소좀을 통한 miR-486-5p 전달 감소는 위암의 복막 전이와 관련이 있음이 보고되었다[26]. 이와 같이 엑소좀은 인접세포와의 신호전달은 물론 서로 다른 기관이나 조직의 세포 간에도 선택적 소통 역할을 담당하는 것을 알 수 있으며 이러한 특징을 바탕으로 엑소좀의 진단과 치료 목적으로의 개발이 활발하게 이루어지고 있다. 특히 혈뇌장벽을 갖고 있어 약물의 전달이 쉽지 않은 중추신경계 질병과 관련하여 약물 전달체로서의 엑소좀 연구가 최근에 많은 관심을 받고 있다.

중추신경계로의 약물 전달의 어려움

중추신경계에 발달되어 있는 혈뇌장벽은 약물을 비롯한 많은 물질들이 뇌 실질 조직으로 유입되는 것을 막는 중요한 장벽이다. 혈뇌장벽은 모세혈관 내피세포를 연결하는 중요한 연결 복합체로 치밀 연결(tight junction)과 부착 연결(adherens junction)을 구성하고 있어 약물의 유입과 유출을 조절한다. 또한 중추신경계는 혈뇌장벽 외에도 혈액-뇌척수액 장벽(blood-cerebrospinal fluid barrier), 뇌실 주위기관 장벽(circumventricular organ barrier), 거미막 장벽(arachnoid barrier)을 갖고 있어 약물의 유입을 98%까지 차단하는 것으로 알려져 있다[15, 56]. 이에 따라 중추신경계로 수동확산을 통해 통과될 수 있는 약물은 분자량 400 Da 이하이며 친유성(lipophilicity)이 있어야 한다. 그리고 물질의 표면에서 질소, 산소 원자와 극성 수소가 차지하는 표면적을 나타내는 극성 표면 면적(polar surface area) 또한 매우 중요하다. 극성 표면 면적은 결국 수소결합을 이룰 수 있는 원자의 개수로 표현되며 수소결합을 이룰 수 있는 원자의 수가 증가할수록 중추신경계로의 약물 전달은 어려워진다[35].

최근에는 중추신경계 실질조직으로 약물을 효과적으로 전달하기 위해 많은 대안들이 연구되고 있는데 대표적으로 수용체-매개 통과세포외배출(receptor-mediated transcytosis)과 세포 투과성 펩타이드(cell-penetrating peptide)가 있다[7]. 수용체-매개 통과세포외배출은 뇌 모세혈관 내피세포에 특이적으로 발현되어 있는 수용체를 이용한 전달법으로 대표적으로는 transferrin 수용체, LDL 수용체(low-density lipoprotein receptor), 인슐린 수용체가 있다[42, 70, 75]. Transferrin 수용체 매개 약물 전달은 이미 많은 연구가 진행되었으며 항-인간 transferrin 수용체 항체에 접합된 iduronate 2-sulfatase는 Hunter syndrome을 대상으로 진행한 임상시험에서도 긍정적인 결과를 보였다[18].

인슐린 수용체를 표적으로 개발한 약물의 경우에도 제 1형 점액다당류증(mucopolysaccharidosis type I) 환자들을 대상으로 진행한 임상시험에서 항 인슐린 수용체 항체와 결합한 재조합 α -L-iduronidase를 투여한 결과 인지적, 신체적 안정화를 보임에 따라 인슐린 수용체도 중추신경계로 약물을 전달하는 데 효과적으로 작동함을 확인하였다[16]. 그러나 transferrin 수용체, LDL 수용체, 인슐린 수용체 등 중추신경계로 약물을 전달하는데 사용될 수 있는 수용체는 말초조직에도 존재하므로 약물의 선택적 전달에 한계가 있고 대용량의 약물을 전달하는 데에도 어려움이 있다.

엑소좀을 이용한 중추신경계로의 약물 전달

엑소좀과 리포솜은 모두 지질 이중층으로 둘러싸여 있고 내부에는 수용성 환경을 갖고 있는 공통점이 있다. 그러나 엑소좀은 기본적으로 세포에서 만들어지고 miRNA, 단백질 등을 포집하여 세포간의 소통을 담당하는 천연 물질이라는 점에서 리포솜과 차별성을 갖고 있으며 그 외에도 약물 전달체로서 리포솜 대비 여러 장점을 보유하고 있다. 예를 들어, 엑소좀은 기능적으로 소분자 약물뿐만 아니라 miRNA, 단백질과 같은 바이오 물질도 내부에 포집하여 전달하는데 용이하다[55]. 또한 엑소좀은 세포에서 유래한 것으로 면역원성이 낮아 혈중 반감기가 길고, 유래한 세포에 따라 표면에 특정 단백질을 발현하므로 혈뇌장벽을 포함한 생체막을 투과하는데 효과적이다[22, 68].

엑소좀의 혈뇌장벽 통과에 대한 근거는 생체 외(*in vitro*) 실험과 생체 내(*in vivo*) 실험을 통해 확인되었다. RNA를 엑소좀에 포집하여 중추신경계로 전달하는 연구논문은 2011년에 Alvarez-Erviti 등[1]에 의해 처음 발표되었는데, 먼저 acetylcholine 수용체와 특이적으로 결합하는 rabies viral glycoprotein (RVG) 펩타이드를 엑소좀 표면 단백질인 Lamp2b와 융합하고 이를 수지상세포(dendritic cell)에 발현하도록 하여 수지상세포 유래 엑소좀을 제작하였다. 제작된 엑소좀에 BACE1 siRNA를 전기천공(electroporation)을 통해 도입시킨 후 정맥 내 주입한 결과, 대뇌 피질에서 BACE1 mRNA 발현양이 60% 감소하였고, β -amyloid 1-42도 약 55% 감소함을 확인하였다[1]. 주목할 만한 점으로, RVG 엑소좀을 이용하여 GAPDH siRNA를 전달했을 때 간을 비롯하여 다른 기관에서는 GAPDH 유전자 발현 억제(knockdown)가 발견되지 않았으며, 이러한 결과는 엑소좀을 이용한 표적 치료의 가능성이 높음을 제시한다. 그러나 해당 연구에서는 엑소좀의 혈뇌장벽 투과를 직접적으로 규명하지는 않았고 투과 메커니즘도 제시하지 못하였다.

엑소좀의 혈뇌장벽 투과 메커니즘

엑소좀을 이용한 약물의 중추신경계 전달과 치료적 이용을 위해서는 엑소좀의 혈뇌장벽 투과 메커니즘에 대한 규명이 선행되어야 한다. 물론 중추신경계에 존재하는 세포들도 엑소좀을 분비하는 것으로 밝혀졌으나 엑소좀을 정맥 내로 투여하여 중추신경계로 선택적으로 전달함으로써 신경계 질환을 치료하기 위해서는 관련 연구가 중요하다. 이를 규명하기 위하여 최근에 뇌 미세혈관 내피세포(brain microvascular endothelial cell)의 단층 배양을 이용한 시험관 내 혈뇌장벽 모델이 널리 사용되고 있다. 예를 들어, Chen 등[6]에 의해 진행된 뇌 미세혈관 내피세포를 이용한 혈뇌장벽 모델에서 정상상태에서는 엑소좀이 거의 투과하지 않는 것으로 결과가 도출되었으나 Tumor necrosis factor- α 를 이용한 뇌졸중 유사 모델에서는 엑소좀의 투과가 현저하게 증가하였다. 공초점 현미경(confocal microscopy)을 이용한 기전연구에서 엑소좀은 엔도시토시스를 통해 뇌 미세혈관 내피세포 내로 유입되며 이는 clathrin과 caveolae의존적임을 보고하였다. 흥미로운 점은 정상상태에서 엑소좀은 시험관 내 혈뇌장벽을 투과하지 못하였으나 공초점 현미경을 통해 관찰한 결과, 정상상태에서도 엑소좀은 뇌 미세혈관 내피세포로 엔도시토시스가 활발히 일어남을 확인하였다[6]. 그러나 엔도시토시스가 활발히 일어남에도 불구하고 시험관 내 혈뇌장벽을 투과하지 못한 결과에 대한 메커니즘은 규명하지 못하였다.

엑소좀이 세포 내로 유입된 이후에는 여러 경로를 거칠 수 있다. 흥미롭게도 비만세포인 RBL-2H3세포에서는 엑소좀이 세포 내로 유입된 후 막소포체 내로 축적되는 것이 보고되었다. 이러한 발견은 막소포체는 이를 포함하는 세포에서 엑소좀을 생산하는 역할을 함과 동시에 외부에서 들어온 엑소좀의 저장역할을 수행한다는 것을 보여준다. 따라서 이러한 결과는 엑소좀이 수신세포를 거쳐 다시 다른 세포로 분비될 수 있음을 보여주며 엑소좀이 혈관내피세포의 통과를 통해 혈뇌장벽을 투과할 수 있음을 암시한다[43, 50].

질병 진단을 위한 엑소좀의 활용 가능성

엑소좀은 단백질, 비코딩(non-coding) RNA, mRNA를 갖고 있고 비록 엑소좀을 분비하는 세포의 종류가 달라도 공통적으로 발견되는 단백질들이 있다. 예를 들면, 세포의 골격을 이루는 단백질인 ezrin과 actin, 막소포체의 생성에 관여하는 alix와 TSG101, 막 이송과 융합 단백질인 annexin과 Rab 단백질 등이 이에 해당한다[54]. 반면, 분비세포의 종류에 따라 특이적인 단백질과 RNA를 보유하고 있다는 것도 밝혀졌다. 이러한 특징은 엑소좀이 세포와 세포 사이의 소통에 관여하고, 수신세포와 융합될 때 포집되어 있는 단백질과 mRNA를 이용하여 수신세포의 특성과 역할을 변화시키는 것과 관련이 있다. 예를 들어 비

활성화 상태의 B 세포가 활성화된 B 세포에서 분비된 엑소솜과 융합하여 활성화된 B 세포가 전달한 항원수용체를 세포막에 발현하는 것이 보고된 바 있다[31]. 흥미롭게도 엑소솜에서 높은 농도로 포함되어 있는 miRNA가 엑소솜을 분비한 세포에서는 농도가 엑소솜에 비해 상대적으로 낮거나 심지어는 거의 분석이 어려울 정도로 농도가 낮은 경우도 있는 것으로 밝혀졌다. 이러한 결과는 엑소솜이 생성될 때 특정 miRNA를 선별하여 높은 농도로 포집시킬 수 있음을 제시한다[37].

이러한 분비세포와 엑소솜 간의 특이성은 정상적인 세포뿐만 아니라 특정 질병이 있는 조직의 세포에서도 나타난다. 예를 들어, 앞서 기술한 바와 같이 직결장암 세포에서 miR-29a의 발현이 증가하고, 이들 암세포에서 분비된 엑소솜에 포함된 miR-29a는 간으로의 전이를 유발하는 것이 밝혀졌고, 암환자의 혈액 내 엑소솜의 miRNA 발현 프로파일을 이용한 연구에서 Has-miR-125a-3p를 포함하여 4종의 엑소솜 유래 miRNA가 전립선암의 골 전이 바이오마커로 사용될 수 있음이 확인되었다[27, 28].

중추신경계 질병 바이오마커로서의 엑소솜 연구

세포의 종류와 질병상태에 따른 엑소솜 내용물의 차이, 말초기관에서 질병 바이오마커로서의 엑소솜 연구결과, 그리고 혈뇌장벽을 통과할 수 있는 엑소솜의 특징을 고려할 때 중추신경계 질병의 바이오마커로서 엑소솜의 활용 가능성도 매우 높다고 할 수 있다. 이와 관련하여 중추신경계 질환과 엑소솜의 상관관계에 관하여 다양한 연구 결과가 도출되고 있다. 먼저 Gui 등[17]은 파킨슨병(Parkinson's disease) 환자와 정상인의 뇌척수액에서 추출한 엑소솜을 비교한 결과 파킨슨병 환자에서 miR-153, miR-409-3p, miR-10a-5p, 그리고 let-7g-3p 농도가 유의하게 증가하였음을 보고하였다. Citterio 등[8]은 α -synuclein 경로에 관여하는 여러 miRNA를 분석한 결과 파킨슨병 환자의 엑소솜과 혈청 내 miR-223-3p의 농도가 유의하게 증가함을 관찰하였다. 특히 파킨슨병 환자에서 엑소솜과 혈청 내 miR-223-3p의 농도가 일일레보도파등가용량(daily levodopa equivalent dose)과 유의한 상관성을 보임에 따라 miR-223-3p가 파킨슨병에서 비침습적 바이오마커로 사용될 수 있음을 밝혔다. 엑소솜 내 miRNA 뿐만 아니라 혈청에서 분리된 엑소솜 내의 acetylcholinesterase 활성도 파킨슨병 환자에서 유의하게 감소됨이 보고되었다[46].

알츠하이머병(Alzheimer's disease)은 파킨슨병에 비해 유병률이 높고 많은 연구가 진행됨에 따라 엑소솜을 이용한 바이오마커 연구가 보다 광범위하게 진행되었다. 먼저 Cai 등[4]은 혈장의 엑소솜이 보유하고 있는 328종의 단백질을 분석한 결과, 총 31종의 단백질 양이 변화하였고 이중 증가한 단백질인 Ig-like domain -containing protein (A0A0G2J9Q6), complement C1q subcomponent subunit C

(C1QC), complement component C9 (CO9), platelet glycoprotein Ib beta chain (GP1BB), Ras suppressor protein 1 (RSU1)과 농도가 감소한 단백질인 disintegrin and metalloproteinase domain 10 (ADA10)을 함께 바이오마커로 사용할 때 알츠하이머병에서 인지기능력과 상관성을 보이는 것을 보고하였다. 다른 연구그룹에서는 경도인지장애(mild cognitive impairment)가 있는 환자의 혈청 엑소솜을 분리하여 69종의 단백질을 분석한 결과, fibulin-1 농도가 인지기능과 역(negative)의 상관관계가 있음을 보고하였다[5]. 파킨슨병과 마찬가지로 알츠하이머병에서도 엑소솜 내 miRNA와의 관련성도 많이 보고되고 있다. 먼저 혈장 엑소솜을 이용한 miRNA 연구에서 알츠하이머병이 있는 사람에서는 miRNA-342-3p 농도가 정상인에 비해 약 60%에 불과하며[29], Tan 등[53]이 알츠하이머 환자 150명과 정상인 150명을 대상으로 진행한 연구에서는 miRNA-342-3p 농도 변화가 81.5%의 민감도(sensitivity)와 70.1%의 특이도(specificity)를 보일 만큼 새로운 알츠하이머병의 바이오마커로 사용될 수 있음을 보고하였다. 반면, Rani 등[41]이 97명의 알츠하이머질환 환자를 대상으로 진행한 연구에서는 혈장 엑소솜의 miRNA342-3p와 miRNA-125b-5p가 증가하였고 몬트리올 인지평가(Montreal Cognitive Assessment)의 스코어와 강한 상관성을 나타냈다. 그 외에도 miR-1911-5p, miR-223 등이 알츠하이머병과 관련된 엑소솜의 바이오마커로 연구되고 있으며 엑소솜의 miRNA 변화를 모니터링하는 것이 인지장애 정도를 측정하고 질병의 진행을 예측하는 데 사용할 수 있으므로 향후에도 알츠하이머병에서는 보다 많은 연구가 진행될 것으로 기대된다.

중추신경계 질환에서 엑소솜의 질병 진단에 관한 연구로 파킨슨병과 알츠하이머병 이외에도 뇌졸중과 다발성 경화증(multiple sclerosis) 등 다양한 질환이 연구되고 있다. 먼저 Yang 등[65]은 급성 허혈성 뇌졸중(acute ischemic stroke) 환자 10명과 정상인 10명의 혈장 엑소솜에서 circular RNA를 분석하였다. 그 결과, hsa_circ_0112036, has_circ_0066867, hsa_circ_0093708, 그리고 hsa_circ_0041685가 급성 허혈성 뇌졸중의 진행에 관여하므로 진단의 목적으로 사용할 수 있음을 제시하였다. Song 등[48]도 급성 허혈성 뇌졸중 환자와 정상인에서 분리한 엑소솜을 이용하여 연구한 결과, miR-152-3p 농도가 급성 허혈성 뇌졸중 환자에서 유의하게 낮음을 보고하였다. 특히 miR-152-3p는 만성기보다는 급성기에 보다 뚜렷하게 감소하는 것으로 보아 miR-152-3p는 급성 허혈성 뇌졸중의 예방 목적으로도 활용할 수 있음을 제안하였다. 그 외에도 뇌졸중 환자의 혈청에서 분리한 엑소솜에서 lnc-CRKL-2와 lnc-NTRK3-4는 증가하는 반면, RPS6KA2-AS1과 lnc-CALM1-7은 감소하는 것이 보고되었다[65].

파킨슨병, 알츠하이머병 그리고 뇌졸중과는 달리 다발성 경화증에 대해서는 엑소솜에 관한 연구가 상대적으로

많이 진행되지 못하였다. 그러나 Ebrahimkhani 등[11]에 의해 25명의 다발성 경화증 환자와 11명의 건강한 사람을 대상으로 진행된 연구에서 9종의 miRNA가 재발완화형 (relapsing-remitting) 다발성 경화증과 일차 진행형(primary progressive) 다발성 경화증 환자에서 차이가 나고 특히 miR-223-3p, miR-485-3p 그리고 miR-30b-5p 조합은 재발완화형으로부터 진행형을 예상하는데 95%의 정확도를 보이는 것으로 보고하였다.

이상의 연구들에서 알 수 있듯이 엑소솜은 말초기관에서 발생하는 질병뿐만 아니라 중추신경계에서 발생하는 질환의 바이오마커로도 활용 가능성이 매우 높음을 알 수 있다. 특히 엑소솜 내에 포함된 단백질도 중요한 바이오마커로 활용될 수 있으나 miRNA를 비롯한 다양한 RNA가 중추신경계 질환의 진단에 활용될 수 있다. 현재까지 보고된 중추신경계 질환에서 엑소솜의 바이오마커 활용 가능성을 제시한 주요 연구 결과를 Table 1에 정리하였다.

주요 중추신경계 질병 치료에 엑소솜의 활용

말초질환과는 달리 알츠하이머병과 같은 중추신경계 질환은 치료제 개발이 쉽지 않았다. 중추신경계 질환 치료제 개발에는 여러 어려움이 있을 수 있으나 소분자 유기화합물의 경우 98% 이상이 혈뇌장벽을 투과하기 어렵고 바이오의약품의 경우에는 투과도가 더 낮은 것이 중요한 원인 중 하나이다[34]. 이에 따라 새로운 약물전달체를 개발하기 위한 연구가 많이 진행되었으며 최근에는 엑소솜을 활용한 중추신경계 질환 치료제 연구로 동물실험은

물론 임상시험도 활발하게 진행되고 있다.

먼저 Haney 등[19]은 대식세포에서 유래한 엑소솜에 catalase를 포집시킨 후 비강 또는 정맥으로 투여한 결과 전체 뇌조직에 전달되었고 특히 신경세포와 미세아교세포 등에 전달됨이 확인되었다. 또한 같은 연구에서 catalase를 포집한 엑소솜은 6-hydroxydopamine을 이용한 파킨슨병 유도 동물에서 신경세포를 효과적으로 보호함을 확인하였다. Qu 등[39]에 의해 진행된 연구에서는 혈액으로부터 분리한 엑소솜에 도파민을 포집한 후 주입할 때 뇌 조직 내 도파민 농도가 15배 이상 증가함을 확인하였고 도파민을 직접 주사하는 방법과 비교할 때 전신적 독성도 낮아지는 것으로 보고하였다. 이 외에 miRNA를 이용한 연구에서는 miR-188-3p를 포집한 엑소솜을 파킨슨병을 유도한 설치류에 주입하였을 때 흑색질(substantia nigra)에서의 신경세포 손상을 감소시키는 것으로 보고되었다 [25]. 그러나 미국 국립보건원과 식품의약청이 구축하여 운영하는 임상시험 데이터베이스(clinicaltrials.gov)를 기준으로 볼 때 아직까지는 파킨슨병 환자를 대상으로 하는 엑소솜 치료제 임상시험은 진행된 바 없다.

진단 목적으로 하는 연구 동향과 마찬가지로 중추신경계 질환의 엑소솜을 이용한 치료제 연구는 알츠하이머병에서 가장 활발하게 이루어지고 있다. Wang 등[58]에 의해 진행된 연구에서 curcumin을 포함하는 대식세포-유래 엑소솜을 알츠하이머 동물모델에 투여할 때 AKT/GSK-3β 경로를 활성화하여 Tau 단백질의 인산화를 감소시켜 알츠하이머병 증상을 완화시키는 것으로 보고하였다. 특히 해당 연구에서는 엑소솜이 혈뇌장벽을 투과하는데 매우

Table 1. Recent researches on exosomes as biomarkers in central nervous system diseases

Disease	Sources of exosome	Biomarkers in exosome cargos	Reference
Parkinson's disease	Cerebrospinal fluid (CSF)	miR-1, miR-126, miR-19b-3p↓ miR-153, miR-409-3p, miR-10a-5p, miR-127-3p, miR-433, miR-370, miR873-3p↑	[17]
	Serum	Acetylcholinesterase activity↓	[46]
	Serum	miR-223-3p↑	[8]
Alzheimer's disease	Plasma	Up: A0A0G2JRQ6, C1QC, C09, GP1BB, RSU1 Down: ADA10	[4]
	Serum	Fibulin-1	[5]
	Serum	miRNA-342-3p	[29]
	Cerebrospinal fluid (CSF)	miR-1911-5p	[65]
	Serum	miR-223 ↓ Total tau, P-T181-tau, P-S396, Aβ 1-42↑	[60] [13]
Stroke	Serum	Circular RNAs (hsa_circ_0112036, etc.) ↑	[66]
	Serum	miR-152-3p↓	[48]
	Serum	Lnc-CRKL-2, lnc-NTRK3-4↑ RPS6KA2-AS1, lnc-CALM1-7↓	[64]
	Multiple sclerosis	Serum	miR-223-3p, miR-485-3p, miR-30b-5p

효과적이며 수용체-매개 통과세포외배출을 통해 뇌 조직으로 전달됨을 제시하였다. Nakano 등[33]은 골수-유래 중간엽 줄기세포(bonemarrow-derived mesenchymal stem cells)에서 miR-146a를 포함하는 엑소좀이 분비되고 분비된 엑소좀은 성상세포(astrocyte)로 유입되어 NF- κ B를 억제하는 것을 보고하였다. 이러한 메커니즘을 통해 알츠하이머 동물 모델에서 측뇌실 내로 주입된 골수-유래 중간엽 줄기세포는 해마에서 miR-146a 농도를 높여 인지능이 개선하는 것으로 관찰되었다. 그 외에도 GDF-15 (growth differentiation factor-15)를 포함하는 엑소좀, 미세아교에서 분비된 엑소좀 등이 세포의 사멸을 감소시키고 A β 플라그의 축적을 감소시키는 등 여러 기전을 통해 알츠하이머병의 증상을 완화시키는 것으로 보고되었다[64].

최근에 알츠하이머병 환자를 대상으로 엑소좀을 적용하는 임상 I/II 상 시험이 시작되었다. 해당 시험에서는 동종 지방 중간엽 줄기세포(allogenic adipose mesenchymal stem cells)에서 유래된 엑소좀을 경증~중등도 치매 증상을 보이는 알츠하이머 환자들을 대상으로 비강으로 12주간 점적 투여한 후 안전성과 인지능력 개선 정도를 평가하는 연구이다(NCT04388982). 해당 연구는 엑소좀의 투여 용량을 5, 10 또는 20 μ g으로 주 2회 투여하며 3개월 내 간과 신장의 기능을 이용한 안전성 평가와 투여 후 48주까지의 인지능과 삶의 질, 그리고 MRI, PET-CT를 이용한 뇌영상 분석이 포함되어 있다. 그러나 아직까지 결과는 발표되지 않았다.

기타 중추신경계 질병 치료에 엑소좀의 활용

파킨슨병과 알츠하이머병 외에도 다양한 중추신경계 질환에서 엑소좀의 치료제 이용 가능성에 대한 연구가 진행되고 있다. 먼저 뇌졸중 모델에서는 lentivirus를 이용하여 miR-17-92를 풍족하게 발현하고 있는 엑소좀을 뇌졸중 유도 24시간 후 투여한 결과 신경 가소성(plasticity), 축삭의 연장(axonal extension), 축삭의 수초화(myelination)가 개선되고 뇌졸중 후 기능이 회복되었으며 메커니즘으로는 PI3K/Akt/mTOR 경로의 활성화가 관여하는 것으로 보고되었다[62]. 흥미롭게도 최근에 허혈성 뇌졸중에 의해 페롭토시스(ferroptosis)를 통한 세포사멸이 관찰되었고 페롭토시스 진행의 중요 유전자인 CHAC1이 허혈성 뇌졸중 이후 신경세포에서 발현되었다. 해당 연구에서 Wang 등[59]은 miR-760-3p가 CHAC1 발현을 억제하고 miR-760-3p를 포함하는 지방-유래 중간엽 줄기세포의 엑소좀을 비강으로 투여한 결과 페롭토시스가 감소하고 신경행동학적 기능이 개선됨을 확인하였다. 또한 미세아교세포에서 분리한 miR-124를 포함하는 엑소좀도 뇌졸중 모델에서 경색용적(infarct volume)을 감소시키고 행동장애를 감소시키는 것으로 발표되었다[49].

뇌졸중에서는 엑소좀을 활용한 진단과 치료 목적의 입

상 연구가 진행 중이다. 먼저 뇌졸중 환자 80명을 대상으로 입원 2일째, 퇴원(또는 2개월 후) 그리고 6개월이 되는 시기에 혈액을 채취하여 혈청 내의 세포외소포체를 분석하여 예후와의 상관성을 분석하는 연구가 진행 중이다(NCT05370105). 치료 목적으로는 miR-124를 포함하는 동종 중간엽 줄기세포 유래 엑소좀을 급성 허혈성 뇌졸중 환자에 뇌졸중 1개월 후에 뇌 실질조직으로 직접 투여하여 행동장애 개선효과를 연구하는 임상시험이 진행 중이다(NCT03384433).

그 외에도 엑소좀의 특성을 이용하여 다양한 연구가 진행되었다. Curcumin을 함유하는 엑소좀을 비강을 통해 투여할 때 lipopolysaccharide에 의한 대뇌 염증을 억제하였고, STAT-3 저해제인 JSI-124를 함유하는 엑소좀은 뇌 조직내로 이식한 아교모세포종(glioblastoma) 세포의 증식을 유의하게 억제하였다[74]. 기타 항생물질과 항산화물질을 이용한 연구도 진행되었는데 Li 등[23]은 혈뇌장벽을 효율적으로 투과하도록 하기 위하여 뇌 미세혈관 내피세포에 높게 발현되어 있는 LRP1을 인지하는 Angiopep-2를 제작하였고, 이를 엑소좀 표면에 발현하고 항생물질인 rifampin을 내부에 충전(ANG-Exo-RIF)하여 중추신경계 질환 연구에 이용하였다. 그들의 연구에서 Angiopep-2를 발현하는 엑소좀이 그렇지 않은 엑소좀에 비해 대뇌피질에 효과적으로 전달되는 것을 밝혔으며 항균 효과를 나타내는 MIC 값은 엑소좀에 충전된 rifampin을 투여하는 것과 rifampin을 직접 투여하는 군에서 차이가 없음을 보고하였다[23]. 이러한 결과는 ANG-Exo-RIF가 중추신경계 결핵(central nervous system tuberculosis)에 효과적으로 사용될 수 있음을 제시한다. 현재까지 보고된 중추신경계 질환에서 엑소좀의 약물전달을 통한 질병치료에의 활용 가능성을 제시한 주요 연구 결과를 Table 2에 제시하였다.

결론

1960년대 중반, 폐포 세포에서 폐포공간으로 소포와 유사한 구조체가 방출되는 것이 처음 보고된 이래로 엑소좀의 생합성, 구조와 조성물, 생리적/병리적 역할에 관한 연구에서 획기적인 진전을 이루었다. 엑소좀은 상대적으로 작은 크기, 낮은 독성 유발 가능성과 비면역원성, 그리고 모든 세포에서 생성되며 단백질과 RNA를 이용하여 세포간 소통을 담당하는 특징으로 인해 표적 치료제 개발을 위한 전달체로 많은 관심을 받아왔다[30]. 특히 약물의 투과가 매우 어려운 중추신경계 질환에의 적용 가능성이 동물실험과 임상시험을 통해 증명되고 있으며 중추신경계 질환의 진단 바이오마커로서의 활용 가능성도 함께 주목 받고 있다. 그러나 실제 중추신경계 질환 치료에 활용하려면 극복해야 할 과제들도 남아 있다. 먼저 중추신경계 질환들은 특정 신경세포의 손상 또는 사멸과 관련이

Table 2. Recent researches on exosomes as drugs carriers for the treatment of diseases in the central nervous system

Target disease	Source of exosome	Cargo	Mechanism	Reference
Parkinson disease	Macrophage; Raw 264.7	Catalase	Elimination of ROS Anti-inflammation: decrease in CD11b and GFAP Neuroprotection: dopaminergic neurons	[19]
	Blood	Dopamine	Amelioration of Parkinson's disease phenotypes in mice	[40]
	Adipose-derived stem cells	miR-188-3p	Suppression of autophagy and inflammation Reduced damage of neurons in the substantia nigra.	[25]
Alzheimer's disease	Macrophage; Raw 264.7	Curcumin	Enhancing cognitive function Inhibition Tau phosphorylation	[58]
	Bone marrow-derived mesenchymal stem cells (BM-MSC)	miR-146a	Improvement of cognition Increase of synaptic density Anti-inflammation: decreased ratio of M1/M2 activated microglia and decrease of NK-kB	[33]
	BM-MSC	Growth differentiation factor-15 (GDF-15)	Suppression of cell apoptosis and inflammation in A β 42-treated SH-SY5Y cell Amyloid degradation	[63]
	M2 microglia	–	Restoration of MMP disruption Decrease of mitophagy maker (LC3II, beclin1) and Ab1-24 expression	[24]
Stroke	BM-MSC	–	Neurite remodeling, neurogenesis, angiogenesis	[63]
	Multipotent MSC	miR-133b	Promotion of neurite outgrowth	[61]
	Multipotent MSC	miR-17-92	Increase of axonal extension and myelination	[62]
	Rat Serum	–	Inhibition of endothelia cell apoptosis and autophagy-mediated BBB breakdown	[20]
	Adipose-derived stem cells	Anti-CHAC1 gene	Inhibition of ferroptosis	[59]
	M2 microglia	miR-124	Reduction of infarct volume Attenuation of behavior deficits	[49]
Brain inflammatory-mediated disease	Mouse lymphoma cell; EL-4	Curcumin JSI-124; Signal transducer and activator of transcription 3 (STAT3) inhibitor	Inhibition of LPS-induced inflammation: reduced number of activated inflammatory microglial cells Delay brain tumor growth	[74]
Traumatic brain injury	BV2 microglia	miR-124-3p	Anti-inflammation: reduction of pro-inflammatory cytokines/ induction of anti-inflammatory cytokines Promotion of neurite outgrowth	[21]
Intracerebral Hemorrhage	BM-MSC	miR-21	Reduction of hematoma area and cell apoptosis Cytotoxicity on PC12: targeting for <i>TRPM7</i>	[69]
CNS Tuberculosis	BM-MSC	Rifampicin	Angiopep-2 modified exosomes: improvement of BBB permeability	[23]
Multiple sclerosis	Macrophage; Raw 264.7	Resveratrol	Anti-inflammation: reduction of cytokines	[73]

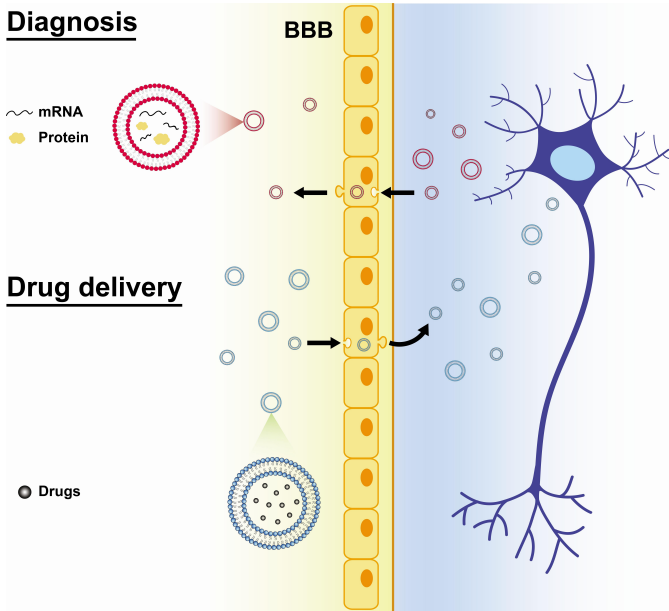


Fig. 1. Schematic overview of clinical availability of exosomes. Exosomes generated by cells in the central nervous system such as neurons can cross blood brain barrier (BBB) by transcytosis. Since exosomes may contain mRNA and proteins reflecting disease status, by analyzing its contents diseases in the central nervous system can be diagnosed. In addition, exosomes can also be used as drug carriers. Especially, the central nervous system is not easy to deliver drugs because it has BBB. However, exosomes can pass through BBB, which can greatly increase the efficiency of drug delivery into the central nervous system.

있는 경우가 많다. 예를 들어 파킨슨병은 흑색질에서 도파민 분비 신경세포의 선택적 소실에 의해 주요 증상이 나타난다. 따라서 혈뇌장벽을 통과하여 약물전달이 필요한 표적 세포에 도달할 수 있는 기술이 개발될 때 중추신경계 질환의 표적 치료가 가능하다. 이와 더불어 엑소좀을 임상에서 사용할 수 있도록 하기 위해서는 대량생산 기술 개발이 필요하다. 특히 의약품의 생산에 있어 일관된 제품을 생산하는 것이 중요하므로 엑소좀을 일관되게 대량 생산할 수 있는 재연성 확보가 필수적이다. 마지막으로 엑소좀을 이용한 중추신경계 질환의 임상연구도 최근에 시작되었으므로 앞으로 많은 연구개발을 통해 임상 시험에서의 효능과 안전성 검증이 필요하다.

종합하면, 엑소좀은 리포좀을 비롯한 기존의 약물 전달체에 비해 다양한 장점을 갖고 있어 중추신경계로의 약물 전달체로 많은 주목을 받고 있다. 특히 앞에서 설명한 바와 같이 엑소좀은 혈뇌장벽을 투과할 수 있어 중추신경계 질환의 치료를 위한 약물 전달체로서의 기능뿐만 아니라 진단을 위한 바이오마커로서의 활용 가능성도 매우 높다 (Fig. 1). 따라서 파킨슨병, 알츠하이머병 등 치료가 어려운 중추신경계 질환의 조기 진단과 치료 목적으로의 활용을 통해 지금까지 극복하지 못했던 질환들을 극복하는데 크게 기여할 것으로 기대된다.

감사의 글

이 논문은 2021 학년도 경성대학교 학술연구비지원 (2021-039)에 의하여 연구되었음.

The Conflict of Interest Statement

The authors declare that they have no conflicts of interest with the contents of this article.

References

1. Alvarez-Erviti, L., Seow, Y., Yin, H., Betts, C., Lakkhal, S. and Wood, M. J. 2011. Delivery of siRNA to the mouse brain by systemic injection of targeted exosomes. *Nat. Biotechnol.* **29**, 341-345.
2. Anderson, H. C. 1969. Vesicles associated with calcification in the matrix of epiphyseal cartilage. *J. Cell Biol.* **41**, 59-72.
3. Bonucci, E. 1967. Fine structure of early cartilage calcification. *J. Ultrastruct. Res.* **20**, 33-50.
4. Cai, H., Pang, Y., Wang, Q., Qin, W., Wei, C., Li, Y., Li, T., Li, F., Wang, Q., Li, Y., Wei, Y. and Jia, L. 2022. Proteomic profiling of circulating plasma exosomes reveals novel biomarkers of Alzheimer's disease. *Alzheimers Res. Ther.* **14**, 181.
5. Chen, B., Song, L., Yang, J., Zhou, W. Y., Cheng, Y. Y. and Lai, Y. J. 2023. Proteomics of serum exosomes identified fibulin-1 as a novel biomarker for mild cognitive impairment. *Neural. Regen. Res.* **18**, 587-593.
6. Chen, C. C., Liu, L., Ma, F., Wong, C. W., Guo, X. E., Chacko, J. V., Farhoodi, H. P., Zhang, S. X., Zimak, J., Ségaliny, A., Riazifar, M., Pham, V., Digman, M. A., Pone, E. J. and Zhao, W. 2016. Elucidation of exosome migration across the blood-brain barrier model *in vitro*. *Cell Mol. Bioeng.* **9**, 509-529.
7. Choi, H., Choi, K., Kim, D. H., Oh, B. K., Yim, H., Jo, S. and Choi, C. 2022. Strategies for targeted delivery of

- exosomes to the brain: advantages and challenges. *Pharmaceutics* **14**, 672.
8. Citterio, L. A., Mancuso, R., Agostini, S., Meloni, M. and Clerici, M. 2023. Serum and exosomal miR-7-1-5p and miR-223-3p as possible biomarkers for Parkinson's disease. *Biomolecules* **13**, 865.
 9. Couch, Y., Buzàs, E. I., Di Vizio, D., Gho, Y. S., Harrison, P., Hill, A. F., Lötvall, J., Raposo, G., Stahl, P. D., Théry, C., Witwer, K. W. and Carter, D. R. F. 2021. A brief history of nearly EV-erything - The rise and rise of extracellular vesicles. *J. Extracell. Vesicles* **10**, e12144.
 10. Du, S., Guan, Y., Xie, A., Yan, Z., Gao, S., Li, W., Rao, L., Chen, X. and Chen, T. 2023. Extracellular vesicles: a rising star for therapeutics and drug delivery. *J. Nanobiotechnology* **21**, 231.
 11. Ebrahimkhani, S., Vafaei, F., Young, P. E., Hur, S. S. J., Hawke, S., Devenney, E., Beadnall, H., Barnett, M. H., Suter, C. M. and Buckland, M. E. 2017. Exosomal microRNA signatures in multiple sclerosis reflect disease status. *Sci. Rep.* **7**, 14293.
 12. Elsharkasy, O. M., Nordin, J. Z., Hagey, D. W., de Jong, O. G., Schiffelers, R. M., Andaloussi, S. E. and Vader, P. 2020. Extracellular vesicles as drug delivery systems: why and how? *Adv. Drug. Deliv. Rev.* **159**, 332-343.
 13. Fiandaca, M. S., Kapogiannis, D., Mapstone, M., Boxer, A., Eitan, E., Schwartz, J. B., Abner, E. L., Petersen, R. C., Federoff, H. J., Miller, B. L. and Goetzl, E. J. 2015. Identification of preclinical Alzheimer's disease by a profile of pathogenic proteins in neurally derived blood exosomes: A case-control study. *Alzheimers Dement.* **11**, 600-607.
 14. Geng, T., Pan, P., Leung, E., Chen, Q., Chamley, L. and Wu, Z. 2021. Recent advancement and technical challenges in developing small extracellular vesicles for cancer drug delivery. *Pharm. Res.* **38**, 179-197.
 15. Ghorai, S. M., Deep, A., Magoo, D., Gupta, C. and Gupta, N. 2023. Cell-penetrating and targeted peptides delivery systems as potential pharmaceutical carriers for enhanced delivery across the blood-brain barrier (BBB). *Pharmaceutics* **15**, 1999.
 16. Giugliani, R., Giugliani, L., de Oliveira Poswar, F., Donis, K. C., Corte, A. D., Schmidt, M., Boado, R. J., Nestratil, I., Nguyen, C., Chen, S. and Pardridge, W. M. 2018. Neurocognitive and somatic stabilization in pediatric patients with severe Mucopolysaccharidosis Type I after 52 weeks of intravenous brain-penetrating insulin receptor antibody-iduronidase fusion protein (*valanafusp alpha*): an open label phase 1-2 trial. *Orphanet J. Rare Dis.* **13**, 110.
 17. Gui, Y., Liu, H., Zhang, L., Lv, W. and Hu, X. 2015. Altered microRNA profiles in cerebrospinal fluid exosome in Parkinson disease and Alzheimer disease. *Oncotarget* **6**, 37043-37053.
 18. Gurung, S., Perocheau, D., Touramanidou, L. and Baruteau, J. 2021. The exosome journey: from biogenesis to uptake and intracellular signalling. *Cell Commun. Signal.* **19**, 47.
 19. Haney, M. J., Klyachko, N. L., Zhao, Y., Gupta, R., Plotnikova, E. G., He, Z., Patel, T., Piroyan, A., Sokolsky, M., Kabanov, A. V. and Batrakova, E. V. 2015. Exosomes as drug delivery vehicles for Parkinson's disease therapy. *J. Control. Release* **207**, 18-30.
 20. Huang, L. Y., Song, J. X., Cai, H., Wang, P. P., Yin, Q. L., Zhang, Y. D., Chen, J., Li, M., Song, J. J., Wang, Y. L., Luo, L., Wang, W. and Qi, S. H. 2022. Healthy serum-derived exosomes improve neurological outcomes and protect blood-brain barrier by inhibiting endothelial cell apoptosis and reversing autophagy-mediated tight junction protein reduction in rat stroke model. *Front. Cell Neurosci.* **16**, 841544.
 21. Huang, S., Ge, X., Yu, J., Han, Z., Yin, Z., Li, Y., Chen, F., Wang, H., Zhang, J. and Lei, P. 2018. Increased miR-124-3p in microglial exosomes following traumatic brain injury inhibits neuronal inflammation and contributes to neurite outgrowth via their transfer into neurons. *FASEB. J.* **32**, 512-528.
 22. Kooijmans, S. A., Vader, P., van Dommelen, S. M., van Solinge, W. W. and Schiffelers, R. M. 2012. Exosome mimetics: a novel class of drug delivery systems. *Int. J. Nanomedicine* **7**, 1525-1541.
 23. Li, H., Ding, Y., Huang, J., Zhao, Y., Chen, W., Tang, Q., An, Y., Chen, R. and Hu, C. 2023. Angiopep-2 modified exosomes load rifampicin with potential for treating central nervous system tuberculosis. *Int. J. Nanomedicine* **18**, 489-503.
 24. Li, N., Shu, J., Yang, X., Wei, W. and Yan, A. 2022. Exosomes derived from M2 microglia cells attenuates neuronal impairment and mitochondrial dysfunction in Alzheimer's disease through the PINK1/Parkin pathway. *Front. Cell Neurosci.* **16**, 874102.
 25. Li, Q., Wang, Z., Xing, H., Wang, Y. and Guo, Y. 2021. Exosomes derived from miR-188-3p-modified adipose-derived mesenchymal stem cells protect Parkinson's disease. *Mol. Ther. Nucleic Acids.* **23**, 1334-1344.
 26. Lin, X. M., Wang, Z. J., Lin, Y. X. and Chen, H. 2021. Decreased exosome-delivered miR-486-5p is responsible for the peritoneal metastasis of gastric cancer cells by promoting EMT progress. *World J. Surg. Oncol.* **19**, 312.
 27. Liu, K., Dou, R., Yang, C., Di, Z., Shi, D., Zhang, C., Song, J., Fang, Y., Huang, S., Xiang, Z., Zhang, W., Wang, S. and Xiong, B. 2023. Exosome-transmitted miR-29a induces colorectal cancer metastasis by destroying the vascular endothelial barrier. *Carcinogenesis* **44**, 356-367.
 28. Lu, Z., Hou, J., Li, X., Zhou, J., Luo, B., Liang, S., Lo, R. K., Wong, T. M. and Kuang, G. M. 2022. Exosome-derived miRNAs as potential biomarkers for prostate bone metastasis. *Int. J. Gen. Med.* **15**, 5369-5383.
 29. Lugli, G., Cohen, A. M., Bennett, D. A., Shah, R. C., Fields, C. J., Hernandez, A. G. and Smalheiser, N. R. 2015. Plasma exosomal miRNAs in persons with and without Alzheimer disease: altered expression and prospects for biomarkers. *PLoS One* **10**, e0139233.
 30. Malekian, F., Shamsian, A., Kodam, S. P. and Ullah, M. 2022. Exosome engineering for efficient and targeted drug

- delivery: Current status and future perspective. *J. Physiol.* doi: 10.1113/JP282799.
31. McLellan, A. D. 2009. Exosome release by primary B cells. *Crit. Rev. Immunol.* **29**, 203-217.
 32. Metselaar, J. M. and Storm, G. 2005. Liposomes in the treatment of inflammatory disorders. *Expert Opin. Drug Deliv.* **2**, 465-476.
 33. Nakano, M., Kubota, K., Kobayashi, E., Chikenji, T. S., Saito, Y., Konari, N. and Fujimiya, M. 2020. Bone marrow-derived mesenchymal stem cells improve cognitive impairment in an Alzheimer's disease model by increasing the expression of microRNA-146a in hippocampus. *Sci. Rep.* **10**, 10772.
 34. Partridge, W. M. 2020. Treatment of Alzheimer's disease and blood-brain barrier drug delivery. *Pharmaceuticals (Basel)* **13**, 394.
 35. Pajouhesh, H. and Lenz, G. R. 2005. Medicinal chemical properties of successful central nervous system drugs. *NeuroRx.* **2**, 541-553.
 36. Pan, R., Chen, D., Hou, L., Hu, R. and Jiao, Z. 2023. Small extracellular vesicles: a novel drug delivery system for neurodegenerative disorders. *Front. Aging Neurosci.* **15**, 1184435.
 37. Pigati, L., Yaddanapudi, S. C., Iyengar, R., Kim, D. J., Hearn, S. A., Danforth, D., Hastings, M. L. and Duelli, D. M. 2010. Selective release of microRNA species from normal and malignant mammary epithelial cells. *PLoS One* **5**, e13515.
 38. Qin, J. and Xu, Q. 2014. Functions and application of exosomes. *Acta. Pol. Pharm.* **71**, 537-543.
 39. Qiu, Y., Li, P., Zhang, Z. and Wu, M. 2021. Insights into exosomal non-coding RNAs sorting mechanism and clinical application. *Front. Oncol.* **11**, 664904.
 40. Qu, Ma., Lin, Q., Huang, L., Fu, Y., Wang, L., He, S., Fu, Y., Yang, S., Zhang, Z., Zhang, L. and Sun, X. 2018. Dopamine-loaded blood exosomes targeted to brain for better treatment of Parkinson's disease. *J. Control. Release* **287**, 156-166.
 41. Rani, A., O'shea, A., Ianov, L., Cohen, R. A., Woods, A. J. and Foster, T. C. 2017. miRNA in circulating microvesicles as biomarkers for age-related cognitive decline. *Front. Aging Neurosci.* **9**, 323.
 42. Re, F., Cambianica, I., Sesana, S., Salvati, E., Cagnotto, A., Salmons, M., Couraud, P. O., Moghimi, S. M., Masserini, M. and Sancini, G. 2011. Functionalization with ApoE-derived peptides enhances the interaction with brain capillary endothelial cells of nanoliposomes binding amyloid-beta peptide. *J. Biotechnol.* **156**, 341-346.
 43. Record, M., Subra, C., Silvente-Poirot, S. and Poirot, M. 2011. Exosomes as intercellular signalosomes and pharmacological effectors. *Biochem. Pharmacol.* **81**, 1171-1182.
 44. Sadeghi, S., Tehrani, F. R., Tahmasebi, S., Shafiee, A. and Hashemi, S. M. 2023. Exosome engineering in cell therapy and drug delivery. *Inflammopharmacology* **31**, 145-169.
 45. Sercombe, L., Veerati, T., Moheimani, F., Wu, S. Y., Sood, A. K. and Hua, S. 2015. Advances and challenges of liposome assisted drug delivery. *Front. Pharmacol.* **6**, 286.
 46. Shim, K. H., Go, H. G., Bae, H., Jeong, D. E., Kim, D., Youn, Y. C., Kim, S., An, S. S. A. and Kang, M. J. 2021. Decreased exosomal acetylcholinesterase activity in the plasma of patients with Parkinson's disease. *Front. Aging Neurosci.* **13**, 665400.
 47. Soleymani, T., Chen, T. Y., Gonzalez-Kozlova, E. and Dogra, N. 2023. The human neurosecretome: extracellular vesicles and particles (EVPs) of the brain for intercellular communication, therapy, and liquid-biopsy applications. *Front. Mol. Biosci.* **10**, 1156821.
 48. Song, P., Sun, H., Chen, H., Wang, Y. and Zhang, Q. 2020. Decreased serum exosomal miR-152-3p contributes to the progression of acute ischemic stroke. *Clin. Lab.* **66**, doi: 10.7754/Clin.Lab.2020.200106.
 49. Song, Y., Li, Z., He, T., Qu, M., Jiang, L., Li, W., Shi, X., Pan, J., Zhang, L., Wang, Y., Zhang, Z., Tang, Y. and Yang, G. Y. 2019. M2 microglia-derived exosomes protect the mouse brain from ischemia-reperfusion injury via exosomal miR-124. *Theranostics* **9**, 2910-2923.
 50. Subra, C., Grand, D., Laulagnier, K., Stella, A., Lambeau, G., Paillasse, M., De Medina, P., Monsarrat, B., Perret, B., Silvente-Poirot, S., Poirot, M. and Record, M. 2010. Exosomes account for vesicle-mediated transcellular transport of activatable phospholipases and prostaglandins. *J. Lipid Res.* **51**, 2105-2120.
 51. Sun, C. N. 1966. Lattice structures and osmiophilic bodies in the developing respiratory tissue of rats. *J. Ultrastructure Res.* **15**, 380-388.
 52. Szebeni, J. and Moghimi, S. M. 2009. Liposome triggering of innate immune responses: a perspective on benefits and adverse reactions. *J. Liposome Res.* **19**, 85-90.
 53. sTan, L., Yu, J. T., Tan, M. S., Liu, Q. Y., Wang, H. F., Zhang, W., Jiang, T. and Tan, L. 2014. Genome-wide serum microRNA expression profiling identifies serum biomarkers for Alzheimer's disease. *J. Alzheimers Dis.* **40**, 1017-1027.
 54. Taylor, D. D. and Gercel-Taylor, C. 2014. Exosome platform for diagnosis and monitoring of traumatic brain injury. *Philos. Trans. R. Soc. B Biol. Sci.* **369**, doi: 10.1098/rstb.2013.0503.
 55. Trams, E. G., Lauter, C. J., Salem, N. Jr. and Heine, U. 1981. Exfoliation of membrane ecto-enzymes in the form of micro-vesicles. *Biochim. Biophys. Acta.* **645**, 63-70.
 56. Treat, L. H., McDannold, N., Zhang, Y., Vykhotseva, N. and Hynynen, K. 2012. Improved anti-tumor effect of liposomal doxorubicin after targeted blood-brain barrier disruption by MRI-guided focused ultrasound in rat glioma. *Ultrasound Med. Biol.* **38**, 1716-1725.
 57. Valadi, H., Ekstrom, K., Bossios, A., Sjostrand, M., Lee, J. J. and Lotvall, J. O. 2007. Exosome-mediated transfer of mRNAs and microRNAs is a novel mechanism of genetic exchange between cells. *Nat. Cell Biol.* **9**, 654-659.
 58. Wang, H., Sui, H., Zheng, Y., Jiang, Y., Shi, Y., Liang,

- J. and Zhao, L. 2019. Curcumin-primed exosomes potently ameliorate cognitive function in AD mice by inhibiting hyperphosphorylation of the Tau protein through the AKT/GSK-3 β pathway. *Nanoscale* **11**, 7481-7496.
59. Wang, Y., Niu, H., Li, L., Han, J., Liu, Z., Chu, M., Sha, X. and Zhao, J. 2023. Anti-CHAC1 exosomes for nose-to-brain delivery of miR-760-3p in cerebral ischemia/reperfusion injury mice inhibiting neuron ferroptosis. *J. Nanobiotechnology* **21**, 109.
60. Wei, H., Xu, Y., Xu, W., Zhou, Q., Chen, Q., Yang, M., Feng, F., Liu, Y., Zhu, X., Yu, M. and Li, Y. 2018. Serum exosomal miR-223 serves as a potential diagnostic and prognostic biomarker for dementia. *Neuroscience* **379**, 167-176.
61. Xin, H., Li, Y., Buller, B., Katakowski, M., Zhang, Y., Wang, X., Shang, X., Zhang, Z. G. and Chopp, M. 2012. Exosome-mediated transfer of miR-133b from multipotent mesenchymal stromal cells to neural cells contributes to neurite outgrowth. *Stem Cells* **30**, 1556-1564.
62. Xin, H., Liu, Z., Buller, B., Li, Y., Golembieski, W., Gan, X., Wang, F., Lu, M., Ali, M. M., Zhang, Z. G. and Chopp, M. 2021. MiR-17-92 enriched exosomes derived from multipotent mesenchymal stromal cells enhance axon-myelin remodeling and motor electrophysiological recovery after stroke. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* **41**, 1131-1144.
63. Xin, H., Li, Y., Liu, Z., Wang, X., Shang, X., Cui, Y., Zhang, Z. G. and Chopp, M. 2013. MiR-133b promotes neural plasticity and functional recovery after treatment of stroke with multipotent mesenchymal stromal cells in rats via transfer of exosome-enriched extracellular particles. *Stem Cells* **31**, 2737-2746.
64. Xiong, W. P., Yao, W. Q., Wang, B. and Liu, K. 2021. BMSCs-exosomes containing GDF-15 alleviated SH-SY5Y cell injury model of Alzheimer's disease via AKT/GSK-3 β / β -catenin. *Brain Res. Bull.* **177**, 92-102.
65. Xu, X., Zhuang, C. and Chen, L. 2020. Exosomal long non-coding RNA expression from serum of patients with acute minor stroke. *Neuropsychiatr. Dis. Treat.* **16**, 153-160.
66. Yagi, Y., Ohkubo, T., Kawaji, H., Machida, A., Miyata, H., Goda, S., Roy, S., Hayashizaki, Y., Suzuki, H. and Yokota, T. 2017. Next-generation sequencing-based small RNA profiling of cerebrospinal fluid exosomes. *Neurosci. Lett.* **636**, 48-57.
67. Yang, J., Hao, J., Lin, Y., Guo, Y., Liao, K., Yang, M., Cheng, H., Yang, M. and Chen, K. 2022. Profile and functional prediction of plasma exosome-derived circRNAs from acute ischemic stroke patients. *Front. Genet.* **13**, 810974.
68. Yang, T., Martin, P., Fogarty, B., Brown, A., Schurman, K., Phipps, R., Yin, V. P., Lockman, P. and Bai, S. 2015. Exosome delivered anticancer drugs across the blood-brain barrier for brain cancer therapy in Danio rerio. *Pharm. Res.* **32**, 2003-2014.
69. Zhang, H., Wang, Y., Lv, Q., Gao, J., Hu, L. and He, Z. 2018. MicroRNA-21 Overexpression promotes the neuroprotective efficacy of mesenchymal stem cells for treatment of intracerebral hemorrhage. *Front. Neurol.* **9**, 931.
70. Zhang, W., Liu, Q. Y., Haqqani, A. S., Leclerc, S., Liu, Z., Fauteux, F., Baumann, E., Delaney, C. E., Ly, D., Star, A. T., Brunette E., Sodia, C., Hewitt, M., Sandhu, J. K. and Stanimirovic, D. B. 2020. Differential expression of receptors mediating receptor-mediated transcytosis (RMT) in brain microvessels, brain parenchyma and peripheral tissues of the mouse and the human. *Fluids. Barriers CNS.* **17**, 47.
71. Zhang, Y., Bi, J., Huang, J., Tang, Y., Du, S. and Li, P. 2020. Exosome: A Review of its classification, isolation techniques, storage, diagnostic and targeted therapy applications. *Int. J. Nanomedicine* **15**, 6917-6934.
72. Zhang, Y., Liu, Y., Liu, H. and Tang, W. H. 2019. Exosomes: biogenesis, biologic function and clinical potential. *Cell Biosci.* **9**, 19.
73. Zheng, X., Sun, K., Liu, Y., Yin, X., Zhu, H., Yu, F. and Zhao, W. 2023. Resveratrol-loaded macrophage exosomes alleviate multiple sclerosis through targeting microglia. Resveratrol-loaded macrophage exosomes alleviate multiple sclerosis through targeting microglia. *J. Control. Release* **353**, 675-684.
74. Zhuang, X., Xiang, X., Grizzle, W., Sun, D., Zhang, S., Axtell, R. C., Ju, S., Mu, J., Zhang, L., Steinman, L., Miller, D. and Zhang, H. G. 2011. Treatment of brain inflammatory diseases by delivering exosome encapsulated anti-inflammatory drugs from the nasal region to the brain. *Mol. Ther.* **19**, 1769-1779.
75. Zuchero, Y. J., Chen, X., Bien-Ly, N., Bumbaca, D., Tong, R. K., Gao, X., Zhang, S., Hoyte, K., Luk, W., Huntley, M. A., Phu, L., Tan, C., Kallop, D., Weimer, R. M., Lu, Y., Kirkpatrick, D. S., Ernst, J. A., Chih, B., Dennis, M. S. and Watts, R. J. 2016. Discovery of novel blood-brain barrier targets to enhance brain uptake of therapeutic antibodies. *Neuron* **89**, 70-82.

초록 : 중추신경계 질환의 진단과 치료를 위한 엑소좀의 활용

박지아¹ · 최윤식^{2*}

(¹경성대학교 제약공학과, ²경성대학교 약학과)

엑소좀은 단백질, mRNA 및 miRNA를 포함하고 모든 유형의 세포에서 분비되는 세포 외 소포의 일종이다. 방출된 엑소좀은 인접하거나 멀리 있는 다른 세포에 의해 선택적으로 흡수되어 그 내용물을 방출하고 표적 세포를 재프로그래밍한다. 엑소좀은 세포에 의해 생성되는 작은 천연 소포이므로 무독성과 비면역원성의 특징이 있는 것으로 받아들여지고 있다. 최근에는 엑소좀이 중추신경계에 대한 약물 전달체로 과학적 관심을 받고 있다. 중추신경계에는 약물의 침투를 어렵게 하는 혈뇌장벽이 있고 이는 퇴행성신경질환의 치료제 개발에 큰 걸림돌이 되어왔다. 그러나 축적된 연구결과들을 볼 때, 엑소좀이 주로 트랜스사이토시스를 통해 혈뇌장벽을 통과할 수 있음이 제시되었다. 이러한 결과를 종합하면, 엑소좀은 혈뇌장벽을 넘어 뇌 실질조직에 약물을 전달할 수 있는 새로운 전달 수단이 될 것으로 기대된다. 또한 세포의 종류와 질병 상태에 따라 분비되는 엑소좀의 종류가 다르기 때문에 엑소좀은 중추신경계 질환의 진단을 위한 바이오마커로도 활용될 수 있다. 본 총설 논문에서는 중추신경계 질환에 대한 바이오마커 및 치료 옵션으로서의 임상시험을 포함한 엑소좀에 대한 최근 연구동향을 정리하였다.