

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2020.09.014

· 综述 ·

## 外泌体在卵巢癌诊治中应用的研究进展

### Research progress on the exosome detection in the diagnosis and treatment of ovarian cancer

李耀威<sup>1,2</sup> 综述; 李力<sup>1</sup> 审阅(1. 广西医科大学附属肿瘤医院 妇科暨区域性高发肿瘤早期防治研究教育部重点实验室, 广西南宁 530021; 2. 上虞人民医院 妇产科, 浙江 绍兴 312300)

**[摘要]** 卵巢癌是妇科三大恶性肿瘤之一, 由于早期患者自身无不适症状且对其缺乏可靠的诊断方法, 加之目前对晚期卵巢癌患者缺乏有效的监测及治疗方法, 故卵巢癌患者的病死率较高。肿瘤患者血液中的肿瘤源性外泌体(tumor-derived exosome, TEX)携带有与原肿瘤细胞一致的生物信息学特性, 通过检测TEX可以无创、连续、实时监测肿瘤的发生发展情况, 是卵巢癌早期诊断、治疗评估、预后随访潜在的有益指标。本文就TEX来源性质、在肿瘤微环境中的作用机制、目前分离鉴定技术及其在卵巢癌诊断治疗中应用的研究进展作一综述。

**[关键词]** 卵巢癌; 外泌体; 诊断; 治疗

**[中图分类号]** R737.31; R730.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2020)09-1050-06

全球每年新发卵巢癌病例约22.5万, 其病死率居妇科恶性肿瘤第2位<sup>[1]</sup>。由于早期发病隐匿、缺乏可靠的早期检测方法, 约70%的卵巢癌患者初次就诊时已属晚期, 故5年生存率仅为36%~46%。根据国际妇产科联盟(FIGO)分期标准, 早期(I~II期)卵巢癌患者的预后显著优于晚期(III~IV期)患者, 术后5年生存率可达60%~90%<sup>[2]</sup>。目前临床上主要通过妇科盆腔检查、腹腔镜内窥镜检查、血清糖类抗原125(CA125)和人附睾蛋白4(human epididymis protein 4, HE4)检测, 以及联合影像学检查诊断卵巢癌, 其敏感度较低, 也存在局限性。液体活检术已成为近年来研究恶性肿瘤诊治的热门方向, 主要包括循环肿瘤细胞(circulating tumor cell, CTC)、循环肿瘤DNA(circulating tumor DNA, ctDNA)及外泌体(exosome)检测等<sup>[3-4]</sup>。外泌体因数量上多于CTC且更易富集, 故其在实际应用中较CTC更具优势, 其分泌小泡能有效保护核酸类物质, 克服了ctDNA在血液中容易降解的缺陷。与传统组织活检技术不同, 外泌体检测以患者体液(如血液、唾液、腹水、乳汁、宫腔灌洗液等)为样本来源<sup>[5-6]</sup>, 具有取材方便、微创(甚至无创)、信息反馈准确等优势<sup>[7-9]</sup>。外泌体在肿瘤的发生发展、诊断和治疗方面发挥着重要作用<sup>[10-13]</sup>。本文对近年来外泌体检测技术在其来源性质、肿瘤微环境中作用机制、目前分离鉴定技术及在卵巢癌诊断治疗方面应用的研究进展进行综述。

#### 1 外泌体概述

外泌体于1981年由TRAMS等在透射电镜下发现, 并于1987年被JOHNSTONE等<sup>[14]</sup>命名为

“exosomes”; 为直径在30~150 nm具有脂质双分子结构的膜性囊泡<sup>[15]</sup>, 电镜下由完整的磷脂双分子层所包围, 大小均一, 形态呈球形、扁圆形或杯状。外泌体可来源于干细胞、B淋巴细胞、树突状细胞(dendritic cell, DC)、肥大细胞、血小板和多种肿瘤细胞<sup>[16]</sup>, 也可从细胞培养基上清、血液、尿液、乳汁、腹水、精液、卵泡液等各种体液中提取出来<sup>[5-6]</sup>。肿瘤细胞来源的外泌体标记为肿瘤源性外泌体(tumor-derived exosome, TEX)。

TEX的形成首先是细胞膜接受细胞外信号后发生内陷, 形成含有多种膜表面蛋白及脂类的早期内涵体, 随后内涵体在细胞内再次内陷, 包裹细胞质内的蛋白、核酸等形成多囊泡小体, 最后多囊泡小体与细胞膜融合, 将其中的小囊泡释放到细胞外即为TEX<sup>[17]</sup>。

#### 2 TEX的作用机制

早期研究<sup>[18]</sup>认为, TEX的作用类似于“垃圾袋”, 能清除细胞内多余或无用的成分。后来研究<sup>[19]</sup>发现, TEX所包含的各种具有生物活性的分子具有促进肿瘤发生、发展、转移的生物学效应。这些活性分子主

**[基金项目]** 广西科学研究与技术开发计划资助项目(No.1140003A-33)。Project supported by the Scientific Research and Technological Development Plan of Guangxi Zhuang Autonomous Region (No. 1140003A-33)

**[作者简介]** 李耀威(1985-), 男, 博士, 主治医师, 主要从事妇科肿瘤的临床研究, E-mail: 897289406@qq.com

**[通信作者]** 李力(LI Li, corresponding author), 博士, 教授, 博士生导师, 主要从事妇科肿瘤的基础与临床研究, E-mail: lili@gxmu.edu.cn

要包括蛋白质、脂类、miRNA、长链非编码 RNA (long non-coding RNA, lncRNA) 以及环状 RNA (circRNA) 等<sup>[20-21]</sup>。

TEX 进入肿瘤微环境, 其活性因子引起相应基质细胞的表型发生转化, 随后产生大量的生长因子、细胞趋化因子、基质降解酶, 引起肿瘤微环境发生基质重组、免疫抑制、肿瘤血管生成等变化, 形成有利于肿瘤生长的微环境<sup>[22]</sup>。TEX 主要通过 3 种方式进行肿瘤细胞间的物质交换和信息交流<sup>[23]</sup>。一是通过抗原提呈和受体-配体的相互作用, 激活细胞表面的受体蛋白质分子和生物活性脂质配体, 从而与靶细胞表面的特异性受体结合, 进而激活特定的信号转导通路, 将蛋白质和 RNA 等内容物释放到靶细胞中。二是 TEX 自身携带的膜蛋白与靶细胞的细胞膜直接融合, 使内容物释放到靶细胞的细胞质中。三是 TEX 还可以通过靶细胞的胞饮、吞噬作用或受体介导的内吞作用等内化机制来实现细胞间的物质运输。TEX 本身可作为肿瘤抗原, 将肿瘤抗原提呈至抗原提呈细胞, 从而引起抗肿瘤免疫应答反应<sup>[24]</sup>; 同时 TEX 可介导免疫耐受过程, 免疫耐受是肿瘤细胞逃避免疫监视的主要原因, TEX 表面的免疫抑制分子能够下调免疫系统的表达。TEX 也可直接抑制免疫细胞, 有研究<sup>[25]</sup>显示卵巢癌患者腹水中的外泌体能够促进外周血淋巴细胞和 DC 的凋亡。

肿瘤的快速生长需要丰富的血液供应, 其血管生成是肿瘤生长和转移的重要组成部分。缺氧状态下的癌细胞可以分泌一些 TEX 促进肿瘤部位的血管生成。比如, 乳腺癌细胞分泌的 TEX 可以促进血管内皮细胞中蛋白酶激活受体 2 (protease-activated receptor 2, PAR-2) 介导的 EGF 信号通路进而促进肿瘤部位的血管生成<sup>[26]</sup>; 成胶质细胞瘤样干细胞分泌的 TEX 可以将血管内皮生长因子 A (vascular endothelial growth factor A, VEGF-A) 靶向运输到内皮细胞促进血管生成<sup>[27]</sup>。TEX 也可破坏血管内皮屏障, 促进肿瘤细胞进入血液循环系统进而发生远处转移。研究<sup>[28]</sup>表明, 转移性乳腺癌细胞株 MDA-231 分泌的 TEXmiR-105 可下调人微血管内皮细胞内紧密连接蛋白 ZO-1 (tight junction protein ZO-1) 表达, 进而促进其细胞间连接疏松、细胞迁移、渗透性增强而有利于细胞穿梭及破坏人微血管内皮细胞的屏障功能。

肿瘤细胞发生上皮-间质转化 (epithelial-mesenchymal transition, EMT) 后获得抵抗凋亡能力, 进而使肿瘤表现为化疗抵抗<sup>[29-30]</sup>。TEX 能通过传递相关的组织因子 (如 VEGF、TGF $\beta$ ) 介导细胞发生 EMT, 从而引起肿瘤对化疗抵抗<sup>[31-32]</sup>。TEX 是公认的携带 ABC 蛋白的囊泡, 当肿瘤细胞暴露于药物环境时, 可

以被药物排除系统 ABC 转运蛋白所识别继而引起肿瘤耐药<sup>[33]</sup>。

### 3 TEX 的分离鉴定

对 TEX 进行分离纯化及鉴定是进行 TEX 定量研究的首要前提。TEX 的分离方法有超速离心法、密度梯度离心法、沉淀法、色谱法、商品化试剂盒法、基于免疫亲和性的各种分离方法 (如免疫磁珠分选) 及近期开发的以微流体分离法为代表的诸多方法<sup>[34]</sup>, 各种分离方法各具优劣<sup>[35-38]</sup>。鉴定方面, 目前主要通过透射电镜、扫描电镜等进行囊泡形态、纳米粒子追踪分析 (nanoparticle tracking analysis, NTA) 进行粒径分布范围检测和 TEX 膜表面特定 (标志) 蛋白检测 (如 ALIX、TSG101、CD63、CD60、CD9 和 CD81 等) 相结合的方式综合评价<sup>[39]</sup>。

超速离心法是目前 TEX 提取最常用的方法, 此方法得到的 TEX 量多, 但存在纯度不足和 TEX 破坏明显的缺点, 由于 TEX 对超速离心的参数较为敏感, 尤其是分离样本量较大时很难将超速离心的方法进行标准化, 且超速离心下囊泡破裂较明显进而造成内含物损失<sup>[35]</sup>。密度梯度离心法交替使用低速和高速离心所获取的 TEX 纯度较高, 但前期准备复杂、耗时, 得到的 TEX 量少是其明显缺陷<sup>[36]</sup>。色谱法相对于其他超速离心法分离的 TEX 纯度更高, 但是需要特殊的设备, 临床或常规实验室中很难施行<sup>[37]</sup>。免疫磁珠法可以保证 TEX 形态的完整, 特异性高, 但获得量较少是其缺点。上述分离方法可根据不同细胞来源 TEX 的特点、设备配备及经济情况等进行选择, 也可多种方法联合应用以获得理想的 TEX。

随着对 TEX 研究的进展, 越来越多的 TEX 分离纯化方法被开发出来。例如, 基于 TEX 表面标志物进行信号放大的电化学“三明治”免疫夹心的方法<sup>[40]</sup>和一种多通道的金属芯片检测方法<sup>[41]</sup>, 能够用于血清样本 TEX 的分离及定量研究。手持式的磁-电化学 TEX (iMEX) 分析装置利用 TEX 与携带磁珠的抗体结合而从患者样品中被捕获, 并通过电化学反应来表现其特性。这种方法优势在于具有高度敏感性, 无需对样本提前处理, 还可以检测特定细胞的 TEX<sup>[42]</sup>。另外, 有研究人员设计的一种集成的微流控装置, 能够在芯片上实现免疫分离并且可以对患者血清中的 TEX 进行原位检测。该装置串联的微流控回路能够简化和加速 TEX 分析过程, 能够同时实现对 TEX 的表征、富集、线上化学裂解和定量分析<sup>[43]</sup>。

虽然有越来越多的 TEX 检测方法被开发出来, 但广泛应用于临床检验仍需要科研人员与工程技术人员及临床医生广泛合作以开发出更简单、高效的

检测设备。

#### 4 TEX的临床应用

TEX在体内各个系统的生理和病理过程中发挥着重要的调控作用,是研究疾病发病机制和疾病治疗的重要靶点<sup>[44]</sup>。

##### 4.1 在肿瘤诊断中的应用

目前实体肿瘤的筛查非常依赖影像学(B超、CT等)检查,但卵巢位于盆腔中,病变早期常常不易通过影像学检查发现;而当影像学检查发现肿物时,卵巢作为盆腔内的脏器,细针穿刺活检对于体积较小活动度大的瘤体无法准确定位且易损伤周围肠管及血管;诊断性的腹腔内窥镜检查及活检较其他方法直接且容易获取肿瘤组织,但创伤较大,不适合作为卵巢癌早期诊断的方法及动态监测手段。肿瘤的液体活检作为一种非侵入式分子病理检测方法,在肿瘤的早期诊断、实时监测、预后分析和复发风险评估等方面具有较大的应用价值,弥补了临床常规检查的不足。研究<sup>[45-49]</sup>表明,肿瘤细胞所释放的TEX内含物(如RNA、蛋白质等),与正常细胞存在明显差异且分子特征可部分反映其来源肿瘤的表型。TEX携带着宿主细胞的致癌特异性物质进入细胞外环境中,血液中可检测到TEX上这些肿瘤特有的“印记”,从而有望成为特异的肿瘤标志物用于肿瘤的临床早期非侵袭性诊断。

卵巢癌细胞可以分泌大量的TEX,其表面及囊内的多种分子组成成分与其来源的肿瘤细胞相似,当TEX进入血液循环,可在外周血及腹水中找到,对TEX(内含物)相关指标、TEX联合其他特异性肿瘤标志物的检测有助于筛查早期卵巢癌<sup>[50]</sup>。例如,LEA等<sup>[51]</sup>通过对34例可疑卵巢癌患者和10例健康个体血浆中磷脂酰丝氨酸(phosphatidyl-serine, PS)定量分析及PS阳性TEX预测精确值进行ROC分析,发现预测恶性与正常、良性与正常、恶性与良性AUC分别为1.0、0.95和0.911,表明PS阳性TEX对是否可有效甄别早期卵巢癌具有潜在研究价值;又如, SZAJNIK等<sup>[52]</sup>对卵巢癌、卵巢良性肿瘤患者及健康女性血清TEX中的蛋白进行检测分析发现,较之卵巢良性肿瘤患者及健康女性,卵巢癌患者血清TEX中含有高表达水平的TGF $\beta$ 1、MAGE3/6(差异有统计学意义),可见血清TEX中部分蛋白质有望用于筛查卵巢是否发生癌变。再如,ZHAO等<sup>[53]</sup>研发的TEX芯片(microfluidic ExoSearch chip)可以分离纯化并定量检测血液中卵巢癌细胞来源的TEX,同时还可检测血液中的CA125、上皮细胞黏附分子(epithelial cell adhesion molecule, EpCAM)及CD24等肿瘤标志物,

该技术为TEX在早期诊断卵巢癌方面提供了重要支撑平台,且显示出较高的临床应用潜力。

##### 4.2 在肿瘤治疗中的应用

除了作为生物标志物外,化疗药物、siRNA及miRNA等多种成分可通过电穿孔、转染、共孵育等方法装载入TEX<sup>[54-55]</sup>。目前已有相当数量的研究表明TEX作为药物及基因的运输载体具有潜在的临床价值。例如,TEX包裹的紫杉醇能够更有效地(50倍)对抗耐药肿瘤<sup>[56]</sup>;利用TEX递送花青素可提高卵巢癌的治疗效果<sup>[57]</sup>;加载雷公藤的TEX可抑制卵巢癌细胞的增殖以及肿瘤的生长<sup>[58]</sup>;TEX也可以携带miRNA到细胞中针对特定的靶基因发挥作用<sup>[59]</sup>。如上述例证所提,TEX与组织有很好的相容性,不引起免疫排斥反应,毒性较小且稳定性较好,能被细胞主动摄取进而提高药物利用率。以TEX作为药物及基因运输载体对耐药卵巢癌的治疗可能是个有潜力的新策略。

另外,利用TEX介导肿瘤的免疫逃逸有望将TEX作为良好的抗原提呈结构用于肿瘤的免疫治疗。清除血液中的TEX也可作为卵巢癌治疗的方法之一。例如,采用特殊的血液透析方法,使用抗体以及亲和试剂实现了TEX特异性的去除进而抑制肿瘤细胞转移<sup>[60]</sup>。清除血液中TEX对晚期肿瘤的治疗可能有一定疗效,但如何避免非肿瘤源性TEX的清除也是研究中需解决的重要问题,同时,减少TEX的生成亦应作为研究卵巢癌治疗的一个重要方面。

#### 5 结语

综上所述,TEX分离纯化技术水平极大地影响着TEX的研究,虽然TEX来源广泛、检测无创及可重复性好,但是目前尚缺乏标准统一的分离方法,多数方法成本较高,且需要特殊仪器,限制了其临床检测的开展。如何通过进一步的机制研究和设备开发,提高肿瘤TEX的分离纯化方法,标准化其分析流程,是TEX广泛应用于肿瘤临床诊治的重要前提。虽然对TEX的研究取得了许多突破,但大部分来源于细胞学实验。在体研究提示,即使同一肿瘤来源的TEX,其作用机制也并不完全相同,可能与TEX、细胞、环境因素、机体免疫状态等之间存在复杂的相互作用及与个体在生理机能和代谢水平上存在差异化调控相关。TEX在肿瘤发生发展中的作用机制仍不够明确,TEX中多种活性分子作为肿瘤诊断潜在的生物标志物真正应用于临床还需要积累更多基础和临床研究数据。深入了解TEX体内动态分布情况,对TEX识别肿瘤发生及判断肿瘤患者预后是非常重要的。TEX作为装载外源性药物和基因的载体

在肿瘤的精准治疗上显示着较好的应用前景,但这些治疗方法需要进一步的动物实验和大规模临床实践加以验证。目前尚无与卵巢癌相关TEX的循证学研究,但作为目前的研究热点,TEX携带的核酸、蛋白等物质的种类及功能将被更全面更深入地探索,最终可形成多中心的大样本研究数据进行循证分析。随着相关研究的不断深入,TEX检测在卵巢癌的诊治中将会发挥更大的作用。

### [参考文献]

- [1] SIEGEL R L, MILLER K D, JEMAL A. Cancer statistics, 2017[J]. *CA Cancer J Clin*, 2017, 67(1): 7-30. DOI:10.3322/caac.21387.
- [2] PAIK E S, LEE Y Y, LEE E J, et al. Survival analysis of revised 2013 FIGO staging classification of epithelial ovarian cancer and comparison with previous FIGO staging classification[J/OL]. *Obstet Gynecol Sci*, 2015, 58(2): 124-134[2020-02-06]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4366865/>. DOI:10.5468/ogs.2015.58.2.124.
- [3] WANG J Y, CHANG S, LI G C, et al. Application of liquid biopsy in precision medicine: opportunities and challenges[J]. *Front Med*, 2017, 11(4): 522-527. DOI:10.1007/s11684-017-0526-7.
- [4] CHEUNG A H, CHOW C, TO K F. Latest development of liquid biopsy[J/OL]. *J Thorac Dis*, 2018, 10(Suppl 14): S1645-S1651[2020-02-06]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6035915/>. DOI:10.21037/jtd.2018.04.68.
- [5] GIUSTI I, DI FRANCESCO M, DOLO V. Extracellular vesicles in glioblastoma: role in biological processes and in therapeutic applications[J]. *Curr Cancer Drug Targets*, 2017, 17(3): 221-235. DOI: 10.2174/1568009616666160813182959.
- [6] ISOLA A L, CHEN S. Exosomes: the messengers of health and disease[J/OL]. *Curr Neuropharmacol*, 2017, 15(1): 157-165[2020-02-06]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5327461/>. DOI:10.2174/1570159x14666160825160421.
- [7] KRISHNAMURTHY N, SPENCER E, TORKAMANI A, et al. Liquid biopsies for cancer: coming to a patient near you[J/OL]. *J Clin Med*, 2017, 6(1): E3[2020-02-06]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5294956/>. DOI:10.3390/jcm6010003.
- [8] SIRAVEGNA G, MARSONI S, SIENA S, et al. Integrating liquid biopsies into the management of cancer[J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2017, 14(9): 531-548. DOI:10.1038/nrclinonc.2017.14.
- [9] SUNDARARAJAN V, SARKAR F H, RAMASAMY T S. Correction to: The versatile role of exosomes in cancer progression: diagnostic and therapeutic implications[J]. *Cell Oncol (Dordr)*, 2018, 41(4): 463. DOI:10.1007/s13402-018-0396-2.
- [10] XU W C, QIAN G, LIU A Q, et al. Urinary extracellular vesicle: a potential source of early diagnostic and therapeutic biomarker in diabetic kidney disease[J/OL]. *Chin Med J*, 2018, 131(11): 1357-1364 [2020-02-06]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5987509/>. DOI:10.4103/0366-6999.232801.
- [11] KIBRIA G, RAMOS E K, WAN Y, et al. Exosomes as a drug delivery system in cancer therapy: potential and challenges[J/OL]. *Mol Pharm*, 2018, 15(9): 3625-3633[2020-02-06]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6546090/>. DOI:10.1021/acs.molpharmaceut.8b00277.
- [12] GIANNOPOULOU L, ZAVRIDOU M, KASIMIR-BAUER S, et al. Liquid biopsy in ovarian cancer: the potential of circulating miRNAs and exosomes[J]. *Transl Res*, 2019, 205: 77-91. DOI:10.1016/j.trsl.2018.10.003.
- [13] 李封, 张艳, 张琼, 等. 外泌体介导的Let-7a通过下调MYC表达抑制三阴性乳腺癌细胞的恶性生物学行为[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2019, 26(9): 962-968. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2019.09.005.
- [14] JOHNSTONE R M, ADAM M, HAMMOND J R, et al. Vesicle formation during reticulocyte maturation. Association of plasma membrane activities with released vesicles (exosomes)[J]. *J Biol Chem*, 1987, 262(19): 9412-9420.
- [15] YANG F, LIAO X Z, TIAN Y, et al. Exosome separation using microfluidic systems: size-based, immunoaffinity-based and dynamic methodologies[J]. *Biotechnol J*, 2017, 12(4). DOI: 10.1002/biot.201600699.
- [16] ZHENG H M, ZHAN Y T, LIU S L, et al. The roles of tumor-derived exosomes in non-small cell lung cancer and their clinical implications[J/OL]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2018, 37(1): 226[2020-02-06]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6137883/>. DOI:10.1186/s13046-018-0901-5.
- [17] KUMAR S, MICHAEL I J, PARK J, et al. Cloaked exosomes: Bio-compatible, durable, and degradable encapsulation[J/OL]. *Small*, 2018, 14(34): e1802052[2020-02-06]. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/sml.201802052>. DOI:10.1002/sml.201802052.
- [18] PAN B T, TENG K, WU C, et al. Electron microscopic evidence for externalization of the transferrin receptor in vesicular form in sheep reticulocytes[J/OL]. *J Cell Biol*, 1985, 101(3): 942-948[2020-02-06]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2113705/>. DOI:10.1083/jcb.101.3.942.
- [19] FU Q H, ZHANG Q, LOU Y, et al. Correction: Primary tumor-derived exosomes facilitate metastasis by regulating adhesion of circulating tumor cells via SMAD3 in liver cancer[J]. *Oncogene*, 2019, 38(28): 5740-5741. DOI:10.1038/s41388-019-0830-6.
- [20] HARTWIG S, DE FILIPPO E, GÖDDEKE S, et al. Exosomal proteins constitute an essential part of the human adipose tissue secretome[J]. *Biochim Biophys Acta Proteins Proteom*, 2019, 1867(12): 140172. DOI:10.1016/j.bbapap.2018.11.009.
- [21] KLINGE C M. Non-coding RNAs in breast cancer: intracellular and intercellular communication[J/OL]. *Noncoding RNA*, 2018, 4(4): E40[2020-02-06]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6316884/>. DOI:10.3390/ncrna4040040.
- [22] TANG M K S, YUE P Y K, IP P P, et al. Soluble E-cadherin promotes tumor angiogenesis and localizes to exosome surface[J/OL]. *Nat Commun*, 2018, 9(1): 2270[2020-02-06]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5995921/>. DOI:10.1038/s41467-018-04695-7.
- [23] WHITESIDE T L. The emerging role of plasma exosomes in diagnosis, prognosis and therapies of patients with cancer[J/OL]. *Contemp Oncol (Pozn)*, 2018, 22(1A): 38-40[2020-02-06]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5885072/>. DOI: 10.5114/wo.2018.73882.
- [24] KOH E, LEE E J, NAM G H, et al. Exosome-SIRP $\alpha$ , a CD47 blockade increases cancer cell phagocytosis[J]. *Biomaterials*, 2017, 121: 121-129. DOI:10.1016/j.biomaterials.2017.01.004.
- [25] PENG P, YAN Y, KENG S. Exosomes in the ascites of ovarian cancer patients: origin and effects on anti-tumor immunity[J]. *Oncol*

- Rep, 2011, 25(3): 749-762. DOI:10.3892/or.2010.1119.
- [26] SVENSSON K J, KUCHARZEWSKA P, CHRISTIANSON H C, et al. Hypoxia triggers a proangiogenic pathway involving cancer cell microvesicles and PAR-2-mediated heparin-binding EGF signaling in endothelial cells[J/OL]. Proc Natl Acad Sci USA, 2011, 108(32): 13147-13152[2020-02-06]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3156184/>. DOI:10.1073/pnas.1104261108.
- [27] TREPS L, PERRET R, EDMOND S, et al. Glioblastoma stem-like cells secrete the pro-angiogenic VEGF-A factor in extracellular vesicles[J/OL]. J Extracell Vesicles, 2017, 6(1): 1359479[2020-02-06]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5549846/>. DOI:10.1080/20013078.2017.1359479.
- [28] ZHOU W Y, FONG M Y, MIN Y F, et al. Cancer-secreted miR-105 destroys vascular endothelial barriers to promote metastasis[J/OL]. Cancer Cell, 2014, 25(4): 501-515[2020-02-06]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4016197/>. DOI: 10.1016/j.ccr.2014.03.007.
- [29] LUTGENDORF S K, THAKER P H, AREVALO J M, et al. Biobehavioral modulation of the exosome transcriptome in ovarian carcinoma[J/OL]. Cancer, 2018, 124(3): 580-586[2020-02-06]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5780197/>. DOI: 10.1002/cncr.31078.
- [30] STACK M S, NEPHEW K P, BURDETTE J E, et al. The tumor microenvironment of high grade serous ovarian cancer[J/OL]. Cancers (Basel), 2018, 11(1): E21[2020-02-06]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6357134/>. DOI: 10.3390/cancers11010021.
- [31] ACLOQUE H, THIERY J P, NIETO M A. The physiology and pathology of the EMT. Meeting on the epithelial-mesenchymal transition[J/OL]. EMBO Rep, 2008, 9(4): 322-326[2020-02-06]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2288772/>. DOI: 10.1038/embor.2008.30.
- [32] ANDARAWEWA K L, ERICKSON A C, CHOU W S, et al. Ionizing radiation predisposes nonmalignant human mammary epithelial cells to undergo transforming growth factor beta induced epithelial to mesenchymal transition[J]. Cancer Res, 2007, 67(18): 8662-8670. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-07-1294.
- [33] CHOI C H. ABC transporters as multidrug resistance mechanisms and the development of chemosensitizers for their reversal[J/OL]. Cancer Cell Int, 2005, 5: 30[2020-02-06]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1277830/>. DOI:10.1186/1475-2867-5-30.
- [34] LI P, KASLAN M, LEE S H, et al. Progress in exosome isolation techniques[J/OL]. Theranostics, 2017, 7(3): 789-804[2020-02-06]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5327650/>. DOI: 10.7150/thno.18133.
- [35] CARADEC J, KHARMATE G, HOSSEINI-BEHESHTI E, et al. Reproducibility and efficiency of serum-derived exosome extraction methods[J]. Clin Biochem, 2014, 47(13/14): 1286-1292. DOI: 10.1016/j.clinbiochem.2014.06.011.
- [36] ZHANG Z Y, WANG C X, LI T, et al. Comparison of ultracentrifugation and density gradient separation methods for isolating Tca8113 human tongue cancer cell line-derived exosomes[J/OL]. Oncol Lett, 2014, 8(4): 1701-1706[2020-02-06]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4156197/>. DOI:10.3892/ol.2014.2373.
- [37] MOMEN-HERAVI F, BALAJ L, ALIAN S, et al. Impact of biofluid viscosity on size and sedimentation efficiency of the isolated microvesicles[J/OL]. Front Physiol, 2012, 3: 162[2020-02-06]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3362089/>. DOI: 10.3389/fphys.2012.00162.
- [38] SHAO H L, IM H, CASTRO C M, et al. New technologies for analysis of extracellular vesicles[J/OL]. Chem Rev, 2018, 118(4): 1917-1950[2020-02-06]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6029891/>. DOI:10.1021/acs.chemrev.7b00534.
- [39] LI X, CORBETT A L, TAATIZADEH E, et al. Challenges and opportunities in exosome research-Perspectives from biology, engineering, and cancer therapy[J/OL]. APL Bioeng, 2019, 3(1): 011503[2020-02-06]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6481742/>. DOI:10.1063/1.5087122.
- [40] DOLDÁN X, FAGÚNDEZ P, CAYOTA A, et al. Electrochemical sandwich immunosensor for determination of exosomes based on surface marker-mediated signal amplification[J]. Anal Chem, 2016, 88(21): 10466-10473. DOI:10.1021/acs.analchem.6b02421.
- [41] ZHOU Y G, MOHAMADI R M, POUDINEH M, et al. Interrogating circulating microsomes and exosomes using metal nanoparticles [J]. Small, 2016, 12(6): 727-732. DOI:10.1002/sml.201502365.
- [42] JEONG S, PARK J, PATHANIA D, et al. Integrated magneto-electrochemical sensor for exosome analysis[J/OL]. ACS Nano, 2016, 10(2): 1802-1809[2020-02-06]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4802494/>. DOI:10.1021/acsnano.5b07584.
- [43] HE M, CROW J, ROTH M, et al. Integrated immunoisolation and protein analysis of circulating exosomes using microfluidic technology[J/OL]. Lab Chip, 2014, 14(19): 3773-3780[2020-02-06]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4161194/>. DOI:10.1039/c4lc00662c.
- [44] XU J S, LIAO K L, ZHOU W M. Exosomes regulate the transformation of cancer cells in cancer stem cell homeostasis[J/OL]. Stem Cells Int, 2018, 2018: 4837370[2020-02-06]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6174755/>. DOI:10.1155/2018/4837370.
- [45] LOBB R J, HASTIE M L, NORRIS E L, et al. Oncogenic transformation of lung cells results in distinct exosome protein profile similar to the cell of origin[J]. Proteomics, 2017, 17(23/24). DOI: 10.1002/pmic.201600432.
- [46] HOSSEINI M, KHATAMIANFAR S, HASSANIAN S M, et al. Exosome-encapsulated microRNAs as potential circulating biomarkers in colon cancer[J]. Curr Pharm Des, 2017, 23(11): 1705-1709. DOI:10.2174/1381612822666161201144634.
- [47] GRIMOLIZZI F, MONACO F, LEONI F, et al. Exosomal miR-126 as a circulating biomarker in non-small-cell lung cancer regulating cancer progression[J/OL]. Sci Rep, 2017, 7(1): 15277[2020-02-06]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5681649/>. DOI: 10.1038/s41598-017-15475-6.
- [48] KARIMI N, ALI HOSSEINPOUR FEIZI M, SAFARALIZADEH R, et al. Serum overexpression of miR-301a and miR-23a in patients with colorectal cancer[J]. J Chin Med Assoc, 2019, 82(3): 215-220. DOI:10.1097/JCMA.000000000000031.
- [49] GARDINER C, DI VIZIO D, SAHOO S, et al. Techniques used for the isolation and characterization of extracellular vesicles: results of a worldwide survey[J/OL]. J Extracell Vesicles, 2016, 5: 32945[2020-02-06]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5090131/>. DOI: 10.3402/jev.v5.32945.

- [50] DORAYAPPAN K D P, WALLBILLICH J J, COHN D E, et al. The biological significance and clinical applications of exosomes in ovarian cancer[J/OL]. *Gynecol Oncol*, 2016, 142(1): 199-205[2020-02-06]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4917458/>. DOI:10.1016/j.ygyno.2016.03.036.
- [51] LEA J, SHARMA R, YANG F, et al. Detection of phosphatidylserine-positive exosomes as a diagnostic marker for ovarian malignancies: a proof of concept study[J/OL]. *Oncotarget*, 2017, 8(9): 14395-14407[2020-02-06]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5362413/>. DOI:10.18632/oncotarget.14795.
- [52] SZAJNIK M, DERBIS M, LACH M, et al. Exosomes in plasma of patients with ovarian carcinoma: potential biomarkers of tumor progression and response to therapy[J/OL]. *Gynecol Obstet (Sunnyvale)*, 2013, Suppl(4): 3[2020-02-06]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3899646/>. DOI:10.4172/2161-0932.S4-003.
- [53] ZHAO Z, YANG Y, ZENG Y, et al. A microfluidic ExoSearch chip for multiplexed exosome detection towards blood-based ovarian cancer diagnosis[J/OL]. *Lab Chip*, 2016, 16(3): 489-496[2020-02-06]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4729647/>. DOI:10.1039/c5lc01117e.
- [54] BATRAKOVA E V, KIM M S. Using exosomes, naturally-equipped nanocarriers, for drug delivery[J/OL]. *J Control Release*, 2015, 219: 396-405[2020-02-06]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4656109/>. DOI:10.1016/j.jconrel.2015.07.030.
- [55] HOOD J L, SCOTT M J, WICKLINE S A. Maximizing exosome colloidal stability following electroporation[J/OL]. *Anal Biochem*, 2014, 448: 41-49[2020-02-06]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3954633/>. DOI:10.1016/j.ab.2013.12.001.
- [56] KIM M S, HANEY M J, ZHAO Y L, et al. Development of exosome-encapsulated paclitaxel to overcome MDR in cancer cells[J/OL]. *Nanomed-Nanotechnol Biol Med*, 2016, 12(3): 655-664[2020-02-06]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4809755/>. DOI:10.1016/j.nano.2015.10.012.
- [57] AQIL F, JEYABALAN J, AGRAWAL A K, et al. Exosomal delivery of berry anthocyanidins for the management of ovarian cancer[J]. *Food Funct*, 2017, 8(11): 4100-4107. DOI:10.1039/c7fo00882a.
- [58] LIU H, SHEN M, ZHAO D, et al. The effect of triptolide-loaded exosomes on the proliferation and apoptosis of human ovarian cancer SKOV3 cells[J/OL]. *Biomed Res Int*, 2019, 2019: 2595801[2020-02-06]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6556367/>. DOI:10.1155/2019/2595801.
- [59] KALLURI R. The biology and function of exosomes in cancer[J]. *J Clin Investig*, 2016, 126(4): 1208-1215. DOI:10.1172/JCI81135.
- [60] TICKNER J A, URQUHART A J, STEPHENSON S A, et al. Functions and therapeutic roles of exosomes in cancer[J/OL]. *Front Oncol*, 2014, 4: 127[2020-02-06]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4034415/>. DOI:10.3389/fonc.2014.00127.

[收稿日期] 2020-02-08

[修回日期] 2020-08-22

[本文编辑] 党瑞山