

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2021.02.005

## PDGF-BB 通过外泌体促进人骨肉瘤的血管新生

刘立柱<sup>1</sup>, 李超艺<sup>1</sup>, 林诗炜<sup>1</sup>, 曲野<sup>1</sup>, 汤强<sup>2</sup> (1. 海南医学院第二附属医院 创伤外科, 海南海口 570311; 2. 海南医学院 海南省肿瘤发生与干预重点实验室, 海南海口 571199)

**[摘要]** **目的:** 探索 PDGF-BB 是否可以通过外泌体传递, 并且验证其在人骨肉瘤中的促血管新生的功能。**方法:** 分离多种人骨肉瘤细胞中的外泌体, WB 法检测 PDGF-BB 在人骨肉瘤细胞及其外泌体中的表达, 将骨肉瘤 SJSA-1 细胞来源的外泌体与 HUVEC 共孵育, 免疫荧光和激光共聚焦扫描显微镜观察外泌体 PDGF-BB 进入细胞的方式; 慢病毒感染法分别构建 PDGF-BB 过表达或敲低的 SJSA-1 细胞系, 将其分离出的外泌体与 HUVEC 共孵育, 微管形成实验检测其对血管新生的影响; 构建 SJSA-1 细胞裸鼠移植瘤模型, 回输过表达或敲低 PDGF-BB 的 SJSA-1 细胞来源的外泌体, 观察其对肿瘤生长的影响。**结果:** 成功分离出骨肉瘤细胞外泌体, 并证实其携带大量的 PDGF-BB, 可通过细胞内吞进入 HUVEC。成功构建 PDGF-BB 过表达或敲低的 SJSA-1 细胞系, 并分离出携带相应水平 PDGF-BB 的外泌体, 与对照组相比, PDGF-BB 含量高的外泌体可以显著促进 HUVEC 的血管生成 ( $P < 0.01$ ,  $t=13.51$ ) 和移植瘤生长 ( $P < 0.01$ ), 而 PDGF-BB 含量低的外泌体促血管生成能力减弱 ( $P < 0.01$ ,  $t=8.226$ ) 并抑制移植瘤的生长 ( $P < 0.01$ )。**结论:** 骨肉瘤细胞分泌的外泌体 PDGF-BB 可以直接被 HUVEC 摄取, 诱导肿瘤血管生成, 从而促进骨肉瘤生长。

**[关键词]** 骨肉瘤; PDGF-BB; 外泌体; 血管新生

**[中图分类号]** R738.1; R735.34 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2021)02-0128-07

## PDGF-BB promotes angiogenesis of human osteosarcoma through exosomes

LIU Lizhu<sup>1</sup>, LI Chaoyi<sup>1</sup>, LIN Shiwei<sup>1</sup>, QU Ye<sup>1</sup>, TANG Qiang<sup>2</sup> (1. Department of Traumatic Surgery, Second Affiliated Hospital of Hainan Medical College, Haikou 570311, Hainan, China; 2. Key Laboratory of Tumorigenicity and Intervention of Hainan Province, Hainan Medical College, Haikou 571199, Hainan, China)

**[Abstract]** **Objective:** To explore whether PDGF-BB can be transmitted through exosome and verify its angiogenic function in human osteosarcoma. **Methods:** Exosomes from a variety of human osteosarcoma cells were isolated. The expression of PDGF-BB in cells and exosomes was detected by WB. Exosomes derived from osteosarcoma SJSA-1 cells were co-incubated with HUVEC, and the pattern of exosomal PDGF-BB entering HUVEC was observed using Immunofluorescence and confocal scanning microscope. SJSA-1 cell lines with PDGF-BB over-expression or knockdown were constructed by lentiviral infection, and the exosomes derived from transfected SJSA-1 cells were isolated and incubated with HUVEC. Microtubule formation experiment was conducted to detect their effects on angiogenesis; SJSA-1 cell transplanted xenograft model was established in nude mice, and the exosomes derived from SJSA-1 cells with PDGF-BB over-expression or knockdown were infused into nude mice to observe their effects on tumor growth. **Results:** The exosomes derived from osteosarcoma cells were successfully isolated, in which a large amount of PDGF-BB was confirmed. The exosomes entered HUVEC by endocytosis. The SJSA-1 cell lines with PDGF-BB over-expression or knockdown were successfully constructed, and the corresponding exosomes were isolated. Compared with the control group, exosomes with high PDGF-BB content significantly promoted HUVEC angiogenesis ( $P < 0.01$ ,  $t=13.51$ ) and tumor growth ( $P < 0.01$ ), while exosomes with low PDGF-BB content reduced the angiogenesis ability of HUVEC ( $P < 0.01$ ,  $t=8.226$ ) and inhibited tumor growth ( $P < 0.01$ ). **Conclusion:** The exosomal PDGF-BB secreted by osteosarcoma cells can be directly absorbed by HUVEC and induce tumor angiogenesis, further promoting the growth of osteosarcoma.

**[Key words]** osteosarcoma; PDGF-BB; exosome; angiogenesis

[Chin J Cancer Biother, 2021, 28(2): 128-134. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2021.02.005]

骨肉瘤是最常见的原发性恶性骨肿瘤, 是一种相对罕见的肿瘤, 患者 3 年无进展生存率为 60%~70%<sup>[1-3]</sup>。超过 40% 的患者在接受初步治疗后发生局部复发或远端转移, 而针对这种情况的治疗手段十分有限, 急需进一步探究骨肉瘤发生发展的机制以开发新的治疗方法<sup>[4]</sup>。PDGF 家族由 PDGF-A、-B、-C 和-D 四个结

**[基金项目]** 海南省卫生健康行业科研项目资助(No.19A200063)。Project supported by the Health Industry Research Project of Hainan Province (No.19A200063)

**[作者简介]** 刘立柱(1978-), 男, 硕士, 副主任医师, 主要从事骨科及创伤外科方面研究, E-mail: z1337722@163.com

**[通信作者]** 李超艺(LI Chaoyi, corresponding author), 学士, 副主任医师, 主要从事创伤骨科方面研究, E-mail: li35499015@126.com

构上相关的成员组成。PDGF-BB 是由 2 条 PDGF-B 组成的二聚体, 是一种多能的血管生成配体, 可以激活所有受体亚型, 诱导靶细胞增殖、迁移和存活<sup>[5-6]</sup>。在鼠中, PDGF-BB 或 PDGFR- $\beta$  的基因缺失会导致一系列与周细胞丢失相关的血管异常<sup>[7]</sup>。此外, 有研究<sup>[8]</sup>表明, PDGF-BB 在骨肉瘤中高表达, 其表达水平与骨肉瘤的发生、发展及预后密切相关。外泌体能够通过向受体细胞运送功能性蛋白质、核酸和脂质来促进细胞间的通讯<sup>[9-10]</sup>。骨肉瘤来源的外泌体在重塑肿瘤微环境和促进肿瘤血管生成等方面起着至关重要的作用<sup>[11-12]</sup>。本研究探索 PDGF-BB 是否可以通过外泌体传递, 并且验证其在人骨肉瘤中的促血管新生的功能。

## 1 材料与方法

### 1.1 细胞系、主要试剂及动物

人骨肉瘤细胞 143B、G-63、Saos-2、U2OS、SJS-1 均获取自美国的 ATCC 菌种保藏库, 用含 10%FBS 的 DMEM 完全培养基进行常规培养。ExoQuick-TC 购自美国 System Biosciences 公司, BCA 蛋白分析试剂盒购自 Thermo Fisher 公司, anti-CD63、anti-CD9、anti-CD81 抗体购自美国 Abcam 公司, anti-PDGF-BB 和 anti-HSP90 抗体购自美国 R&D 公司, anti-CD31 抗体购自 Abclone 公司, anti-GAPDH、羊抗兔及羊抗鼠二抗均购自杭州联科生物科技有限公司, ECL 发光分析试剂盒购自优宁维生物科技有限公司, LV3000 激光共聚焦扫描显微镜购自奥林巴斯公司, Nanosight NS300 纳米颗粒跟踪分析仪购自马尔文公司, 4~5 周龄裸鼠购自金港生物技术股份有限公司 (动物合格证编号: 2019002132)。

### 1.2 慢病毒转染 SJS-1 细胞构建稳定过表达或敲低 PDGF-BB 的细胞系

PDGF-BB 过表达慢病毒以及 shPDGF-BB 慢病毒由上海汉恒生物科技有限公司生产。取对数生长期的 SJS-1 细胞接种于 6 孔板 ( $2 \times 10^5$  个/孔), 第 2 天待细胞汇合度达 70% 时进行慢病毒感染, 即加入 50  $\mu$ l 慢病毒浓缩液与 6  $\mu$ g/ml 的 polybrene 试剂, 放入 37  $^{\circ}$ C、5%  $\text{CO}_2$  条件下培养 24 h, 更换新鲜的 DMEM 完全培养基, 继续培养。感染第 3 天开始使用 1.5  $\mu$ g/ml 的嘌呤霉素进行筛选, 最终获得过表达 PDGF-BB 及敲低 PDGF-BB 的稳转细胞系, 用 WB 法检测细胞内 PDGF-BB 的表达进行验证。PDGF-BB 的干扰序列: 正义链为 5'-CCAUGUUGUUCUACA CUCU dTdT-3', 反义链为 3'-dTdT GGUACAACAAG AUGUGAGA-5'。

### 1.3 外泌体分离及鉴定

细胞在添加 10% FBS (去外泌体) 的培养基中培

养 48~72 h, 收集培养液, 300 $\times$ g 离心 10 min, 2 000 $\times$ g 离心 20 min, 上清液经 0.22  $\mu$ m 孔径滤膜过滤, 与 ExoQuick-TC 混合, 4  $^{\circ}$ C 放置 12 h 后 1 500 $\times$ g 离心 30 min, 得到外泌体沉淀, 将其混悬于 1 ml PBS 中, 取适量样品置纳米颗粒跟踪分析仪中用 NTA 法测定粒径, 同时用透射电镜观察外泌体形态。

### 1.4 蛋白提取及 WB 实验

用含蛋白酶抑制剂和磷酸酶抑制剂的 RIPA 裂解缓冲液从外泌体及细胞中提取蛋白质。用 BCA 蛋白分析试剂盒测定蛋白浓度, SDS-PAGE 法分离蛋白 (细胞蛋白样品为 30  $\mu$ g, 外泌体蛋白样品为 60  $\mu$ g), 分离后的蛋白转移到聚偏氟乙烯膜上, 室温下用含 5% 脱脂奶粉的 1 $\times$ TBST 封闭 1 h, 然后, 将膜与相应的一抗 4  $^{\circ}$ C 孵育过夜, 第 2 天加入二抗在室温下孵育 1 h, 1 $\times$ TBST 清洗 3 次后进行曝光。使用 ImageJ 软件对条带进行量化分析。

### 1.5 免疫荧光和激光共聚焦扫描显微镜观测外泌体的摄取情况

使用内吞抑制剂 Nystatin (25  $\mu$ mol/L) 和 Amiloride (100  $\mu$ mol/L) 处理 HUVEC 30 min, 之后将外泌体与 HUVEC 共孵育, Control 组为不加外泌体的 HUVEC 细胞组。共孵育 6 h 后用 PBS 洗涤, 4%PFA 固定 15 min, 0.3%Triton X-100 处理 15 min, 10% 山羊血清室温阻断 1 h。HUVEC 与一抗在 4  $^{\circ}$ C 孵育 12 h, 再与荧光标记二抗室温孵育 1 h。之后与 DAPI 孵育 5 min, 进行细胞核染色, 最后用激光共聚焦扫描显微镜拍摄图像。

### 1.6 微管形成实验检测外泌体 PDGF-BB 对 HUVEC 血管新生的影响

将 100  $\mu$ l 的 Matrigel 胶包被在 48 孔板中, 37  $^{\circ}$ C 孵育 1 h, 然后将  $1 \times 10^5$  个 HUVEC 接种到 Matrigel 上, 添加含有相关外泌体的培养液培养 12 h, 光学显微镜下成像。用 ImageJ 测量血管的长度。

### 1.7 裸鼠移植瘤实验

取  $6 \times 10^6$  个 SJS-1 细胞重悬在 100  $\mu$ l PBS 中, 接种到裸鼠皮下, 建立裸鼠移植瘤模型。之后每周通过尾静脉注射 2 次外泌体, 0.2 mg/只, 进行肿瘤体积监测, 在接种肿瘤细胞 29 d 后处死小鼠, 剥离皮下移植瘤进行免疫组化分析。

### 1.8 免疫组化法检测外泌体 PDGF-BB 对移植瘤组织中 CD31 表达的影响

对移植瘤组织进行石蜡包埋、切片, 所得到的石蜡切片在二甲苯中脱蜡, 在梯度浓度的乙醇中进行水合, 之后在含 0.3%  $\text{H}_2\text{O}_2$  的甲醇中处理 30 min, PBS 洗涤, 加入 anti-CD31 抗体在 4  $^{\circ}$ C 孵育过夜。PBS 洗涤后, 将石蜡切片与生物素标记的二抗在室

温下处理 2 h, 苏木精复染, 用倒置显微镜进行观察并拍照记录。对免疫组化染色阳性的区域进行计数, 如图中箭头所示, 选取 6 个不同视野的阳性染色结果之和即为该样本的血管密度。

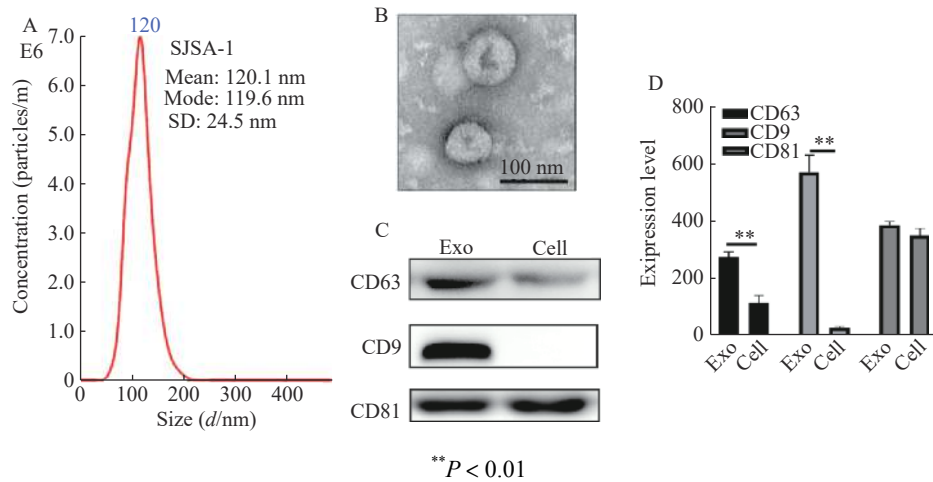
1.9 统计学处理

采用 SPSS18.0 软件处理, 呈正态分布的计量数据用  $\bar{x} \pm s$  表示, 两组间比较采用非配对 *t* 检验, 两组以上数据采用单因素方差分析进行检验, 以  $P < 0.05$  或  $P < 0.01$  即表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 成功分离骨肉瘤细胞中的外泌体

对从骨肉瘤细胞 143B、G-63、Saos-2、U2OS、SJSA-1 中分离得到的产物进行粒度分析, 结果(图 1A)表明粒径约 120 nm, 电镜观察的结果(图 1B)也显示明显的囊泡样形态。WB 检测结果(图 1C、D)显示, 在分离所得产物中, 外泌体特征蛋白 CD9 及 CD63 表达量较 SJSA-1 细胞而言显著提高 ( $P < 0.01$ )。



A: The size of isolated exosomes was majorly 30-150 nm measured by NTA; B: Morphology of exosomes observed under an electron microscope; C: High levels of CD9 and CD63 were detected in isolated exosomes

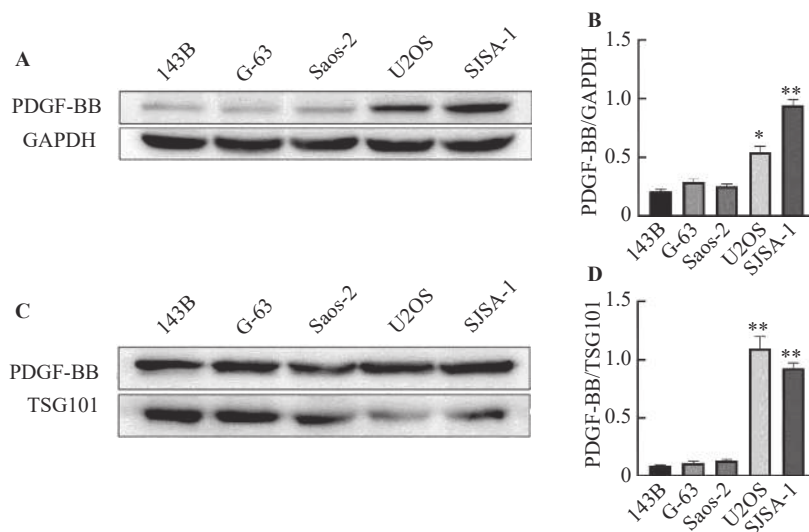
图 1 从骨肉瘤细胞中分离的外泌体

Fig.1 Exosome isolated from osteosarcoma cells

2.2 PDGF-BB 在骨肉瘤细胞中的表达情况

WB 检测 PDGF-BB 在骨肉瘤细胞(图 2A、B)及其外泌体(图 2C、D)中的水平, 结果显示, 所测

各株骨肉瘤细胞及外泌体中均表达 PDGF-BB, 而在 U2OS 和 SJSA-1 细胞及其分离所获外泌体中表达水平较其他细胞和外泌体更高 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ )。



\*P < 0.05, \*\*P < 0.01 vs 143B, G-63 or Saos-2 cells

A, B: Expression of PDGF-BB in 143B, G-63, Saos-2, U2OS, SJSA-1 cells;

C, D: Expression of PDGF-BB in exosomes isolated from 143B, G-63, Saos-2, U2OS, SJSA-1 cells

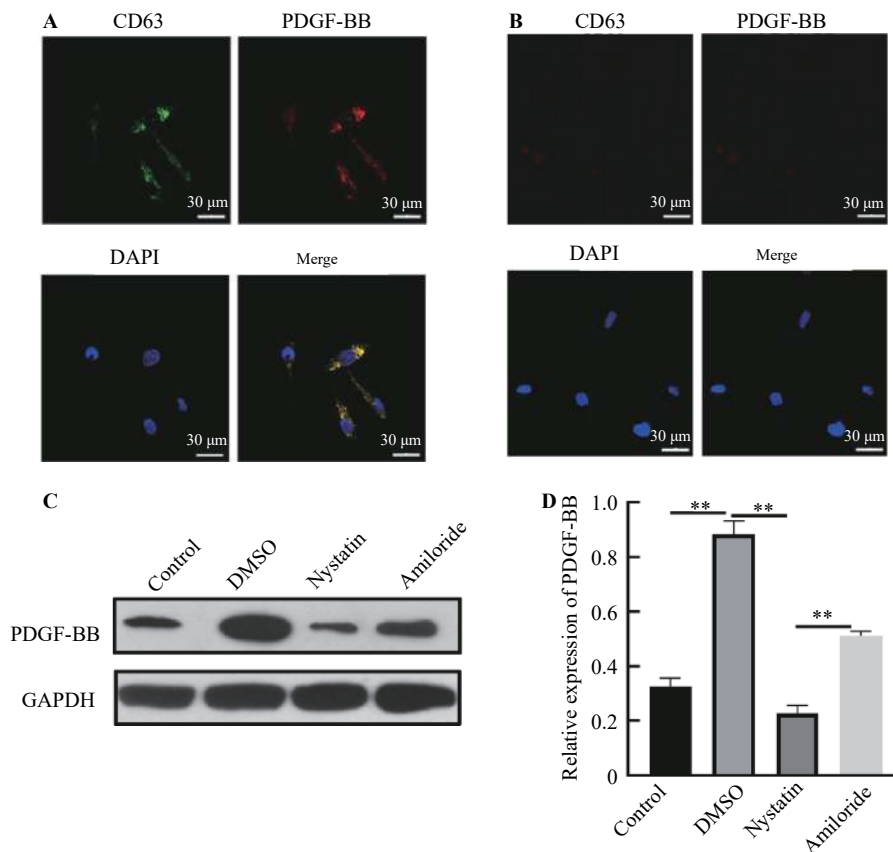
图 2 骨肉瘤细胞及其外泌体中 PDGF-BB 的表达

Fig.2 Expression of PDGF-BB in osteosarcoma cells and their exosomes

### 2.3 外泌体 PDGF-BB 通过细胞内吞进入 HUVEC

将 SJSA-1 细胞来源的外泌体与 HUVEC 共培养, 6 h 后行免疫荧光实验检测蛋白分布, 结果 (图 3A、B) 表明, 共培养组的 HUVEC 中, 外泌体特征蛋白 CD63 以及 PDGF-BB 共定位于细胞质中,

而在单独培养组的 HUVEC 细胞质中则未观察到无 CD63 以及 PDGF-BB 的存在。WB 检测结果 (图 3C、D) 表明, 经 Nystatin 或 Amiloride 预处理后, HUVEC 中 PDGF-BB 的含量较 DMSO 处理组显著减少 ( $P < 0.01$ ,  $t = 56.39$ )。



\*\* $P < 0.01$

A: The confocal laser scanning microscopy pictures of HUVECs after co-incubation with exosomes; B: The confocal laser scanning microscopy pictures of HUVECs only; C: WB of PDGF-BB after co-incubation of exosome and HUVECs pre-treated with nystatin or amiloride; D: Quantified results of figure C

图 3 外泌体 PDGF-BB 通过胞吞作用进入 HUVEC

Fig.3 PDGF-BB entered HUVECs via exosome endocytosis

### 2.4 PDGF-BB 在体外诱导血管新生

使用 SJSA-1 细胞分别构建 PDGF-BB 过表达及 PDGF-BB 敲低的肿瘤细胞系。WB 检测结果显示, 在过表达 PDGF-BB 的 SJSA-1 细胞及其分泌的外泌体中, PDGF-BB 较转染空载体的细胞表达量有所升高 (图 4A); 而对于敲低 PDGF-BB 的 SJSA-1 细胞及其分泌的外泌体, PDGF-BB 的表达量较转染空载体的细胞有所降低 (图 4B)。将两种工程化的细胞中分离得到的外泌体与 HUVEC 共孵育, 微管形成实验结果显示, PDGF-BB 含量高的外泌体可以显著促进血管生成 (图 4C,  $P < 0.01$ ,  $t = 13.51$ ), 相反, PDGF-BB 含量低的外泌体较对照组而言血管生成能力减弱 (图 4D,  $P < 0.01$ ,  $t = 8.226$ )。

### 2.5 外泌体 PDGF-BB 促进骨肉瘤 SJSA-1 细胞裸

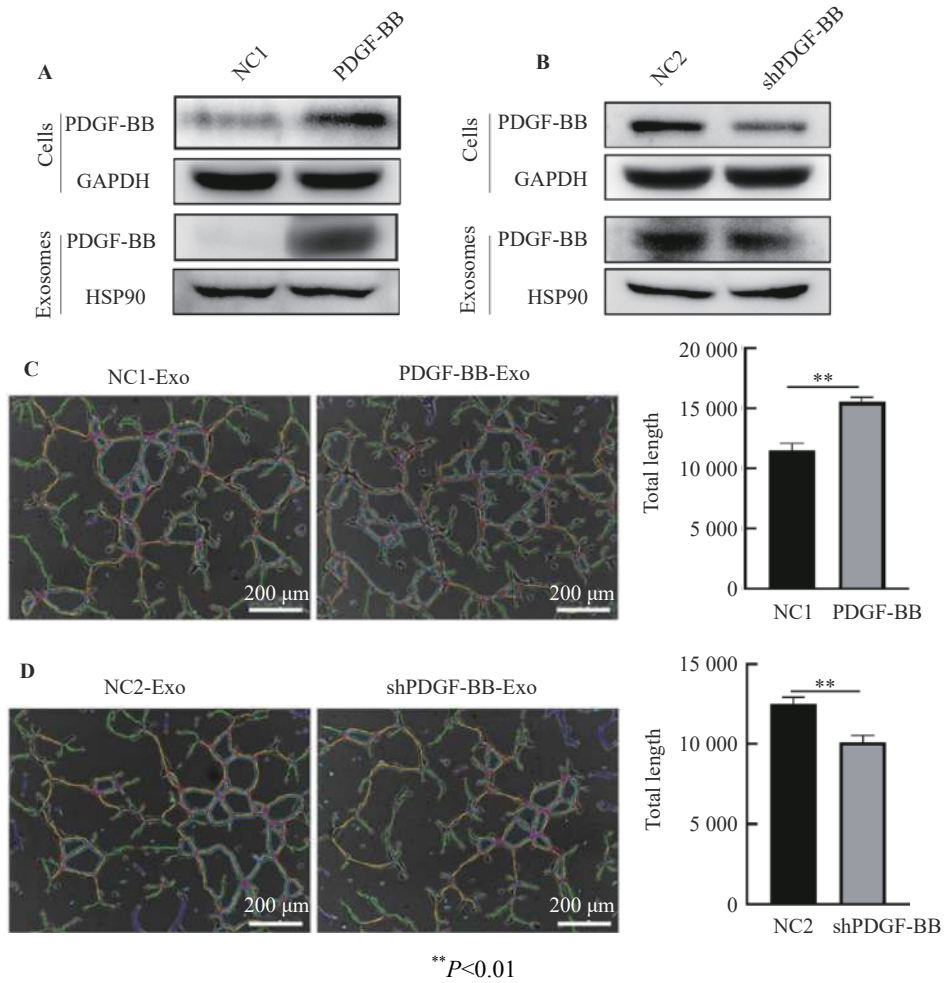
### 鼠移植瘤的生长

利用 SJSA-1 细胞建立裸鼠移植瘤模型, 并且回输 PDGF-BB 含量不同的外泌体进行观察。结果显示, 回输 PDGF-BB 含量高的外泌体后肿瘤生长速度较回输对照外泌体组显著升高 (图 5A,  $P < 0.01$ ), 相反, 回输 PDGF-BB 含量较低的外泌体后肿瘤生长速度较对照组显著降低 (图 5B,  $P < 0.01$ )。

### 2.6 外泌体 PDGF-BB 促进移植瘤血管生成

免疫组化法检测移植瘤组织血管的生成情况, 结果显示, 较对照组而言, 回输 PDGF-BB 含量高的外泌体后, 移植瘤中的血管密度显著增加 (图 6A,  $P < 0.01$ ,  $t = 27.33$ ), 而回输 PDGF-BB 含量低的外泌体较对照组肿瘤中的血管密度显著降低 (图 6B,  $P < 0.01$ ,  $t = 82.17$ )。

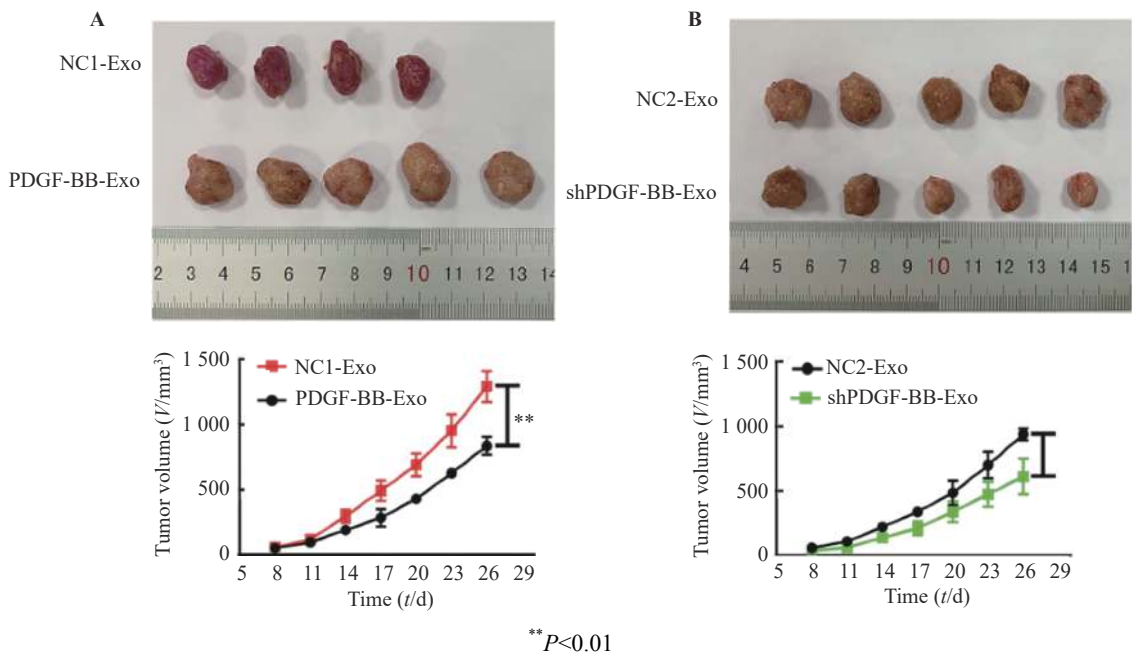




A: PDGF-BB expression in overexpression PDGF-BB cells and exosomes; B: PDGF-BB expression in PDGF-BB knockdown cells and exosomes; C: Microtubule formation after co-incubation HUVEC with exosome derived from PDGF-BB overexpression cells; D: Microtubule formation after co-incubation HUVEC with exosome derived from PDGF-BB knockdown cells

图 4 过表达或敲低 PDGF-BB 表达的 SJSA-1 细胞来源的外泌体在血管生成中的作用

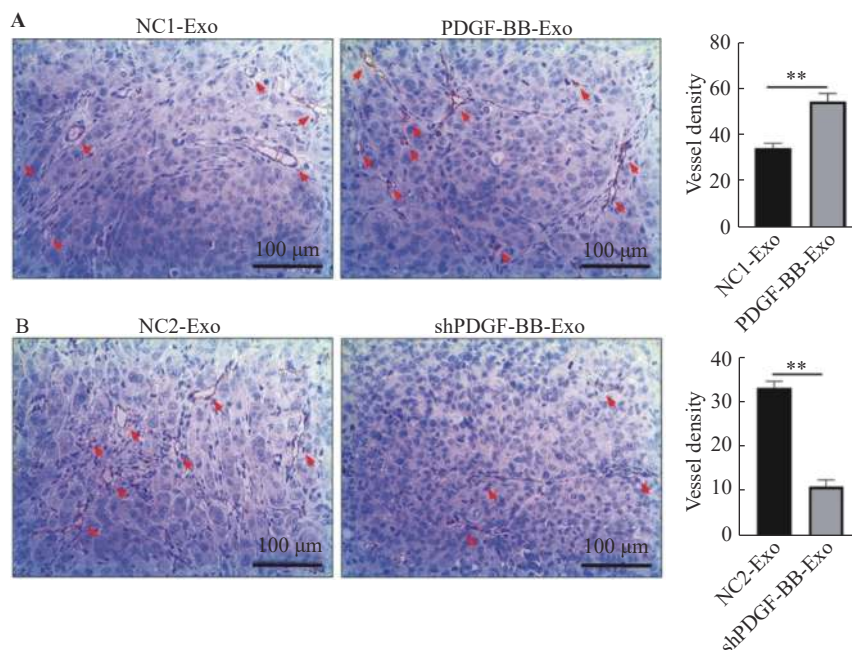
Fig.4 The function of exosome derived from osteosarcoma cells over-expression or knockdown of PDGF-BB in angiogenesis



A: Images and data of tumor samples from mice treated with exosomes derived from PDGF-BB overexpression cells. B: Images and data of tumor samples from mice treated with exosomes derived from PDGF-BB knockdown cells.

图 5 外泌体 PDGF-BB 促进骨肉瘤 SJSA-1 细胞裸鼠移植瘤的生长

Fig.5 Exosomal PDGF-BB promoted the growth of osteosarcoma SJSA-1 cell transplanted tumor in nude mice



\*\* $P < 0.01$

A, B: IHC analysis of the vascular density in tumors treated with exosomes derived from PDGF-BB overexpression cells was detected by staining CD31; C, D: IHC analysis of the vascular density in tumors treated with exosomes derived from PDGF-BB knockdown cells was detected by staining CD31

图 6 外泌体 PDGF-BB 促进 SJS-1 细胞移植瘤的血管生成

Fig.6 Exosomal PDGF-BB promotes angiogenesis in SJS-1 xenograft

### 3 讨论

研究<sup>[13-14]</sup>发现, PDGF-BB 在多种肿瘤中都有高水平的表达。然而, PDGF-BB 是否由肿瘤来源的外泌体携带尚未见报道。本研究发现, PDGF-BB 在骨肉瘤来源的外泌体中含量很高, 并且当外泌体与 HUVEC 共孵育后, CD63 与 PDGF-BB 共定位在 HUVEC 中, 这表明 PDGF-BB 是通过外泌体被内化到 HUVEC 中。对于外泌体的内化, 据报道<sup>[15-16]</sup>, 网状蛋白介导的内吞作用是受体细胞吸收外泌体的一种方式。为了确定外泌体 PDGF-BB 的内化是否与内吞作用有关, 本课题组参考文献<sup>[17]</sup>的方法, 在共培养前使用内吞抑制剂制 Nystatin 和 Amiloride 处理 HUVEC, 发现外泌体 PDGF-BB 的内化过程被阻断, 这表明骨肉瘤细胞分泌的外泌体 PDGF-BB 是通过内吞作用进入 HUVEC 的。进一步的研究还发现, 外泌体 PDGF-BB 可以诱导血管生成, 而敲低 PDGF-BB 则会明显抑制外泌体诱导的血管生成作用。

内皮细胞衍生的 PDGF-BB 可介导周细胞向新生血管处募集<sup>[18]</sup>。然而, 有研究表明在使用两种独立肿瘤类型的梯度 PDGF-BB 表达实验中, PDGF-BB 可以诱导周细胞脱离<sup>[19]</sup>。与小鼠肿瘤相似, 人肿瘤中 PDGF-BB 的表达升高会导致周细胞数量减少, 血管覆盖减少。相反, 低水平的 PDGF-BB 环境中通

常出现广泛的血管周细胞覆盖<sup>[6]</sup>。本研究证明了骨肉瘤细胞分泌的外泌体 PDGF-BB 通过直接作用于 HUVEC, 诱导血管新生, 这似乎可以解释为何肿瘤微环境中高水平的 PDGF-BB 常常伴随着血管大量浸润。

尽管骨肉瘤的治疗已经取得了一定进展, 但仍需要新的治疗策略来提高生存率。PDGF-BB 在骨肉瘤血管生成中起关键作用, 针对 PDGF-BB 的抗血管生成的最新研究集中于阻断 PDGF-BB 与周细胞作用的途径。研究<sup>[20]</sup>表明, 骨肉瘤细胞分泌的外泌体 PDGF-BB 可以直接被 HUVEC 摄取, 诱导肿瘤血管生成, 与 PDGF-BB 和周细胞作用的经典途径不同。鉴于这种发现, 通过靶向外泌体分泌及摄取途径可能会改善当前的抗血管生成疗法, 为骨肉瘤的治疗提供一种可能的替代方案。

### [参考文献]

- [1] ANANTHASHAYANA V H, JANA M, MALAPURE S S, et al. Unusual cause of seizure in a child: Intracranial calcified metastasis of osteosarcoma[J]. *Indian J Cancer*, 2020, 57(2): 209-211. DOI: 10.4103/ijc.ijc\_796\_18.
- [2] 胡军, 丰育来, 周中. Artemin 在软骨肉瘤中的表达及其对内皮细胞增殖和迁移的影响[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2020, 27(1): 62-67. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2020.01.010.
- [3] XU L, WEN L, QIAO J, et al. Clinical outcome of free vascularized Fibula graft in the surgical treatment of extremity

- osteosarcoma[J]. *Orthop Surg*, 2020, 12(3): 727-733. DOI: 10.1111/os.12646.
- [4] MEYERS P A, SCHWARTZ C L, KRAILO M D, et al. Osteosarcoma: the addition of muramyl tripeptide to chemotherapy improves overall survival--a report from the Children's Oncology Group[J]. *J Clin Oncol*, 2008, 26(4): 633-638. DOI: 10.1200/jco.2008.14.0095.
- [5] PAPADOPOULOS N, LENNARTSSON J. The PDGF/PDGFR pathway as a drug target[J/OL]. *Mol Aspects Med*, 2018, 62: 75-88 [2020-05-25]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29137923/>. DOI: 10.1016/j.mam.2017.11.007.
- [6] HOSAKA K, YANG Y, SEKI T, et al. Tumour PDGF-BB expression levels determine dual effects of anti-PDGF drugs on vascular remodelling and metastasis[J/OL]. *Nat Commun*, 2013, 4: 2129 [2020-05-25]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23831851/>. DOI: 10.1038/ncomms3129.
- [7] JAIN R K. Normalization of tumor vasculature: an emerging concept in antiangiogenic therapy[J]. *Science*, 2005, 307(5706): 58-62. DOI: 10.1126/science.1104819.
- [8] CHEN Y C, CHANG C N, HSU H C, et al. Sennoside B inhibits PDGF receptor signaling and cell proliferation induced by PDGF-BB in human osteosarcoma cells[J]. *Life Sci*, 2009, 84(25/26): 915-922. DOI: 10.1016/j.lfs.2009.04.003.
- [9] GOH C Y, WYSE C, HO M, et al. Exosomes in triple negative breast cancer: Garbage disposals or Trojan horses?[J/OL]. *Cancer Lett*, 2020, 473: 90-97 [2020-05-26]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31904485/>. DOI: 10.1016/j.canlet.2019.12.046.
- [10] LEBLEU V S, KALLURI R. Exosomes as a multicomponent biomarker platform in cancer[J]. *Trends Cancer*, 2020, 6(9): 767-774. DOI: 10.1016/j.trecan.2020.03.007.
- [11] JEREZ S, ARAYA H, THALER R, et al. Proteomic analysis of exosomes and exosome-free conditioned media from human osteosarcoma cell lines reveals secretion of proteins related to tumor progression[J]. *J Cell Biochem*, 2017, 118(2): 351-360. DOI: 10.1002/jcb.25642.
- [12] RAIMONDI L, DE LUCA A, GALLO A, et al. Osteosarcoma cell-derived exosomes affect tumor microenvironment by specific packaging of microRNAs[J]. *Carcinogenesis*, 2020, 41(5): 666-677. DOI: 10.1093/carcin/bgz130.
- [13] NAKAMURA Y, TANAKA F, YOSHIKAWA Y, et al. PDGF-BB is a novel prognostic factor in colorectal cancer[J]. *Ann Surg Oncol*, 2008, 15(8): 2129-2136. DOI: 10.1245/s10434-008-9943-9.
- [14] ZHANG N, HU H, FU Y, et al. The overexpression of PDGF-BB and its receptor is correlated with lymphatic metastasis in patients with non-small cell lung cancer[J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2018, 11(12): 6010-6017. DOI: 10.1245/s10434-008-9943-9.
- [15] BOGDANOVIC E, NGUYEN V P, DUMONT D J. Activation of Tie2 by angiopoietin-1 and angiopoietin-2 results in their release and receptor internalization[J]. *J Cell Sci*, 2006, 119(pt 17): 3551-3560. DOI: 10.1242/jcs.03077.
- [16] 田翎含, 刘馨, 王熙才. 外泌体源lncRNA在肿瘤及其微环境中的作用[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2019, 26(2): 236-240. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2019.02.016.
- [17] TANG H, CHEN H, JIA Y, et al. Effect of inhibitors of endocytosis and NF- $\kappa$ B signal pathway on folate-conjugated nanoparticle endocytosis by rat Kupffer cells[J/OL]. *Int J Nanomedicine*, 2017, 12: 6937-6947 [2020-05-26]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29075112/>. DOI: 10.2147/ijn.s141407.
- [18] MCCARTY M F, SOMCIO R J, STOELTZING O, et al. Overexpression of PDGF-BB decreases colorectal and pancreatic cancer growth by increasing tumor pericyte content[J]. *J Clin Invest*, 2007, 117(8): 2114-2122. DOI: 10.1172/jci31334.
- [19] FURUHASHI M, SJÖBLOM T, ABRAMSSON A, et al. Platelet-derived growth factor production by B16 melanoma cells leads to increased pericyte abundance in tumors and an associated increase in tumor growth rate[J]. *Cancer Res*, 2004, 64(8): 2725-2733. DOI: 10.1158/0008-5472.can-03-1489.
- [20] DONG A, SEIDEL C, SNELL D, et al. Antagonism of PDGF-BB suppresses subretinal neovascularization and enhances the effects of blocking VEGF-A[J]. *Angiogenesis*, 2014, 17(3): 553-562. DOI: 10.1007/s10456-013-9402-5.
- [收稿日期] 2020-09-18 [修回日期] 2021-01-16  
[本文编辑] 黄静怡