

· 综述 ·

## 肿瘤来源的外泌体在肿瘤进展中的作用及其诊疗意义

陈 群<sup>1</sup>, 吴 颺<sup>1,2</sup>, 时国东<sup>1</sup>, 袁 昊<sup>1</sup>, 陈 磊<sup>1</sup>, 葛万里<sup>1</sup>, 陆子鹏<sup>1</sup>, 张静静<sup>1</sup>, 朱 毅<sup>1</sup>, 苗 毅<sup>1</sup>, 蒋奎荣<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>南京医科大学胰腺研究所, 南京医科大学第一附属医院胰腺中心, 普外科肿瘤实验室, 江苏 南京 210029; <sup>2</sup>慕尼黑大学附属医院普外科实验室, 德国 慕尼黑 81377

**[摘要]**外泌体是一种由细胞内多泡体与细胞膜融合产生的纳米级小囊泡。它们广泛分布在生物体血液、尿液、胸腹腔积液等几乎所有体液中。作为细胞间通讯和遗传物质的重要载体,外泌体可以通过各种生物活性分子,如细胞膜受体、蛋白质、信使RNA(messenger RNA, mRNA)和微小RNA(micro RNA, miRNA)的转移直接刺激靶细胞,从而发挥其生物学功能。从肿瘤细胞分泌的外泌体称为肿瘤来源的外泌体(tumor-derived exosome, TEX),除了具备外泌体的一般特征外更有其特殊性。研究TEX对肿瘤发生发展的影响将开辟全新的诊断和治疗肿瘤的新方法。

**[关键词]** 肿瘤来源的外泌体;肿瘤;免疫抑制;药物载体

**[中图分类号]** R730.2

**[文献标志码]** A

**[文章编号]** 1007-4368(2019)02-300-06

**doi:** 10.7655/NYDXBNS20190231

### Influence of tumor-derived exosome (TEX) on development, diagnosis and treatment of tumor

Chen Qun<sup>1</sup>, Wu Yang<sup>1,2</sup>, Shi Guodong<sup>1</sup>, Yuan Hao<sup>1</sup>, Chen Lei<sup>1</sup>, Ge Wanli<sup>1</sup>, Lu Zipeng<sup>1</sup>, Zhang Jingjing<sup>1</sup>, Zhu Yi<sup>1</sup>, Miao Yi<sup>1</sup>, Jiang Kuirong<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Pancreas Institute of NMU, Pancreas Center, Lab for Department of General Surgery, the First Affiliated Hospital of NMU, Nanjing 210029, China; <sup>2</sup>Division of Pancreatic Surgery, Department of General, Visceral, and Transplantation Surgery, Ludwig-Maximilians University, Munich 81377, Germany

**[Abstract]** Exosomes are nanometer-sized vesicles produced by the fusion of multivesicular bodies and cell membranes which are widely distributed in almost all body fluids such as blood, urine, pleural and peritoneal effusions. As an important role of intercellular communication and genetic material carrier, exosomes play its biological function by stimulating target cells directly through the transfer of various bioactive molecules such as cell membrane receptors, proteins, messenger RNAs (mRNAs) and micro RNAs (miRNAs). Tumor-derived exosome (TEX) is a type of exosome secreted by tumor cells which not only has the general characteristics of exosomes but also has special features. Studying the effect of TEX will open up a whole new way to diagnosis and treatment of tumor.

**[Key words]** TEX; tumor; immunosuppression; drug carrier

[J Nanjing Med Univ, 2019, 39(02):300-305]

1987年,Johnston等<sup>[1]</sup>在研究网织红细胞向成熟

红细胞转变过程中,发现一种由多种活细胞分泌到细胞外的囊泡小体,将其命名为“外泌体”。外泌体直径40~100 nm,密度1.13~1.21 g/mL,电镜下观察呈杯状或盘状。进一步研究发现,外泌体可作为细胞间通信的传输介质,传递生物信息和调节细胞功能。作为肿瘤细胞分泌的外泌体,肿瘤来源的外泌体(tumor-derived exosome, TEX)在机体免疫应答和肿瘤发生发展的过程中有重要作用。因此,研究

**[基金项目]** 国家自然科学基金(81672449);江苏高校优势学科建设工程资助(JX10231801);江苏省创新能力建设专项(BM2015004);江苏省医学重点学科(普通外科学)(ZDX-KA2016005)

\*通信作者(Corresponding author), E-mail: jiangkuirongnjmu@sinna.com

TEX 不仅可能革新肿瘤现有治疗策略,而且有助于研发更有效的肿瘤诊治方法。

## 1 外泌体的生物学特性

### 1.1 外泌体的产生

目前外泌体的发生机制仍不甚明确,会根据原始细胞不同类型和功能而变。一般认为外泌体形成和释放受“内吞体分选转运复合体”(endosomal sorting complex required for transport, ESCRT)调节<sup>[2]</sup>。电子显微镜下观察发现,外泌体起源于细胞内吞途径中的多泡体。细胞内吞后形成早期核内体;早期核内体膜内陷、突入,形成小囊泡,同时选择性接收细胞质内的蛋白质和脂类,形成晚期核内体,即多泡体;多泡体以钙离子依赖的方式与细胞膜融合,将其所含的多个囊泡结构释放到细胞外基质中,即形成外泌体<sup>[3]</sup>。

### 1.2 外泌体的组成

外泌体内容物丰富且复杂,并且可根据不同的病理条件和原始细胞类型而变化<sup>[4]</sup>。外泌体表面有 CD9、CD63 等跨膜分子,内含受体、生物活性脂类物质、蛋白质和重要遗传物质如信使 RNA (messenger RNA, mRNA)、微小 RNA (micro RNA, miRNA) 及片段化 DNA 等组分。已经确定有 4 563 种蛋白质、194 种脂质、1 639 种 mRNA 和 764 种 miRNA 存在于不同组织和细胞来源的外泌体中<sup>[5]</sup>。①蛋白质:几乎所有的外泌体都有微管蛋白、肌动蛋白结合蛋白和四跨膜蛋白。由于其特殊的形成方式,外泌体不含内质网内的蛋白质,而高表达细胞内源性蛋白质如 ALG-2 相互作用蛋白 X (ALG-2-interacting protein X, Alix)、肿瘤易感基因 101 (tumor susceptibility gene 101, Tsg101)<sup>[6]</sup>。其中 CD63、CD9 在所有的的外泌体中均呈现阳性, Alix 在上皮源性细胞分泌的外泌体中高表达,这 3 个蛋白可作为细胞外泌体存在的标志物。②脂质:外泌体含有的脂质包括胆固醇、甘油二酯、鞘脂、磷脂和甘油磷脂等。此外,几乎所有外泌体都含有具有生物活性的脂质如 1-磷酸鞘氨醇 (sphingosine 1 phosphate, S1P)、神经酰胺-1-磷酸 (ceramide 1 phosphate, C1P)<sup>[7]</sup>。这些脂质不仅参与形成和维持外泌体的形态,还可以作为信号分子参与生物学过程。③核酸:外泌体含有大量具有生物活性的遗传学物质,如 mRNA、miRNA、长链非编码 RNA (long non-coding RNA, lncRNA)、环状 RNA (circular RNA, circRNA)、线粒体 DNA (mitochondrial DNA, mtDNA)、双链 DNA (double stranded DNA, ds-

DNA)、基因组 DNA (genomic DNA, gDNA)<sup>[8-9]</sup>。这些内容物可以被远处细胞捕获,参与干细胞分化、器官形成、血细胞生成以及肿瘤的发生和转移。

miRNA 在外泌体内的 RNA 中含量最高<sup>[10]</sup>。同时,不同细胞来源的外泌体分布不同,这种差别对诊断不同类型的疾病有重要作用<sup>[11]</sup>。已有实验证明,外泌体内的 miRNA 促进肿瘤增殖、侵袭和转移,而且与患者生存率相关<sup>[12]</sup>。此外,外泌体内的 miRNA 也影响肿瘤对化疗药物的耐受性<sup>[13]</sup>。

### 1.3 外泌体的检测

到目前为止,仍然没有一种方法能同时保证外泌体的含量、纯度、生物活性。外泌体的鉴定主要依赖于形态学观察以及对其内含蛋白质、核酸的分析。从血浆或其他体液分离的外泌体内含许多不同组织和细胞产生的囊泡组成的混合物,故而单独从肿瘤细胞分离出的外泌体是得到高纯度 TEX 的唯一来源<sup>[14]</sup>。

分离提纯。①离心法:目前最常用提取外泌体的方法,得到的外泌体量多,但纯度不足,电镜鉴定时会发现外泌体聚集成块,不利于后续实验。②密度梯度离心法:常用蔗糖密度梯度离心法,将样本和 2 种蔗糖溶液一起超速离心,样品中的不同组分沉降到各自等密度区<sup>[15]</sup>。此法得到的外泌体纯度高,但前期准备工作繁杂,耗时且量少。③过滤离心法:外泌体的相对分子质量大于一般蛋白质,选择不同大小截留相对分子质量的超滤膜可使外泌体与其他大分子物质分离<sup>[16]</sup>。此法操作简单省时,而且不影响外泌体的生物活性,但缺点在于提取的外泌体纯度不足。④旋转超滤法:与过滤离心法原理相似。优点是此法利用氮气产生的压力将上清过滤,会减少由于压力过大引起的外泌体破裂。同时所需时间短,避免外泌体在开放系统中暴露过久而导致外泌体量减少<sup>[17]</sup>。⑤连续适应血清细胞培养结合改良超速离心法:使细胞在血清梯度递减的过程中逐渐降低对血清的依赖,最后适应无血清培养。再将收集到的上清设置 2 次离心力,第 2 次离心力至少离心 3 次。陈加贵等<sup>[18]</sup>用此法分离提取出具有较强嗜血性的肝癌 SMMC-7721 细胞分泌的外泌体<sup>[18]</sup>。⑥免疫磁珠法:利用包被有外泌体相关抗原(如 CD9、CD63)抗体的磁珠与外泌体结合进行分离,无需超速离心,但洗涤液会影响外泌体生物活性,得到的外泌体较难进行后续研究<sup>[19]</sup>。⑦色谱法:利用凝胶孔隙的孔径大小与样品分子尺寸的相对关系对溶质进行分离提取外泌体<sup>[20]</sup>。⑧改良分子排阻

色谱法:可以在癌症患者小体积(1 mL)的血浆中可靠且容易地回收形态完整的功能性外泌体。其缺点是收集的外泌体来自血浆,纯度不够高<sup>[21]</sup>。

成分鉴定。①电镜下直接观察外泌体形态;应用蛋白质印迹法(Western blot)法,根据外泌体表面的标志物CD9、CD63等跨膜分子,用相应抗体与之结合,检测外泌体蛋白表达量;②应用PCR对外泌体内含有的遗传信息物质进行分析;③核酸测序、蛋白质印迹或酶联免疫吸附测定(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)也可用于外泌体RNA和蛋白质的鉴定。

#### 1.4 外泌体的一般特点

外泌体存在于各类细胞如血细胞、树突状细胞、肿瘤细胞等内,原核细胞和真核细胞均可在生理和病理状态下释放外泌体。外泌体在血液、尿液等生物体液中均可被检测到,分布广泛。此外,外泌体是由磷脂双层封闭的球形颗粒,内容物(如RNA)由于膜的保护可以耐受细胞外环境的生物降解和冻融循环的物理降解<sup>[22]</sup>。外泌体靶向作用于靶细胞,作用方式主要有3种:①直接与靶细胞的细胞膜融合释放 mRNA、miRNA 进入细胞质;②通过内吞作用被靶细胞摄取;③识别靶细胞表面的特异性受体<sup>[23]</sup>。外泌体的内容物可以从一个细胞转移到另一个细胞,这对其帮助细胞间通讯和影响细胞功能至关重要。

## 2 TEX对肿瘤发生发展的影响

肿瘤细胞与其微环境的交流在肿瘤发生发展过程中起着关键作用。TEX作为肿瘤微环境中的一个重要组成部分,可使肿瘤细胞与邻近细胞相通,从而影响肿瘤的发生发展<sup>[24]</sup>。

### 2.1 TEX特点

除具备外泌体一般特点外,TEX有其特殊性。TEX存在于癌症患者的所有体液,而且产生的量显著高于正常细胞分泌的量<sup>[25]</sup>。TEX同时向免疫细胞递送抑制性和刺激性信号,而且在由肿瘤主导的微环境中,它倾向于介导免疫抑制促进肿瘤进展<sup>[14]</sup>。此外,TEX含有类似其亲代肿瘤细胞的内容物,不同类型肿瘤细胞释放的TEX具有不同的分子特征,可作为鉴别肿瘤类型的标志物。在晚期肿瘤患者血浆中,TEX含量占血浆外泌体含量的大多数<sup>[21]</sup>。

### 2.2 TEX对肿瘤发生发展的促进作用

①促进肿瘤增殖:TEX可通过自分泌信号调节肿瘤的局部生长。例如,由非小细胞肺癌细胞和胃

癌细胞分泌的外泌体介导的自分泌信号通过增加蛋白激酶B(protein kinase B, PKB)磷酸化和细胞外信号调节激酶,与下游分子相关联促进细胞增殖<sup>[26-27]</sup>。中低剂量TEX对肿瘤细胞有促增殖作用,高剂量反为抑制作用<sup>[28]</sup>。②增强肿瘤侵袭性:TEX可通过细胞间信息传递致使靶细胞表型和功能变化。其中间质细胞表型改变,可以促进肿瘤细胞和间质细胞间受体、活性蛋白、脂质或遗传信息改变,从而增强肿瘤侵袭性<sup>[29]</sup>。③诱导肿瘤转移:TEX可通过转运在转移性细胞形成过程中起重要作用的几种生物活性分子,参与转移前微环境形成,诱导肿瘤转移<sup>[30]</sup>。TEX也可通过递送促血管生成的蛋白质,如血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)、成纤维细胞生长因子(fibroblast growth factor, FGF)和转化生长因子- $\beta$ (transforming growth factor- $\beta$ , TGF- $\beta$ )和RNA,如mRNA和miRNA来促进转移<sup>[31]</sup>。④抑制免疫:TEX可通过调控不同的免疫细胞类型,如乳脂球表皮生长因子8(milk fat globule-epidermal growth factor-factor 8, MFGE8)、凋亡相关因子配体(factor associated suicide ligand, FasL)、TGF- $\beta$ 、肿瘤坏死因子 $\alpha$ (tumor necrosis factor  $\alpha$ , TNF- $\alpha$ ),促进肿瘤的发生和进展<sup>[32]</sup>。此外,TEX直接抑制细胞毒性T淋巴细胞和NK细胞的抗肿瘤反应,并且诱导免疫抑制细胞亚群的激活,从而导致肿瘤免疫监视的丧失<sup>[33]</sup>。最近发现,TEX含有突变的KRAS和p53双链DNA,这是人类胰腺癌中最常见的基因突变<sup>[34]</sup>。⑤促血管生成,调节肿瘤微环境:TEX可通过促血管生成来调节肿瘤微环境。研究发现,TEX可诱导具有促血管生成的细胞因子的产生<sup>[35]</sup>。此外,TEX内mRNA和miRNA可诱导并控制血管生成;Alix和四跨膜蛋白也有促血管生成作用<sup>[36-37]</sup>。⑥诱导肿瘤耐药:肿瘤细胞和肿瘤干细胞分泌的外泌体可携带源细胞的化学抗性到肿瘤细胞甚至正常细胞,诱导肿瘤耐药性增加。此外,TEX可促进肿瘤干细胞形成,后者可通过DNA损伤反应通路促进耐药<sup>[38]</sup>。TEX诱导耐药的另一原因可能与抗癌药物被包裹在TEX内并随TEX脱落,并未有效作用于肿瘤细胞所致<sup>[39]</sup>。

### 2.3 TEX对肿瘤发生发展的抑制作用

①诱导肿瘤细胞凋亡:TEX可通过诱导肿瘤细胞凋亡而发挥潜在的抗肿瘤作用。例如胰腺癌细胞分泌的外泌体可增加B淋巴细胞瘤-2基因(B-cell lymphoma-2, Bcl-2)相关X蛋白(Bcl-2-associated X, Bax)表达,降低Bcl-2表达,增强肿瘤细胞对线

粒体凋亡途径的控制, 诱导肿瘤细胞凋亡<sup>[40]</sup>。②增强免疫: TEX 已被证明携带肿瘤抗原, 激活 CD8<sup>+</sup>T 细胞和 CD4<sup>+</sup>T 细胞, 直接抑制肿瘤生长和抗恶性肿瘤发展<sup>[41]</sup>。

### 3 TEX 在肿瘤诊断中的作用

#### 3.1 用于肿瘤诊断, 特异性更强

TEX 携带的遗传信息与肿瘤组织相一致, 并且存在于生物体各种体液(如血液、尿液、胸腹腔积液等)中, 故而可以在患者尚未出现症状时早期诊断。同时, 不同 TEX 携带的遗传物质不同, 检测 TEX 对于鉴别肿瘤类型特异性更强。Ogata 等<sup>[42]</sup>发现, I 期结肠癌患者血清外泌体中的 miRNA-23a 和 miRNA-1246 具有高度灵敏度, 分别达 95% 和 90%, 而 CA19-9 和 CEA 的灵敏度只有 10% 和 15%。

#### 3.2 用于判断肿瘤良恶性以及恶性程度

TEX 含量及其所含 miRNA 类型的差异, 对于肿瘤良恶性鉴别和分期有重要意义。Que 等<sup>[43]</sup>通过比较胰腺癌和正常人血清外泌体中的 miRNA-17-5p、miRNA-21、miRNA-155 和 miRNA-196a 的水平, 发现胰腺癌患者中 miRNA-17-5p 和 miRNA-21 的含量显著升高, 尤其是高水平的 miRNA-17-5p 与胰腺癌分期较晚有显著关系。

#### 3.3 用于判断肿瘤有无转移倾向

TEX 向转移前细胞传递 miRNA 后, 影响相关基因表达, 调节转移前微环境, 从而远距离调控肿瘤细胞趋向性着陆。Grange 等<sup>[44]</sup>在研究肾癌干细胞分泌的外泌体中发现, TEX 可传递具有促血管形成功能的 mRNA(如血管内皮生长因子和基质金属蛋白酶-2)和 miRNA(如 miRNA-29a 和 miRNA-650), 加速内皮细胞生长和血管腔生成, 促进肾癌肺转移。

#### 3.4 用于提示治疗效果和判断预后

治疗后肿瘤患者外泌体水平呈下降趋势, 提示外泌体与肿瘤治疗效果有关。此外, TEX 内 miRNA 已被用来指示对肿瘤治疗具有抵抗作用的肿瘤干细胞, 故 miRNA 的质和量对判断肿瘤预后较好作用。Huang 等<sup>[45]</sup>对经过去势治疗的前列腺癌患者外泌体中的 miRNA 进行研究, 发现高水平的 miRNA-1290 和 miRNA-375 与低生存率相关。

### 4 TEX 在肿瘤治疗中的作用

#### 4.1 作为抗肿瘤药物载体

TEX 可以用作装载各种抗癌药物和 miRNA 的载体<sup>[46]</sup>。它具有以下 3 个优点: ①TEX 来自自体肿

瘤细胞, 免疫原性低; ②TEX 磷脂双层结构可直接与靶细胞膜融合, 减少药物在细胞内的消化; ③TEX 体积小, 可躲避单核巨噬细胞的吞噬作用, 并且小体积的 TEX 有利于通过肿瘤血管和在肿瘤组织中扩散<sup>[47]</sup>。已有研究表明, 利用外泌体作为药物载体, 不仅可以增强药物抗肿瘤作用, 而且可以减少药物对主要系统或器官的不良反应<sup>[48]</sup>。

#### 4.2 制备肿瘤疫苗

临床实验已证明 TEX 疫苗表达的特异性肿瘤抗体能刺激免疫系统, 抑制肿瘤生长<sup>[47]</sup>。但该疫苗在制备时必须使用已接受过治疗患者的树突状细胞, 同时其负载的抗原特异性强, 尚不具有广谱性。

#### 4.3 抑制 TEX 可以抑制肿瘤发生发展

因为 TEX 在肿瘤生长、转移和耐药中起重要作用, 所以可以通过抑制 TEX 分泌或从血液循环中去除 TEX, 来削弱或消除这种负面作用。但 TEX 生成与肿瘤类型、大小、生长速率等密切相关, 故而在临床应用中还亟需考虑如何使血透效果最大化<sup>[49]</sup>。

### 5 小结

随着我国工业化进程的不断加快, 肿瘤的发病率和死亡率也在逐年上升, 缺乏良好的早期诊断及治疗方法是其主要原因。外泌体可利用其转运蛋白或 miRNA 等内容物完成细胞间通讯和调节细胞功能。TEX 利用这个机制, 帮助肿瘤生长、进展和传播。TEX 本身还为肿瘤细胞增殖、肿瘤微环境形成、抑制免疫系统提供物质基础。TEX 还可以通过去除抗肿瘤药物而增加肿瘤对药物的抵抗。但同时, TEX 由于其内容物可以反映源细胞的组分, 而且广泛存在于生物体液中, 这意味着它可以在肿瘤早期诊断、鉴别诊断、无创诊断上发挥很大作用。此外, 外泌体还可以充当抗肿瘤药物、基因治疗剂的特异性载体, 为肿瘤治疗开创新的方法。然而, 外泌体研究仍处于早期阶段, 许多问题仍需进一步探索才能解决。比如如何判断不同来源的外泌体的形成机制、功能差别? 如何分离纯化出高纯度的外泌体? 如何在临床上高效利用外泌体作为抗肿瘤药物载体等。相信随着对外泌体研究的不断深入, 难题的不断攻克, 外泌体将为肿瘤诊疗提供更优的选择。

#### [参考文献]

- [1] Cordonnier M, Chanteloup G, Isambert N, et al. Exosomes in cancer theranostic: Diamonds in the rough [J]. Cell

- Adh Migr, 2017, 11(2): 151-163
- [2] Luhtala N, Aslanian A, Yates JR, et al. Secreted glioblastoma nanovesicles contain intracellular signaling proteins and active ras incorporated in a farnesylation-dependent manner[J]. *J Biol Chem*, 2017, 292(2): 611-628
- [3] Kowal J, Tkach M, Thery C. Biogenesis and secretion of exosomes[J]. *Curr Opin Cell Biol*, 2014, 29: 116-125
- [4] Zhang X, Yuan X, Shi H, et al. Exosomes in cancer: small particle, big player[J]. *J Hematol Oncol*, 2015, 8(1): 83
- [5] Zhao L, Liu W, Xiao J, et al. The role of exosomes and "exosomal shuttle microRNA" in tumorigenesis and drug resistance[J]. *Cancer Lett*, 2015, 356: 339-346
- [6] Colombo M, Raposo G, Thery C. Biogenesis, secretion, and intercellular interactions of exosomes and other extracellular vesicles[J]. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 2014, 30: 255-289
- [7] Frydrychowicz M, Kolecka BA, Madejczyk M, et al. Exosomes - structure, biogenesis and biological role in non-small-cell lung cancer [J]. *Scand J Immunol*, 2015, 81(1): 2-10
- [8] Li Y, Zheng Q, Bao C, et al. Circular RNA is enriched and stable in exosomes: a promising biomarker for cancer diagnosis[J]. *Cell Res*, 2015, 25(8): 981-984
- [9] Thakur BK, Zhang H, Becker A, et al. Double-stranded DNA in exosomes: a novel biomarker in cancer detection [J]. *Cell Res*, 2014, 24(6): 766-769
- [10] Huang X, Yuan T, Liang M, et al. Exosomal miR-1290 and miR-375 as prognostic markers in castration-resistant prostate cancer[J]. *Eur Urol*, 2015, 67(1): 33-41
- [11] Riches A, Campbell E, Borger E, et al. Regulation of exosome release from mammary epithelial and breast cancer cells-a new regulatory pathway[J]. *Eur J Cancer*, 2014, 50(5): 1025-1034
- [12] Matsumura T, Sugimachi K, Iinuma H, et al. Exosomal microRNA in serum is a novel biomarker of recurrence in human colorectal cancer[J]. *Br J Cancer*, 2015, 113(2): 275-281
- [13] 魏 玮, 王 艺, 李 霖, 等. 5-氟尿嘧啶耐药的晚期胃癌患者血清外泌体 miRNA 表达谱分析[J]. *肿瘤*, 2017, 37(10): 1047-1055
- [14] Whiteside TL. Tumor-derived exosomes and their role in tumor-induced immune suppression [J]. *Vaccines (Basel)*, 2016, 4(4)
- [15] Xu R, Greening DW, Rai A, et al. Highly-purified exosomes and shed microvesicles isolated from the colon cancer cell line LIM1863 by sequential ultrafiltration are biochemically and functionally distinct [J]. *Methods*, 2015, 87(1): 11-25
- [16] Lai RC, Arslan F, Lee MM, et al. Exosome secreted by MSC reduces myocardial ischemia/reperfusion injury [J]. *Stem Cell Res*, 2010, 4(3): 214-222
- [17] 胡国文, 李 青, 牛 鑫, 等. 旋转超滤: 一种提取细胞外泌体的新方法[J]. *第二军医大学学报*, 2014, 35(6): 598-602
- [18] 陈加贵, 邓敬桓, 何 敏. 肝癌细胞外泌体的分离与鉴定[J]. *世界华人消化杂志*, 2016, 24(5): 737-743
- [19] Meehan K, Vella LJ. The contribution of tumor-derived exosomes to the hallmarks of cancer [J]. *Crit Rev Clin Lab Sci*, 2016, 53(2): 121
- [20] Wu L, Zhang X, Zhang B, et al. Exosomes derived from gastric cancer cells activate NF- $\kappa$ B pathway in macrophages to promote cancer progression [J]. *Tumor Biology*, 2016, 37(9): 12169
- [21] Hong CS, Funk S, Muller L, et al. Isolation of biologically active and morphologically intact exosomes from plasma of patients with cancer [J]. *J Extracell Vesicles*, 2016, 5: 29289
- [22] Huang X, Yuan T, Tschannen M, et al. Characterization of human plasma-derived exosomal RNAs by deep sequencing [J]. *BMC Genomics*, 2013, 14: 319
- [23] 李 晓, 刘玲英, 柴家科, 等. 外泌体的生物学特性及临床应用的研究进展 [J]. *解放军医学院学报*, 2015, 36(10): 1042-1044
- [24] Arita T, Ichikawa D, Konishi H, et al. Tumor exosome-mediated promotion of adhesion to mesothelial cells in gastric cancer cells [J]. *Oncotarget*, 2016, 7(35): 56855-56863
- [25] Shao Y, Shen Y, Chen T, et al. The functions and clinical applications of tumor-derived exosomes [J]. *Oncotarget*, 2016, 7(37): 60736-60751
- [26] Khalyfa A, Almendros I, Gileles HA, et al. Circulating exosomes potentiate tumor malignant properties in a mouse model of chronic sleep fragmentation [J]. *Oncotarget*, 2016, 7(34): 54676-54690
- [27] Gu H, Ji R, Zhang X, et al. Exosomes derived from human mesenchymal stem cells promote gastric cancer cell growth and migration via the activation of the Akt pathway [J]. *Mol Med Rep*, 2016, 14(4): 3452-3458
- [28] 杨子楠, 魏继武. 外泌体在肿瘤发展中的研究进展 [J]. *肿瘤*, 2011, 31(6): 565-569
- [29] de Vrij J, Maas SI, Kwappenberg K, et al. Glioblastoma-derived extracellular vesicles modify the phenotype of monocytic cells [J]. *Int J Cancer*, 2015, 137(7): 1630-1642
- [30] Konstantinell A, Bruun JA, Olsen R, et al. Secretomic analysis of extracellular vesicles originating from polyomavirus-negative and polyomavirus-positive merkel cell carcinoma cell lines [J]. *Proteomics*, 2016, 16(19): 2587-2591

- [31] Sanchez CA, Andahur EI, Valenzuela R, et al. Exosomes from bulk and stem cells from human prostate cancer have a differential microRNA content that contributes cooperatively over local and pre-metastatic niche [J]. *Oncotarget*, 2016, 7(4): 3993-4008
- [32] Greening DW, Gopal SK, Mathias RA, et al. Emerging roles of exosomes during epithelial-mesenchymal transition and cancer progression [J]. *Semin Cell Dev Biol*, 2015, 40(1): 60-71
- [33] Wu Y, Deng W, Mc Ginley EC, et al. Melanoma exosomes deliver a complex biological payload that upregulates PTPN11 to suppress T lymphocyte function [J]. *Pigment Cell Melanoma Res*, 2017, 30(2): 203-218
- [34] Thakur BK, Zhang H, Becker A, et al. Double-stranded DNA in exosomes: a novel biomarker in cancer detection [J]. *Cell Res*, 2014, 24(6): 766-769
- [35] Fang Y, Garnier D, Lee TH, et al. PML-RAR $\alpha$  modulates the vascular signature of extracellular vesicles released by acute promyelocytic leukemia cells [J]. *Angiogenesis*, 2016, 19(1): 25-38
- [36] Liu Y, Luo F, Wang B, et al. STAT3-regulated exosomal miR-21 promotes angiogenesis and is involved in neoplastic processes of transformed human bronchial epithelial cells [J]. *Cancer Lett*, 2016, 370(1): 125-135
- [37] Anderson JD, Johansson HJ, Graham CS, et al. Comprehensive proteomic analysis of mesenchymal stem cell exosomes reveals modulation of angiogenesis via nuclear factor-kappaB signaling [J]. *Stem Cells*, 2016, 34(3): 601-613
- [38] Santos JC, Ribeiro ML, Sarian LO, et al. Exosomes mediate microRNAs transfer in breast cancer chemoresistance regulation [J]. *Am J Cancer Res*, 2016, 6(10): 2129-2139
- [39] Wang X, Xu C, Hua Y, et al. Exosomes play an important role in the process of psoralen reverse multidrug resistance of breast cancer [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2016, 35(1): 186
- [40] Ristorcelli E, Beraud E, Verrando P, et al. Human tumor nanoparticles induce apoptosis of pancreatic cancer cells [J]. *FASEB J*, 2008, 22(9): 3358-3369
- [41] Greening DW, Gopal SK, Xu R, et al. Exosomes and their roles in immune regulation and cancer [J]. *Semin Cell Dev Biol*, 2015, 40(1): 72-81
- [42] Ogata KH, Izumiya M, Kurioka D, et al. Circulating exosomal microRNAs as biomarkers of colon cancer [J]. *PLoS One*, 2014, 9(4): e92921
- [43] Que R, Ding G, Chen J, et al. Analysis of serum exosomal microRNAs and clinicopathologic features of patients with pancreatic adenocarcinoma [J]. *World J Surg Oncol*, 2013, 11: 219
- [44] Grange C, Tapparo M, Collino F, et al. Microvesicles released from human renal cancer stem cells stimulate angiogenesis and formation of lung premetastatic niche [J]. *Cancer Res*, 2011, 71(15): 5346-5356
- [45] Huang X, Yuan T, Liang M, et al. Exosomal miR-1290 and miR-375 as prognostic markers in castration-resistant prostate cancer [J]. *Eur Urol*, 2015, 67(1): 33-41
- [46] Ma J, Zhang Y, Tang K, et al. Reversing drug resistance of soft tumor-repopulating cells by tumor cell-derived chemotherapeutic microparticles [J]. *Cell Res*, 2016, 26(6): 713-727
- [47] Wang Z, Chen JQ, Liu JL, et al. Exosomes in tumor microenvironment: novel transporters and biomarkers [J]. *J Transl Med*, 2016, 14(1): 297
- [48] Tian Y, Li S, Song J, et al. A doxorubicin delivery platform using engineered natural membrane vesicle exosomes for targeted tumor therapy [J]. *Biomaterials*, 2014, 35(7): 2383-2390
- [49] Logozzi M, De MA, Lugini L, et al. High levels of exosomes expressing CD63 and caveolin-1 in plasma of melanoma patients [J]. *PLoS One*, 2009, 4(4): e5219

[收稿日期] 2018-07-13