

# 外泌体功能的相关研究进展

陈旭 周义正 罗金柱 朱静 李承彬\*

(华中科技大学同济医学院附属荆州医院检验医学部, 荆州 434000)

**摘要** 外泌体是由不同细胞分泌的膜性囊泡, 它从细胞内的释放受到多种因素的影响, 可以通过其独特的分子特征被鉴别。随着对外泌体逐渐深入的研究, 科学家们发现, 外泌体不仅能够对宿主免疫系统产生影响, 而且在病毒感染宿主的过程中扮演了重要角色。外泌体与肿瘤的发生发展密切相关, 但是具体作用机制不甚清楚, 值得进一步的研究。

**关键词** 外泌体; 免疫; 病毒; 肿瘤

## The Research Progress on the Fuction of Exosomes

Chen Xu, Zhou Yizheng, Luo Jinzhu, Zhu Jing, Li Chengbin\*

(Department of Laboratory Medicine, Jingzhou Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology (HUST), Jingzhou 434000, China)

**Abstract** Exosome is a membranous vesicles secreted by different cells, and impacted by various factors. Exosome can be identified by its specific markers. In the further studies by scientists, it was found that exosome can impact on host immune system, and it played an important role in the process of infecting host by virus. Simultaneously, exosome plays a crucial role in the tumorogenesis, but the detail mechanism needs to be further studied.

**Keywords** exosome; immune; virus; tumor

### 1 外泌体概述

外泌体(exosome)是直径为40~100 nm的膜性囊泡, 它由不同的细胞分泌, 包括T细胞、B细胞、血小板、树突细胞、肥大细胞等血细胞。外泌体内部包含各种核酸分子, 如DNA、信使RNA(messenger RNA, mRNA)、微小RNA(microRNA, miRNA)以及各种蛋白质(如细胞支架蛋白质、跨膜蛋白质<sup>[1]</sup>)。细胞内外泌体的释放受多种因素影响, 如钙离子、钙离子载体、细胞内压和pH等<sup>[2]</sup>。在受到一定条件刺激后外泌体的释放是比较快速的, 用阿霉素刺激人乳腺癌细胞系MCF-7细胞3 h后, 即可从细胞膜上检测到外泌体<sup>[3]</sup>。同样, 用同种抗原刺激肥大细胞

(mast cell), 30 min便可检测到外泌体的释放<sup>[4]</sup>。外泌体可以通过其独特的分子特征被鉴别, 其一般性分子标志物有CD9、CD63、CD81、CD82、CD151、细胞黏附分子1(cell adhesion molecule 1, CAM1)、CD51、CD61、整合蛋白、主要组织相容性复合体(major histocompatibility complex, MHC)<sup>[5-6]</sup>。正常或者非正常细胞分泌的外泌体能够通过它们的内容物提供信号给其他细胞, 这些内容物包括一系列功能性分子, 如各种蛋白质、mRNAs、miRNAs、脂肪等<sup>[7-9]</sup>。外泌体是一种保护RNAs的工具, 而且能够潜在地将RNAs传递给相应靶细胞, 而且这种靶细胞能够通过miRNA调控mRNAs<sup>[10]</sup>。有报道显示, 从唾液中提取的外泌体能够影响人口腔角质细胞内的蛋白质, 因此, 外泌体本身可谓是一个完整的内分泌系统, 能通过自分泌、旁分泌和其他途径影响靶细胞<sup>[8]</sup>。尽管外泌体内的各种微粒分子能够通过不同途径调控相应的靶细胞, 但是这些靶细胞是如何接

收稿日期: 2017-11-29

接受日期: 2018-03-02

\*通讯作者。Tel: 18107167525, E-mail: 2388879241@qq.com

Received: November 29, 2017

Accepted: March 2, 2018

\*Corresponding author. Tel: +86-18107167525, E-mail: 2388879241@qq.com

网络出版时间: 2018-06-01 14:47:04

URL: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20180601.1446.012.html>

受或者抵抗细胞微泡(包括外泌体)内各种分子的调控机制仍然不是很清楚<sup>[11]</sup>。

## 2 外泌体与免疫

外泌体可以通过一系列分子(如miRNA和相关炎症因子)调控细胞之间的免疫炎症反应。最近的一项研究显示,在慢性阻塞性肺病(chronic obstructive pulmonary disease, COPD)急性加重期的患者血浆内,与外泌体有关的分子[如C反应蛋白(c-reactive protein, CRP)和白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6)]的表达水平高于正常人水平,这提示COPD急性加重期的炎症反应是和外泌体息息相关的<sup>[12]</sup>。有研究发现,在感染人型结核分枝杆菌的小鼠体内,外泌体的释放能够增强免疫T细胞的反应,这项发现可能表明在细菌感染的时候,外泌体可以促进T细胞的免疫性能,同时提示了外泌体是细胞外抗原的重要来源<sup>[13]</sup>。另有研究发现,在急性炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)患者体内,调节性T细胞的凋亡程度是增加的,但是这种凋亡程度可以通过抗肿瘤坏死因子- $\alpha$ (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )治疗得到缓解,这提示了调节性T细胞在维持肠道黏膜稳定方面具有重要作用<sup>[14-15]</sup>。而Okoye等<sup>[16]</sup>发现,调节性T细胞的这种作用可能是由于外泌体参与其中,他们证实,调节性T细胞作为外泌体制造者,包含了一系列miRNA,而经外泌体介导的miRNA转移过程被证实对于调节性T细胞的抑制效应的传递是必需的。有研究显示,来源于自然杀伤细胞(natural killer cell, NK)的外泌体能够通过其细胞毒效应影响黑色素瘤细胞的生长,这为肿瘤的免疫治疗提供了新途径<sup>[17]</sup>。最近的一项研究发现,来源于白血病细胞的外泌体可以通过下调肿瘤生长因子- $\beta$ (tumor growth factor- $\beta$ , TGF- $\beta$ )的表达,进而增加树突状细胞(dendritic cell, DCs)的功能,刺激更强的细胞毒效应以及NK细胞的毒性,来对抗肿瘤细胞,进而延长患者生存率<sup>[18]</sup>。又一项研究发现,在发生创伤/出血性休克(trauma/hemorrhagic shock, T/HS)的时候,外泌体可以释放到肠系膜淋巴液(mesenteric lymph, ML)内,进而诱导巨噬细胞内炎症因子的产生,在T/HS诱发的急性肺损伤过程中发挥了重要作用。这个团队在随后的研究中还发现,在T/HS发生以后,肠上皮细胞释放具有免疫调节作用的外泌体到肠系膜淋

巴液内,而且这种外泌体在创伤性免疫抑制后DCs的消耗与其功能障碍中发挥了重要的作用<sup>[19-20]</sup>。

## 3 外泌体与病毒

病毒强烈依赖其宿主而生存,而外泌体在其中扮演的作用越来越受到研究者的关注。最新的研究显示,I型疱疹病毒(human simplex virus-I, HSV-I)能够利用外泌体途径促进自身的复制,这也为HSV-I的致病机制提供了新的研究方向<sup>[21]</sup>。有相关报道表明,来源于丙型肝炎病毒(hepatitis C virus, HCV)感染细胞分泌的外泌体本身包含的HCV RNA能够传递给DCs,进一步促进HCV自身的复制<sup>[22]</sup>。随后的研究也表明,来源于HCV感染的肝细胞分泌的外泌体包含完整的HCV基因组,而且这些外泌体可以将这些RNA传送到非感染细胞,引起新的感染<sup>[23]</sup>。最近研究发现,通过HCV感染的肝细胞内的外泌体运载的miR-19a能够调控SSOCS-STA3信号途径,进而激活肝星状细胞促进肝纤维化的发生<sup>[24]</sup>。有研究发现,从乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)感染的肝细胞分泌的胞外囊泡(extracellular vesicles, EVs)包含了病毒核酸,而且这种核外核酸能够刺激巨噬细胞,这表明外泌体在宿主对抗HBV感染的过程中发挥了重要作用<sup>[25]</sup>。Dreux等<sup>[22]</sup>的研究发现,由HCV感染的肝细胞分泌的外泌体内包裹大量HCV RNA,他们还发现这种包裹HCV RNA的外泌体能够激活树突状细胞pDCs,进一步激活I型干扰素(interferon, IFN)信号通路。另有研究发现,从EB病毒(epstein-barr virus, EBV)感染的类淋巴母细胞释放的外泌体能够激活DCs里面的固有免疫反应<sup>[26]</sup>。一项新的研究发现,从呼吸道合胞病毒(respiratory syncytial virus, RSV)感染的细胞分泌的外泌体能够诱导人单核细胞与气道上皮细胞内细胞因子与炎症因子的释放,进而激活宿主固有免疫,这提示外泌体在对抗疾病的过程中扮演了重要角色<sup>[27]</sup>。最近的一项研究发现,猪生殖和呼吸综合征病毒(porcine reproductive and respiratory syndrome virus, PRRSV)能够利用宿主的外泌体去感染未被感染的正常细胞,而且这种通过外泌体介导的病毒传播能够广泛抵抗PRRSV特异性的中和性抗体,这为研究PRRSV传播的机制提供了一个新的视角<sup>[28]</sup>。HPV持续感染是诱发子宫颈癌的一个重要原因,而HPV16和HPV18是世界上70%左右的侵袭性子宫颈癌的诱

因<sup>[29-30]</sup>。有研究团队发现, 沉默HPV编码的E6/E7蛋白质的基因表达, 能够调控外泌体内miRNA的表达, 在将HPV的E6/E7沉默后, 与外泌体有关的miRNA中, 有21种miRNA表达上调, 另外4种miRNA表达下调, 而且这种变化与宫颈癌发生密切相关, 这提示了外泌体在宫颈癌的发生中扮演了重要角色<sup>[31]</sup>。

#### 4 外泌体与肿瘤

多项研究表明, 外泌体与肿瘤的发生发展密切相关。有报道显示, 鼻咽癌(nasopharyngeal carcinoma, NPC)来源的外泌体能够转运病毒潜伏膜蛋白(latent membrane protein 1, LMP1)以及免疫调节蛋白半乳糖凝集素9(galactin 9), 它们能够抑制T淋巴细胞的活性, 促进肿瘤的持续生长<sup>[32]</sup>。人类乳头瘤状病毒(human papilloma virus, HPV)来源的外泌体包含大量miR-21和miR-146a, 它们与宫颈癌的发生密切相关<sup>[33]</sup>。有研究发现, 二十二碳六烯酸(docosahexaenoic acid, DHA)能够增加乳腺癌细胞和外泌体内miRNA的表达, 而且这种作用具有细胞特异性, 他们发现只有在MCF-7细胞内, DHA才能够诱导相关miRNA水平的增加, 如miR-21、miR-27b、miR-320b, 这说明外泌体内miRNA与乳腺癌的发展密切相关<sup>[34]</sup>。最新的一项研究表明, 肿瘤干细胞(cancer stem cells, CSCs)来源的外泌体内miR-155的转移能够将乳腺癌细胞的药物抵抗与转移能力传递给敏感的细胞, 这也为研究乳腺癌发生机制提供了一个新视角<sup>[35]</sup>。

临床上, 外泌体可以作为一些肿瘤的诊断标志物。诊断卵巢癌(ovarian cancer, OC)的标志物与CA125水平息息相关, 但是其特异性与敏感性并不是很高。最近的研究揭示了腹水中外泌体含量的增加与OC的进展息息相关, 这也提示了外泌体水平与OC的相关性, 尽管目前还没有大规模的临床试验以及成熟的纯化与检测方法, 但他们仍然认为外泌体可以作为OC潜在的的特异性生物标志物<sup>[36-37]</sup>。另外有研究表明, 外泌体来源的miR-21表达水平也可以作为非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)诊断的特异标志物<sup>[38]</sup>。还有研究发现, 外泌体可以防止miRNAs被RNA酶降解, 这就为外泌体miRNAs诊断OC提供了有力条件, 此研究从各个阶段OC患者血清中发现了8种miRNA如miR-21是与疾病相关的, 但是并没有在正常人体内检测到相关miRNA水平的变化, 这就为OC的诊断提供了新

方向<sup>[39-40]</sup>。

#### 5 结语与展望

外泌体可以由不同的细胞分泌, 包括T细胞、B细胞、血小板以及其他非血源性细胞。外泌体与miRNA以及相关RNA密切相关, 而且这种相关性在细胞与细胞之间的信号转导中发挥着重要作用。外泌体与各种类型疾病之间的联系也越来越受到科学家的关注。如上所述, 外泌体能够促进T细胞的免疫性能, 进而很好地抵抗细菌的感染; 外泌体也能够通过细胞毒效应抑制某些肿瘤细胞的生长。外泌体在病毒的自身复制和感染宿主的过程中也发挥着重要作用, 如感染HCV细胞分泌的外泌体自身包含HCV RNA, 这有利于HCV的传递; 同样, 外泌体在对抗HBV感染的过程中发挥了重要作用, 但是具体作用机制仍然需要进一步研究。目前, 外泌体与肿瘤的关系也成为科学家们研究的热点, 如上所述, 癌细胞分泌的外泌体能够通过转运相关蛋白质, 调节T细胞活性, 进而促进肿瘤持续生长; 同时, 外泌体在诊断癌症方面也逐渐得到了认可, 如卵巢癌的特异性标志物是CA125, 然而特异性与灵敏度并不高, 但是通过与外泌体检测结合的方法可以进一步提高检出率。目前, 关于外泌体的各种功能研究还处于发展阶段, 无论是它与免疫之间的关系, 还是在病毒感染宿主的过程中所扮演的角色, 以及它与肿瘤之间的相关性都还没有被具体阐明, 所以值得作更深入的研究。

#### 参考文献 (References)

- 1 Vader P, Breakefield XO, Wood MJ. Extracellular vesicles: emerging targets for cancer therapy. *Trends Mol Med* 2014; 20(7): 385-93.
- 2 Park JE, Tan HS, Datta A, Lai RC, Zhang H, Meng W, *et al.* Hypoxic tumor cell modulates its microenvironment to enhance angiogenic and metastatic potential by secretion of proteins and exosomes. *Mol Cell Proteomics* 2010; 9(6): 1085-99.
- 3 Shedden K, Xie XT, Chandaroy P, Chang YT, Rosania GR. Expulsion of small molecules in vesicles shed by cancer cells: association with gene expression and chemosensitivity profiles. *Cancer Res* 2003; 63(15): 4331-7.
- 4 Skokos D, Botros HG, Demeure C, Morin J, Peronet R, Birkenmeier G, *et al.* Mast cell-derived exosomes induce phenotypic and functional maturation of dendritic cells and elicit specific immune responses *in vivo*. *J Immunol* 2003; 170(6): 3037-45.
- 5 Graner MW, Cumming RI, Bigner DD. The heat shock response

- and chaperones/heat shock proteins in brain tumors: surface expression, release, and possible immune consequences. *J Neurosci* 2007; 27(42): 11214-27.
- 6 Koumangoye RB, Sakwe AM, Goodwin JS, Patel T, Ochieng J. Detachment of breast tumor cells induces rapid secretion of exosomes which subsequently mediate cellular adhesion and spreading. *PLoS One* 2011; 6(9): e24234.
  - 7 Hong BS, Cho JH, Kim H, Choi EJ, Rho S, Kim J, *et al.* Colorectal cancer cell-derived microvesicles are enriched in cell cycle-related mRNAs that promote proliferation of endothelial cells. *BMC Genomics* 2009; 10: 556.
  - 8 Palanisamy V, Sharma S, Deshpande A, Zhou H, Gimzewski J, Wong DT. Nanostructural and transcriptomic analyses of human saliva derived exosomes. *PLoS One* 2010; 5(1): e8577.
  - 9 Lasser C, Alikhani VS, Ekstrom K, Eldh M, Paredes PT, Bossios A, *et al.* Human saliva, plasma and breast milk exosomes contain RNA: uptake by macrophages. *J Transl Med* 2011; 9: 9.
  - 10 McNally L, Manne U, Grizzle WE. Post-transcriptional processing of genetic information and its relation to cancer. *Biotech Histochem* 2013; 88(7): 365-72.
  - 11 Zhang HG, Grizzle WE. Exosomes: a novel pathway of local and distant intercellular communication that facilitates the growth and metastasis of neoplastic lesions. *Am J Pathol* 2014; 184(1): 28-41.
  - 12 Tan DBA, Armitage J, Teo TH, Ong NE, Shin H, Moodley YP. Elevated levels of circulating exosome in COPD patients are associated with systemic inflammation. *Respir Med* 2017; 132: 261-64
  - 13 Smith VL, Cheng Y, Bryant BR, Schorey JS. Exosomes function in antigen presentation during an *in vivo Mycobacterium tuberculosis* infection. *Sci Rep* 2017; 7: 43578.
  - 14 Boschetti G, Nancey S, Sardi F, Roblin X, Flourie B, Kaiserlian D. Therapy with anti-TNFalpha antibody enhances number and function of Foxp3<sup>+</sup> regulatory T cells in inflammatory bowel diseases. *Inflamm Bowel Dis* 2011; 17(1): 160-70.
  - 15 Veltkamp C, Anstaett M, Wahl K, Moller S, Gangl S, Bachmann O, *et al.* Apoptosis of regulatory T lymphocytes is increased in chronic inflammatory bowel disease and reversed by anti-TNFalpha treatment. *Gut* 2011; 60(10): 1345-53.
  - 16 Okoye IS, Coomes SM, Pelly VS, Czieso S, Papayannopoulos V, Tolmachova T, *et al.* MicroRNA-containing T-regulatory-cell-derived exosomes suppress pathogenic T helper 1 cells. *Immunity* 2014; 41(1): 89-103.
  - 17 Zhu L, Kalimuthu S, Gangadaran P, Oh JM, Lee HW, Baek SH, *et al.* Exosomes derived from natural killer cells exert therapeutic effect in melanoma. *Theranostics* 2017; 7(10): 2732-45.
  - 18 Huang F, Wan J, Hu W, Hao S. Enhancement of anti-leukemia immunity by leukemia-derived exosomes via downregulation of TGF-beta1 expression. *Cell Physiol Biochem* 2017; 44(1): 240-54.
  - 19 Kojima M, Gimenes-Junior JA, Chan TW, Eliceiri BP, Baird A, Costantini TW, *et al.* Exosomes in postshock mesenteric lymph are key mediators of acute lung injury triggering the macrophage activation via Toll-like receptor 4. *FASEB J* 2018; 32(1): 97-110.
  - 20 Kojima M, Costantini TW, Eliceiri BP, Chan TW, Baird A, Coimbra R. Gut epithelial cell-derived exosomes trigger post-trauma immune dysfunction. *J Trauma Acute Care Surg* 2018; 84(2): 257-64.
  - 21 Sadeghipour S, Mathias RA. Herpesviruses hijack host exosomes for viral pathogenesis. *Semin Cell Dev Biol* 2017; 67:91-100.
  - 22 Dreux M, Garaigorta U, Boyd B, Decembre E, Chung J, Whitten-Bauer C, *et al.* Short-range exosomal transfer of viral RNA from infected cells to plasmacytoid dendritic cells triggers innate immunity. *Cell Host Microbe* 2012; 12(4): 558-70.
  - 23 Ramakrishnaiah V, Thumann C, Fofana I, Habersetzer F, Pan Q, de Ruiter PE, *et al.* Exosome-mediated transmission of hepatitis C virus between human hepatoma Huh7.5 cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 2013; 110(32): 13109-13.
  - 24 Devhare PB, Sasaki R, Shrivastava S, Di Bisceglie AM, Ray R, Ray RB. Exosome-mediated intercellular communication between hepatitis C virus-infected hepatocytes and hepatic stellate cells. *J Virol* 2017; 91(6): e02225-16
  - 25 Kouwaki T, Fukushima Y, Daito T, Sanada T, Yamamoto N, Mifsud EJ, *et al.* Extracellular vesicles including exosomes regulate innate immune responses to hepatitis B virus infection. *Front Immunol* 2016; 7: 335.
  - 26 Baglio SR, van Eijndhoven MA, Koppers-Lalic D, Berenguer J, Lougheed SM, Gibbs S, *et al.* Sensing of latent EBV infection through exosomal transfer of 5'pppRNA. *Proc Natl Acad Sci USA* 2016; 113(5): e587-96.
  - 27 Chahar HS, Corsello T, Kudlicki AS, Komaravelli N, Casola A. Respiratory syncytial virus infection changes cargo composition of exosome released from airway epithelial cells. *Sci Rep* 2018; 8(1): 387.
  - 28 Wang T, Fang L, Zhao F, Wang D, Xiao S. Exosomes mediate intercellular transmission of porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV). *J Virol* 2018; 92(4): e01734-17.
  - 29 Walboomers JM, Jacobs MV, Manos MM, Bosch FX, Kummer JA, Shah KV, *et al.* Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. *J Pathol* 1999; 189(1): 12-9.
  - 30 Li N, Franceschi S, Howell-Jones R, Snijders PJ, Clifford GM. Human papillomavirus type distribution in 30,848 invasive cervical cancers worldwide: Variation by geographical region, histological type and year of publication. *Int J Cancer* 2011; 128(4): 927-35.
  - 31 Honegger A, Schilling D, Bastian S, Sponagel J, Kuryshev V, Sultmann H, *et al.* Dependence of intracellular and exosomal microRNAs on viral E6/E7 oncogene expression in HPV-positive tumor cells. *PLoS Pathog* 2015; 11(3): e1004712.
  - 32 Keryer-Bibens C, Pioche-Durieu C, Villemant C, Souquere S, Nishi N, Hirashima M, *et al.* Exosomes released by EBV-infected nasopharyngeal carcinoma cells convey the viral latent membrane protein 1 and the immunomodulatory protein galectin 9. *BMC Cancer* 2006; 6: 283.
  - 33 Liu J, Sun H, Wang X, Yu Q, Li S, Yu X, *et al.* Increased exosomal microRNA-21 and microRNA-146a levels in the cervicovaginal lavage specimens of patients with cervical cancer. *Int J Mol Sci* 2014; 15(1): 758-73.
  - 34 Di Bonito P, Ridolfi B, Columba-Cabezas S, Giovannelli A, Chiozzini C, Manfredi F, *et al.* HPV-E7 delivered by engineered exosomes elicits a protective CD8<sup>+</sup> T cell-mediated immune response. *Viruses* 2015; 7(3): 1079-99.
  - 35 Santos JC, Lima NDS, Sarian LO, Matheu A, Ribeiro ML,

- Derchain SFM. Exosome-mediated breast cancer chemoresistance via miR-155 transfer. *Sci Rep* 2018; 8(1): 829.
- 36 Graves LE, Ariztia EV, Navari JR, Matzel HJ, Stack MS, Fishman DA. Proinvasive properties of ovarian cancer ascites-derived membrane vesicles. *Cancer Res* 2004; 64(19): 7045-9.
- 37 Kajdos M, Janas L, Kolasa-Zwierzchowska D, Wilczynski JR, Stetkiewicz T. Microvesicles as a potential biomarker of neoplastic diseases and their role in development and progression of neoplasm. *Prz Menopauzalny* 2015; 14(4): 283-91.
- 38 Alipoor SD, Mortaz E, Garssen J, Movassaghi M, Mirsaedi M, Adcock IM. Exosomes and exosomal miRNA in respiratory diseases. *Mediators Inflamm* 2016; 2016: 5628404.
- 39 Mikaelian I, Scicchitano M, Mendes O, Thomas RA, Leroy BE. Frontiers in preclinical safety biomarkers: microRNAs and messenger RNAs. *Toxicol Pathol* 2013; 41(1): 18-31.
- 40 Taylor DD, Gercel-Taylor C. MicroRNA signatures of tumor-derived exosomes as diagnostic biomarkers of ovarian cancer. *Gynecol Oncol* 2008; 110(1): 13-21.