



外泌体源性miRNAs在肺癌发生发展中的作用*

杨一峰^{1,2)} 孙鑫颖^{1,2)} 沈欣桐^{1,2)} 叶格新^{1,2)} 楼程涛^{1,2)}李楠³⁾ 龚朝辉^{1,2)} 孟小丹^{1,2)**}⁽¹⁾ 宁波大学医学院生物化学与分子生物学研究所, 宁波 315211; ⁽²⁾ 浙江省病理生理研究重点实验室, 宁波 315211;⁽³⁾ 郑州大学第一附属医院检验科, 郑州 450052)

摘要 外泌体(exosomes)是细胞分泌的纳米级细胞外囊泡。外泌体通过释放其内的生物活性大分子,比如微小RNA(microRNA, miRNA)到受体细胞,从而介导细胞间交流通讯。MiRNAs作为一类主要在转录后水平负向调控靶mRNAs的非编码RNAs,其在外泌体中含量最为丰富。在肺癌中,miRNAs经肿瘤细胞分泌的外泌体转运释放而发挥重要的作用。本文主要讨论了外泌体源性miRNAs在肺癌发生发展的各个阶段,包括血管生成、细胞增殖、侵袭转移、免疫逃逸、耐药等方面的作用,以及其在作为新型肺癌诊断和预后标志物方面的临床价值。

关键词 外泌体, 微小RNA, 肺癌

中图分类号 Q7, R3, R4

DOI: 10.16476/j.pibb.2019.0273

肺癌是最常见的恶性肿瘤之一^[1],在中国城市人口中,肺癌占肿瘤性疾病死亡原因的第一位^[2-3]。早期肺癌起病隐匿,缺乏特异性症状,大多数患者在首次就诊时即处于中晚期,丧失了最佳的治疗时机^[4]。因此深入了解肺癌发生发展的分子生物学机制对肺癌的早期诊断和靶向治疗具有重要的意义。

外泌体(exosomes)是由细胞分泌的直径在30~100 nm的细胞外囊泡(extracellular vesicle, EV)^[5-6]。外泌体是由细胞膜向内凹陷形成的多泡体(multivesicular body, MVB)与细胞膜融合而释放到细胞外的^[7]。外泌体通过运输其内丰富的内容物,如微小RNA(microRNA, miRNA)、长链非编码RNA(long non-coding RNA, lncRNA)、环状RNA(circular RNA, circRNA)、DNA和蛋白质等活性生物分子^[8-10]到受体细胞,从而介导细胞间交流通讯。在肿瘤患者体内,肿瘤细胞所分泌的外泌体是肿瘤细胞和间质细胞在局部和远处微环境中进行细胞间通讯的关键介质^[11-12]。研究表明,外泌体通过细胞间的交流通讯广泛参与肿瘤发生发展^[13],比如肿瘤的生长、血管生成、侵袭转

移和耐药等^[14-16],以及肿瘤微环境的改变^[17-18]。

MiRNAs作为外泌体的内容物之一,在外泌体介导的细胞间通讯中有着十分重要的意义。MiRNAs是一类长度约为21~25个核苷酸分子的非编码小RNAs,其主要与RNA诱导沉默复合体(RNA-induced silencing complex, RISC)结合,靶向目标mRNAs的3'非翻译区(3'-untranslated region, 3'UTR),从而在转录后水平负向调控靶基因的表达^[19]。由于外泌体可以从多种生物体液,如胸膜腔洗液^[20]、血液^[21]、尿液^[22]和唾液^[23]中分离出来,同时基于miRNAs独特的生物学作用,外泌体源性miRNAs成为了当下国内外的研究热点。本文将对外泌体源性miRNAs在肺癌发生发展中的作用进行总结,并展望外泌体源性miRNAs作为新型肺癌标志物在临床上的应用前景。

* 浙江省自然科学基金(LQ18H200001),国家自然科学基金(81902146),浙江省科技厅公益研究计划(LGF18H160006),宁波市自然科学基金(2019A610224)和王宽诚基金资助项目。

** 通讯联系人。

Tel: 0574-87609951, E-mail: mengxiaodan@nbu.edu.cn

收稿日期: 2019-11-15, 接受日期: 2020-01-14

1 外泌体的生成及其所介导的细胞间交流通讯

1.1 外泌体的生物学生成

外泌体最初由细胞膜向内凹陷形成早期内体, 其包含特定的膜蛋白^[24-26]; 随后, 早期内体膜进一步向内出芽产生管腔内囊泡 (intraluminal vesicle, ILV), ILVs进一步成熟为MVBs^[27]. MVBs有两种结局: 一部分MVBs可与溶酶体融合, 从而导致降解或回收; 另一部分MVBs可与细胞膜融合, 以胞吐的形式释放MVBs成为外泌体, 这个过程主要通过细胞骨架激活, 依赖并受p53蛋白的调控^[28] (图1). 但是, MVBs并不是细胞将外泌体释放到细胞外的唯一机制, 外泌体也可以通过出芽的方式被释放^[29-30] (图1).

1.2 外泌体介导的细胞间交流通讯

在肿瘤患者中, 处在肿瘤微环境中的间质细胞和肿瘤细胞分泌释放外泌体^[31-32], 外泌体携带其内的生物活性大分子可以穿过血管壁, 进入血液循环

并到达远处的器官或组织, 然后通过多种机制进入受体细胞^[14-15, 33]. 一方面, 外泌体通过其表面分子如磷脂酰肌醇蛋白聚糖1 (glypican, GPC1) 直接靶向受体细胞^[34], 通过受体-配体相互作用介导信号传导而进入受体细胞^[35]; 另一方面, 外泌体直接与靶细胞膜融合, 将其内容物输送到细胞质中^[36]; 此外, 受体细胞还可以通过网格蛋白依赖性内吞作用 (clathrin-independent endocytosis, CIE) 和巨胞饮作用 (micropinocytosis, MP) 主动从周围的环境中摄取外泌体, 从而介导外泌体内容物进入细胞质^[37-39] (图1). 外泌体进入受体细胞后, 在细胞质中释放其内容物, 如 miRNAs, miRNAs靶向mRNAs的3' UTR导致mRNAs降解或阻止mRNAs翻译, 从而发挥广泛的生物学功能. 通过以上这种细胞间交流通讯方式, 外泌体可以改变受体细胞的生理病理状态, 广泛参与肿瘤进展的各个阶段, 如血管生成、转移、细胞增殖、肿瘤免疫和耐药等, 甚至可以把野生型细胞转化为肿瘤细胞^[19, 40-42].

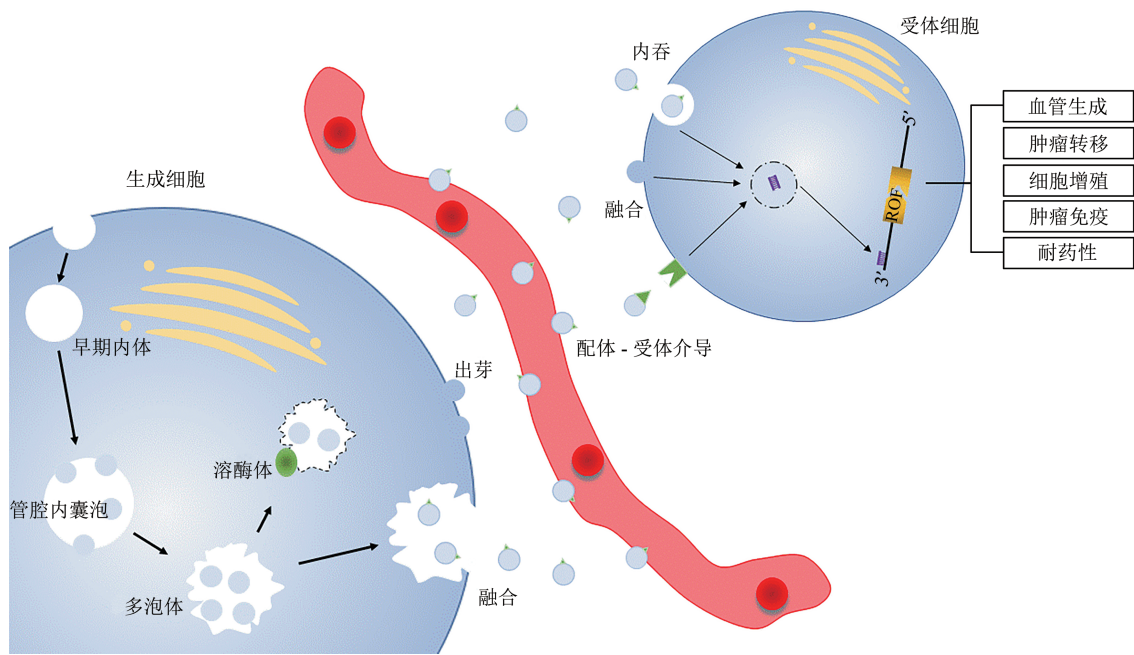


Fig. 1 The biological production of exosomes and their mediated intercellular communication
图1 外泌体的生物学生成及其所介导的细胞间交流通讯

细胞膜向内凹陷形成早期内体, 早期内体膜向内出芽产生ILVs形成MVBs, 一部分MVBs与溶酶体融合导致降解或回收, 另一部分MVBs与细胞膜融合, 以胞吐的形式释放外泌体. 外泌体也可以通过出芽的方式被释放. 被释放的外泌体穿过血管壁, 进入血液循环并到达远处的器官或组织, 通过融合、胞吞、配体-受体介导等形式进入受体细胞, 从而改变受体细胞的生理病理状态.

2 外泌体miRNAs在肺癌发生发展中的作用

2.1 外泌体miRNAs与肺癌血管生成

在肿瘤微环境中,不同类型细胞所释放的外泌体在肿瘤血管生成过程中扮演着重要介质的角色^[43].Lawson等^[44]研究发现,肺癌细胞来源的外泌体可以介导其所携带的miR-142-3p进入内皮细胞和成纤维细胞,通过靶向转化生长因子 β 受体1(transforming growth factor- β receptor 1, TGF β R1)促进肿瘤的发生和血管生成.Cui等^[45]研究发现,金属蛋白酶组织抑制因子1(tissue inhibitor of metalloproteinases-1, TIMP-1)通过诱导细胞内缺氧诱导因子1(hypoxia-inducible factor-1, HIF-1),从而在体内模拟缺氧环境,而缺氧状态可以诱导肺腺癌细胞分泌外泌体.从缺氧细胞中分离的外泌体含有较高水平的miR-210,miR-210继而抑制基质细胞表面蛋白Ephrin A3的抗血管生成作用,从而促进内皮细胞的血管形成^[45].除此之外,Hsu等^[46]研究发现,外泌体源性miRNAs还可以通过作用于受体细胞内的相关酶类促进血管生成.研究显示,在缺氧状态下,肺癌细胞所分泌外泌体源性miR-23a表达量明显上调,其可作用于受体表皮细胞内的脯氨酰羟化酶1,2(prolyl hydroxylase, PHD),导致细胞内HIF-1水平升高,从而介导血管生成,进而诱导肿瘤细胞的高转移态^[46].有趣的是,Hsu等通过进一步研究发现缺氧条件下的肺癌细胞还可以通过分泌外泌体源性miR-103a直接作用于磷酸化和张力蛋白同源基因(phosphatase and tensin homolog, PTEN),使其表达下调,从而激活PI3K/AKT和STAT3信号传导通路,并促进巨噬细胞向免疫抑制性M2型巨噬细胞转化.而吞饮了外泌体源性miR-103a的巨噬细胞表达高水平的VEGF和血管生成素1(angiopoietin-1, ANG-1),从而促进肺癌的迁移、侵袭和血管生成^[47].此外,Liu等^[48]指出,外泌体源性miR-21可激活STAT3,通过调节受体细胞内EGFRs的表达水平促进血管生成.此研究还进一步证实,外泌体源性miR-21可以使正常人支气管上皮(human bronchial epithelial, HBE)细胞发生恶性转变.以上这些研究表明,肺癌组织或细胞的缺氧状态可以诱导外泌体中miRNAs的异常表达,这些异常表达的miRNAs调控相关的血管生成基因,从而促进肺癌进展.

2.2 外泌体miRNAs与肺癌转移

上皮间充质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)是肿瘤细胞获得转移能力的关键和首要步骤^[49-50].许多研究小组已经证实,肿瘤来源的外泌体通过改变周围和远处非肿瘤细胞的相关生物学性状,促进受体细胞的EMT转化,从而促使肿瘤细胞发生迁移^[51].He等^[33]在对高转移性肺癌细胞系SPC-A-1-BM的研究过程中发现,与其亲本细胞SPC-A-1相比,SPC-A-1-BM细胞衍生的外泌体在受体肿瘤细胞中可以诱导出更多的转移表型,并且证实miR-499a-5p在SPC-A-1-BM及其所分泌的外泌体中均被明显上调,能够促进肺腺癌细胞增殖、EMT和迁移.不仅如此,Zhang等^[52]研究发现,在缺氧条件下骨髓来源的间充质干细胞(bone marrow mesenchymal stem cell, BMSC)可释放更多的外泌体,这些外泌体携带miR-193a-3p、miR-210-3p和miR-5100到受体细胞,通过激活STAT3信号通路,诱导EMT发生,促进肿瘤细胞侵袭能力.此外,外泌体miRNAs还可以通过触发血管通透性或通过调节远处器官的转移前部位来促进肿瘤细胞的播散和生长.Hsu等^[46]通过肺癌小鼠模型的研究发现,肺癌细胞所分泌的外泌体源性miR-23a通过抑制紧密连接蛋白(zonula occludens-1, ZO-1),从而增加血管通透性和肿瘤细胞的跨内皮迁移.骨转移是许多实体瘤产生的最有害临床后果之一,Valencia等^[53]证实,外泌体来源的miR-192可能通过减少破骨细胞生成因子来抑制肿瘤诱导的骨溶解和抑制血管的生成,从而抑制肺癌的转移.这些研究提示,可能通过靶向与肺癌转移相关的外泌体或靶向调节这些外泌体中的一种或多种miRNAs来阻断肺癌转移.

2.3 外泌体miRNAs与肺癌细胞增殖

已有研究表明外泌体源性miRNAs转移到受体细胞后可以调节与细胞增殖代谢相关的基因,从而影响受体细胞的增殖代谢^[8, 54].Grimolizzi等^[55]指出,在早期和晚期非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)患者血清中,miR-126主要不是以游离的形式存在,而是富集于外泌体中.这些外泌体来源的miR-126被认为具有双重调节特性.一方面,来自早期和晚期NSCLC患者的外泌体源性miR-126可诱导人支气管上皮细胞的恶性转化;另一方面,来自正常内皮细胞的外泌体源性miR-126能够抑制NSCLC细胞生长并诱导NSCLC细胞恶性行为的缺失^[55].此外,Yuan等^[56]研究指

出, 外泌体源性 miR-1246 可通过靶向死亡受体 5 (death receptor 5, DR5) 来抑制肿瘤细胞生长的同时还可以增强肿瘤细胞对放射的敏感性. 基于 miRNAs 在肿瘤中可发挥促癌或抑癌作用, 外泌体源性 miRNAs 除了具有抑制肿瘤细胞增殖的功能外, 外泌体源性 miRNAs 还可以通过参与多种信号传导通路促进肿瘤细胞增殖. He 等^[33] 研究指出外泌体源性 miR-499a-5p 通过 mTOR 途径促进肺癌细胞增殖、EMT 和迁移. 不仅如此, Tang 等^[57] 最新的研究指出, 肺癌患者循环外泌体源性 miR-208a 可以通过靶向 p21 和 AKT/mTOR 途径促进肺癌细胞的增殖并抑制肿瘤细胞凋亡, 同时, 外泌体 miR-208a 还可以降低肺癌细胞对放射的敏感性. 因此, Tang 等指出在肺癌进展中, miR-208a 扮演一种新型肿瘤加速器的角色. 此外, Qi 等^[58] 证实外泌体来源的 miR-660-5p 可通过靶向 kruppel 样转录因子 9 (kruppel-like factor 9, KLF9) 来促进 NSCLC 的生长和转移.

2.4 外泌体miRNAs与肺肿瘤免疫

外泌体可以介导肿瘤微环境中的肿瘤细胞、免疫细胞、基质细胞和间充质干细胞间的交流通讯^[59-60]. 例如, 外泌体将其所携带的 miRNAs 传递至靶免疫细胞, 然后通过特定的信号传导通路来调节肿瘤相关的免疫应答, 避免宿主的免疫监视并促进肿瘤转移^[61-62]. 同时, 这些外泌体 miRNAs 可以诱导相关肿瘤微环境的形成, 起到肿瘤启动子的作用^[63]. Fabbri 等^[64] 证实, 肺癌细胞系 A549 和 SK-MES 所产生的外泌体源性 miR-21 和 miR-29a 可结合并激活免疫细胞中 Toll 样受体 (toll-like receptors, TLR) 家族的相关受体 TLR8 和 TLR7, 从而引发 TLR 介导的 NF- κ B 活化和前转移炎性细胞因子的分泌. 外泌体 miRNAs 除了上述的可以通过诱导 MSCs 产生炎性介质的途径介导炎症反应外, 还可以直接抑制自然杀伤 (nature kill, NK) 细胞的抗肿瘤免疫反应. Berchem 等^[65] 研究发现, 在缺氧条件下, 肿瘤细胞所分泌的外泌体中存在高水平的 miR-210 和 miR-23a, 它们可以在体内和体外水平通过以下两种机制参与 NK 细胞的细胞毒性损伤: 一方面, 外泌体源性 miR-210 可以介导转化生长因子 β (transforming growth factor- β , TGF- β) 转移至 NK 细胞, 降低 NK 细胞表面活化性受体凝集素样同型二聚体 (natural killer group 2 member D, NKG2D) 的表达, 从而抑制 NK 细胞的功能; 另一方面, 外泌体来源的 miR-23a 可以直接靶向

NK 细胞中白细胞分化抗原 (cluster of differentiation, CD) 家族中的 107a 亚型并降低其表达, 从而降低其抗肿瘤免疫反应. 综上所述, 外泌体来源的 miRNAs 可以通过调节肺癌细胞的免疫反应影响肺癌的发生发展.

2.5 外泌体miRNAs与肺癌耐药性

外泌体 miRNAs 除了上述的参与肺癌血管生成、肺癌细胞增殖、转移等, 还可以诱导肺癌细胞产生耐药性. 顺铂 (cisplatin, DDP) 是肺癌治疗的常用化学药物, 近年来越来越多的肺癌患者对 DDP 产生了耐药现象. Qin 等^[66] 证实 DDP 抗性 A549 细胞产生的外泌体中 miR-100-5p 显著低表达, 而低表达的 miR-100-5p 被证实参与了 A549 细胞对 DDP 抗性的产生, 该过程主要通过 miR-100-5p 调节受体细胞的哺乳动物雷帕霉素靶蛋白 (mammalian target of rapamycin, mTOR) 的表达来实现. 与此研究结果相呼应, Xiao 等^[67] 在探讨外泌体参与 A549 细胞系对 DDP 敏感性调控的研究中发现, DDP 处理能够显著提高 A549 细胞对外泌体的分泌能力, 并刺激 miR-21 在 A549 细胞中大量富集. 有趣的是, 将经 DDP 处理的 A549 细胞所产生富含 miR-21 的外泌体和野生型细胞共培养, 能够显著提高野生型细胞对 DDP 的耐药性. 同时, 检测产生耐药的野生型细胞中 miR-21 水平, 发现其表达水平有显著的升高, 这提示我们外泌体源性 miR-21 的表达上调降低了肺癌细胞对 DDP 的敏感性, 导致了耐药^[67]. MiR-21 作为常见的促癌性 miRNAs, 不仅可以介导上述的肺癌细胞对 DDP 的耐药性, 而且是外泌体诱导的吉非替尼耐药性的关键介质. 例如, Jing 等^[68] 在研究中发现吉非替尼耐药的肺癌细胞所释放的外泌体降低了吉非替尼敏感细胞的敏感性, 在此过程中, 外泌体分泌的 miR-21 是使肺癌细胞对吉非替尼产生耐药的关键分子. 由此可见, 外泌体 miRNAs 在肺癌细胞产生耐药性中的重要作用.

3 外泌体miRNAs作为肺癌标志物

大量研究表明, 肿瘤来源的外泌体影响肿瘤进程中的多个步骤, 如肿瘤的发生、血管生成、EMT、转移、肿瘤免疫逃逸、耐药等^[69]. 而外泌体这些作用的发挥正是依赖其所包含的生物活性分子, 如 miRNAs. 由于 miRNAs 自身在肿瘤发生发展中扮演重要角色, 同时外泌体的双层膜结构保护其内的 miRNAs 免受 RNA 酶的降解, 肿瘤患者循环

外泌体中 miRNAs 在“液体活检”中独具优势^[69]. 而关于外泌体功能的基础研究及其在诊断和预后方面的转化研究都是在将其从人体样本（胸膜盥洗液、血液、尿液、唾液、胃液等）或细胞培养上清液中分离纯化的基础上进行的. 目前对于外泌体的分离纯化有以下几种常用的方法，它们各有优劣（表1）.

3.1 循环外泌体提取方法

3.1.1 超速离心法

目前分离外泌体使用最广泛的方法就是超速离心^[47, 70-71]. 该方法通过不同的速度离心去除细胞、细胞碎片和大分子蛋白质，然后以超速（大约 100 000×g）离心将外泌体沉降下来^[72]. 此方法可以有效地分离外泌体，实验成本低，但在操作上比较耗时^[73-74]，而且可能会导致大量外泌体丢失^[75]. 基于以上特性，超速离心并不适用于从少量样品中提取外泌体.

3.1.2 密度梯度离心法

密度梯度离心法利用惰性梯度介质，通过一定的离心力把外泌体分配到梯度中的特定位置上，从而实现外泌体的分离^[76]. 其中最常用的是蔗糖密度梯度离心法^[77]. 与超速离心相比，该方法的优势在于，它具有更高的分离效率，利用蔗糖缓冲液可以去除更多的污染物，从而获得纯度更高的外泌体^[78-79]. 其次，在分离过程中，外泌体颗粒不太可能被压碎或变形，能够保证外泌体结构和功能的完整性. 但此方法的缺点是所需仪器昂贵，同时实验准备和操作比较耗时，不利用大量外泌体的富集.

3.1.3 免疫磁珠提取法

免疫磁珠提取法是通过免疫磁珠表面的特异性单克隆抗体与外泌体表面特异性受体分子如 CD9、CD63、CD81 等之间的特异性结合，从而达到分离

外泌体的目的^[80-81]. 此方法可确保所提取外泌体的纯度和完整性，同时基于特异性标志物的选择，可以实现样品中特定亚群外泌体的分选^[82]. 然而，该方法的不足在于，从磁珠上洗脱外泌体比较困难^[72]，并且所使用缓冲液的 pH 值和盐浓度可能影响外泌体的生物活性，不利于后续外泌体功能的研究^[73].

3.1.4 试剂盒提取法

试剂盒提取法是基于化合物聚合沉淀的原理，其中 ExoQuick 是最常用提取外泌体的试剂^[32, 83]. 试剂盒提取法仅需基本的离心设备，简单易操作，提取效率高，但由于缺乏特异性，可能会导致所得外泌体纯度过低^[72, 84]. 此外，ExoQuick 试剂昂贵，对于高通量样品的研究会产生一定的财务负担. 除了 ExoQuick 以外，市面上还有其他试剂盒可以实现从特定类型的样品中提取外泌体^[85].

3.1.5 色谱法

色谱法是将样品中的颗粒根据其大小，以不同的速率通过过滤柱而达到分离的目的. 通过色谱法获得的外泌体通常具有高纯度并且大小均一^[72]. 然而，该方法产量较低，同时对实验室设备要求较高，因此难以广泛应用于临床或基础研究实验室.

3.1.6 超滤法

超滤是基于超滤膜的孔径允许特定相对分子质量的物质通过或被拦截的原理^[75, 86]，从而实现外泌体的分离. 与传统的超速离心技术相比，超滤法耗时少，同时所需的压力要远远低于超速离心，降低了外泌体破裂的可能性，保证了外泌体的完整性. 但是，超滤法很难排除与外泌体具有相似直径的化合物或分子，导致所分离外泌体的纯度不高^[87].

Table 1 The comparison of exosome extraction methods

表1 外泌体提取方法比较

方法	优点	缺点	参考文献
超速离心	纯度较高、适用于大量样品	耗时、产量低	[47, 70-75]
密度梯度离心	纯度高、外泌体完整	耗时、产量低	[76-79]
免疫磁珠提取	省时省力、外泌体完整	产量低、试剂昂贵、外泌体活性易受影响	[72-73, 80-82]
试剂盒提取	省时省力、适用于少量样品	纯度低、产量较低、试剂昂贵	[32, 72, 83-85]
色谱法	纯度高、外泌体大小均一	产量低	[72]
超滤法	省时省力、外泌体完整	纯度低、产量低	[75, 86-87]

3.2 外泌体 miRNAs 与肺癌的早期诊断与预后判断

由于外泌体普遍存在于血液、唾液、尿液、乳

汁、脑脊液、肺泡盥洗液^[88]等诸多体内外液中^[89]，因此其易于通过微创途径获取，取材便利.

外泌体脂质双层膜的保护作用使其内容物 miRNAs 能够稳定存在于各种体液中. 研究表明外泌体能够在 4℃条件下稳定保存超过 2 周, 在 -20℃条件下可以保存 5 年而不丧失生物学活性^[90]. 因此, 鉴于外泌体源性 miRNAs 的稳定性及其在肺癌进展中的重要作用, 外泌体中 miRNAs 作为新型生物学标志物在肺癌的早期诊断和预后评估中独具优势 (表 2). Zhang 等^[91] 研究证实, 在肺腺癌患者血清

中外泌体中上调的 let-7a-5p 和 B 淋巴细胞瘤 2 基因家族 (B-cell lymphoma-2, BCL2) 中的 BCL2L1 基因预示着患者术后会出现较低的生存率. 而在最近的研究中, Zhang 等^[92] 又通过比较 NSCLC 患者和健康人血清外泌体中 miR-17-5p 的表达, 发现 miR-17-5p 表达在 NSCLC 患者中显著上调, 有可能成为 NSCLC 早期诊断标志物. 不仅如此, Kanaoka 等^[93] 证实血浆外泌体中的 miR-451a 水平不仅与小

Table 2 The role of exosomal miRNAs in lung cancer
表2 外泌体源性 miRNAs 在肺癌中的作用

miRNAs	样本类型	表达水平	作用	参考文献
miR-142-3p	细胞培养液上清	高表达	促进肿瘤发生和血管生成	[44]
miR-210	细胞培养液上清	高表达	促进血管生成	[45]
miR-23a	细胞培养液上清和血清	高表达	促进血管生成、诱导高转移态	[46]
miR-103a	细胞培养液上清	高表达	促进肺癌细胞增殖、迁移和血管生成	[47]
miR-21	血清	高表达	促进血管生成	[48]
miR-499a-5p	血清	高表达	促进增殖、EMT和迁移	[33]
miR-193a-3p	细胞培养液上清	高表达	诱导EMT发生、促进侵袭能力	[51]
miR-5100	细胞培养液上清	高表达	诱导EMT发生、促进侵袭能力	[51]
miR-210-3p	细胞培养液上清	高表达	诱导EMT发生、促进侵袭能力	[51]
miR-23a	细胞培养液上清和血清	高表达	增加血管通透性和跨内皮迁移能力	[46]
miR-192	细胞培养液上清	高表达	抑制转移	[52]
miR-126	血清	高表达	诱导恶性转化、抑制生长并诱导恶性行为缺失	[55]
miR-1246	细胞培养液上清	高表达	抑制肺癌细胞生长、增强对放射的敏感性	[56]
miR-499a-5p	细胞培养液上清	高表达	促进肺癌细胞增殖、EMT和迁移	[33]
miR-208a	血清	高表达	促进细胞增殖、抑制凋亡、降低细胞对放射的敏感性	[57]
miR-660-5p	血浆	高表达	促进肺癌细胞生长和转移	[58]
miR-21	细胞培养液上清	高表达	激活NF-κB信号通路、促进前转移炎症细胞因子的分泌	[64]
miR-29a	细胞培养液上清	高表达	激活NF-κB信号通路、促进前转移炎症细胞因子的分泌	[65]
miR-210	细胞培养液上清	高表达	抑制NK细胞功能	[65]
miR-23a	细胞培养液上清	高表达	抑制NK细胞抗肿瘤免疫反应	[65]
miR-100-5p	细胞培养液上清	低表达	增加DDP敏感性	[66]
miR-21	细胞培养液上清	高表达	降低DDP敏感性	[67]
miR-21	细胞培养液上清	高表达	增加吉非替尼耐药性	[68]
BCL2L1	血清	高表达	预后判断标志物	[91]
let-7a-5p	血清	低表达	预后判断标志物	[91]
miR-17-5p	血清	高表达	早期诊断标志物	[92]
miR-451a	血浆	高表达	复发和预后判断标志物	[93]
miR-4257	血浆	高表达	术后复发标志物	[94]
miR-21	血浆	高表达	术后复发标志物	[94]
miR-222-3p	血清	高表达	吉西他滨耐药性标志物	[95]
miR-29a-3p	血浆	低表达	放射治疗敏感性/副作用标志物	[96]
miR-150-5p	血浆	低表达	放射治疗敏感性/副作用标志物	[96]
miRNA-1-3p	胸膜灌洗液	低表达	肺癌诊断标志物	[20]
miRNA-144-5p	胸膜灌洗液	低表达	肺癌诊断标志物	[20]
miRNA-150-5p	胸膜灌洗液	高表达	肺癌诊断标志物	[20]
miR-29a-3p	血浆	低表达	放射治疗敏感性/副作用标志物	[96]

细胞肺癌患者的病理分期而且与术后复发密切相关. 此外, Dejima 等^[94] 研究证明, 在受到根治性切除治疗的 NSCLC 患者中, 其血浆外泌体中 miR-21 和 miR-4257 的表达水平可以用来预测术后复发情况. 值得一提的是, 外泌体中 miRNAs 在肺癌患者对化疗药物的耐药性预测方面也具有可观的临床价值. Wei 等^[95] 在研究肺癌患者吉西他滨耐药性的过程中发现, NSCLC 患者血清中外泌体 miR-222-3p 水平可以预测肺癌患者对吉西他滨的敏感性. 此外, 外泌体源性 miRNAs 还可以作为与放疗剂量相关的生物学标志物. 已有研究表明 miRNAs 在肺癌细胞的放射敏感性中起作用, Dinh 等^[96] 研究发现, 肺癌患者外泌体源性 miR-29a-3p 和 miR-150-5p 的异常表达水平可以反映出患者对放射治疗的敏感性, 同时还可以用于预测放射疗法中可能产生的副作用, 例如毒性反应. 除了来自血液中的外泌体源性 miRNAs 可以用于肺癌早期诊断和预后判断外, 来自胸膜盥洗液的外泌体源性 miRNAs 同样有望成为新型肺癌生物学标志物. Roman-Canal 等^[20] 证实联合使用 miRNA-1-3p、miRNA-144-5p 和 miRNA-150-5p 比单个 miRNA 诊断的准确性更高. 综上所述, 外泌体 miRNAs 在作为新型肺癌早期诊断和预后判断标志物方面具有巨大的临床应用价值. 但是在其能够进入临床应用前, 还需要在不同的实验室中开展大样本量的研究, 同时采集长期(>10 年)跟踪的患者预后资料做统计分析, 以明确某种或多种外泌体 miRNAs 对肺癌诊断和预后判断方面的价值. 目前, 借助于高通量测序技术以及单个细胞或单个外泌体测序技术的发展, 更多的与肺癌相关的特异性外泌体 miRNAs 有望被发现.

4 展 望

外泌体作为一类可携带丰富生物信息, 包括各种蛋白质、核酸等物质的纳米级细胞外囊泡, 介导各种类型细胞间的交流通讯. 其所包含的生物活性内容物对受体细胞的生物学性状及肿瘤微环境发挥重要的调节作用. 在肺癌患者中, 由于 miRNAs 自身功能的多样性以及外泌体对其的靶向运输, 外泌体源性 miRNAs 在肺癌的发生发展中发挥着重要的作用, 使其有望成为肺癌治疗的潜在靶点. 例如我们可以通过人工改造外泌体, 使外泌体携带大量的抑癌性 miRNAs, 然后把富含抑癌性 miRNAs 的外泌体回输到肺癌患者体内, 以期望肺癌细胞摄取改造后的外泌体, 从而通过释放的抑癌性 miRNAs 达

到抑制肺癌细胞恶性特质的目的. 除治疗靶点外, 外泌体源性 miRNAs 有望在临床上成为新型的肺癌早期诊断和预后判断生物学标志物. 但是, 目前外泌体 miRNAs 的研究仍然面临诸多问题和挑战. 例如: 在肿瘤患者中, 外泌体特异性地包装某类 miRNAs, 使其含量明显增多的机制尚不清楚; 进行外泌体研究的首要步骤, 其最优纯化方法目前没有统一的定论; 尚不完全明确外泌体源性 miRNAs 的所有潜在靶基因等等. 因此, 外泌体源性 miRNAs 能够在临床上成为肺癌治疗的靶点和肺癌诊断标志物前, 这些问题亟待研究和解决.

参 考 文 献

- [1] Chen F, Huang C, Wu Q, *et al.* Circular RNAs expression profiles in plasma exosomes from early-stage lung adenocarcinoma and the potential biomarkers. *J Cell Biochem*, 2020, **121**(3): 2525-2533
- [2] Torre L A, Siegel R L, Jemal A. Lung cancer statistics. *Adv Exp Med Biol*, 2016, **893**:1-19
- [3] 宋治鹏, 刘洋. 液体活检在肺癌早期诊断中的研究进展. *中国肺癌杂志*, 2018, **21**(08): 620-627
Song Z P, Liu Y. *CJLC*, 2018, **21**(08): 620-627
- [4] 潘金昌, 孟小丹, 龚朝辉. lncRNA 作为竞争性内源 RNA 在非小细胞肺癌中的作用. *生物化学与生物物理进展*, 2018, **45**(11): 1126-1135
Pan J C, Meng X D, Gong Z H. *Prog Biochem Biophys*, 2018, **45**(11): 1126-1135
- [5] Ma L, Li Y, Peng J, *et al.* Discovery of the migrasome, an organelle mediating release of cytoplasmic contents during cell migration. *Cell Res*, 2015, **25**(1): 24-38
- [6] Tkach M, Thery C. Communication by extracellular vesicles: where we are and where we need to go. *Cell*, 2016, **164**(6): 1226-1232
- [7] Zhou M, Chen J, Zhou L, *et al.* Pancreatic cancer derived exosomes regulate the expression of TLR4 in dendritic cells via miR-203. *Cell Immunol*, 2014, **292**(1-2): 65-69
- [8] Valadi H, Ekstrom K, Bossios A, *et al.* Exosome-mediated transfer of mRNAs and microRNAs is a novel mechanism of genetic exchange between cells. *Nat Cell Biol*, 2007, **9**(6): 654-659
- [9] Bang C, Thum T. Exosomes: new players in cell-cell communication. *Int J Biochem Cell Biol*, 2012, **44**(11): 2060-2064
- [10] Gajos-Michniewicz A, Duechler M, Czyz M. MiRNA in melanoma-derived exosomes. *Cancer Lett*, 2014, **347**(1): 29-37
- [11] Teng Y, Ren Y, Hu X, *et al.* MVP-mediated exosomal sorting of miR-193a promotes colon cancer progression. *Nat Commun*, 2017, **8**:14448-14464
- [12] Fatima F, Nawaz M. Stem cell-derived exosomes: roles in stromal remodeling, tumor progression, and cancer immunotherapy. *Chin J Cancer*, 2015, **34**(12): 541-553
- [13] Chen S, Datta-Chaudhuri A, Deme P. Lipidomic characterization

- of extracellular vesicles in human serum. *J Circ Biomark*, 2019, **8**:1849454419879848
- [14] Milane L, Singh A, Mattheolabakis G, *et al.* Exosome mediated communication within the tumor microenvironment. *J Control Release*, 2015, **219**:278-294
- [15] Li H, Luo Y, Zhu L, *et al.* Glia-derived exosomes: promising therapeutic targets. *Life Sci*, 2019, **239**: 116951
- [16] Li X, Li C, Zhang L, *et al.* The significance of exosomes in the development and treatment of hepatocellular carcinoma. *Mol Cancer*, 2020, **19**(1): 1-11
- [17] Wan Z, Gao X, Dong Y, *et al.* Exosome-mediated cell-cell communication in tumor progression. *Am J Cancer Res*, 2018, **8**(9): 1661-1673
- [18] Le M T, Hamar P, Guo C, *et al.* miR-200-containing extracellular vesicles promote breast cancer cell metastasis. *J Clin Invest*, 2014, **124**(12): 5109-5128
- [19] Colombo M, Raposo G, Thery C. Biogenesis, secretion, and intercellular interactions of exosomes and other extracellular vesicles. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 2014, **30**(1): 255-289
- [20] Roman-Canal B, Moiola C P, Gatiús S, *et al.* EV-associated miRNAs from pleural lavage as potential diagnostic biomarkers in lung cancer. *Sci Rep*, 2019, **9**(1): 15057
- [21] Caby M P, Lankar D, Vincendeau-Scherrer C, *et al.* Exosomal-like vesicles are present in human blood plasma. *Int Immunol*, 2005, **17**(7): 879-887
- [22] Bryzgunova O E, Zaripov M M, Skvortsova T E, *et al.* Comparative study of extracellular vesicles from the urine of healthy individuals and prostate cancer patients. *Plos One*, 2016, **11**(6): e0157566
- [23] Ogawa Y, Kanai-Azuma M, Akimoto Y, *et al.* Exosome-like vesicles with dipeptidyl peptidase IV in human saliva. *Biol Pharm Bull*, 2008, **31**(6): 1059-1062
- [24] Stoorvogel W, Kleijmeer M J, Geuze H J, *et al.* The biogenesis and functions of exosomes. *Traffic*, 2002, **3**(5): 321-330
- [25] Akers J C, Gonda D, Kim R, *et al.* Biogenesis of extracellular vesicles (EV): exosomes, microvesicles, retrovirus-like vesicles, and apoptotic bodies. *J Neurooncol*, 2013, **113**(1): 1-11
- [26] Frydrychowicz M, Kolecka-Bednarczyk A, Madejczyk M, *et al.* Exosomes - structure, biogenesis and biological role in non-small-cell lung cancer. *Scand J Immunol*, 2015, **81**(1): 2-10
- [27] 邹洪波, 邹红, 许川. 外泌体在肺癌诊断及治疗中的研究进展. *中国肺癌杂志*, 2016, **19**(11): 778-783
- Zou H B, Wu H, Xu C. *CJLC*, 2016, **19**(11): 778-783
- [28] Camussi G, Deregius M C, Bruno S, *et al.* Exosomes/microvesicles as a mechanism of cell-to-cell communication. *Kidney Int*, 2010, **78**(9): 838-848
- [29] Trajkovic K, Hsu C, Chiantia S, *et al.* Ceramide triggers budding of exosome vesicles into multivesicular endosomes. *Science*, 2008, **319**(5867): 1244-1247
- [30] Booth A M, Fang Y, Fallon J K, *et al.* Exosomes and HIV Gag bud from endosome-like domains of the T cell plasma membrane. *J Cell Biol*, 2006, **172**(6): 923-935
- [31] Plebanek M P, Angeloni N L, Vinokour E, *et al.* Pre-metastatic cancer exosomes induce immune surveillance by patrolling monocytes at the metastatic niche. *Nat Commun*, 2017, **8**(1): 1319-1331
- [32] Liu Y, Gu Y, Han Y, *et al.* Tumor exosomal RNAs promote lung pre-metastatic niche formation by activating alveolar epithelial TLR3 to recruit neutrophils. *Cancer Cell*, 2016, **30**(2): 243-256
- [33] He S, Li Z, Yu Y, *et al.* Exosomal miR-499a-5p promotes cell proliferation, migration and EMT via mTOR signaling pathway in lung adenocarcinoma. *Exp Cell Res*, 2019, **379**(2): 203-213
- [34] Frampton A E, Prado M M, Lopez-Jimenez E, *et al.* Glypican-1 is enriched in circulating-exosomes in pancreatic cancer and correlates with tumor burden. *Oncotarget*, 2018, **9**(27): 19006-19013
- [35] Gu J, Qian H, Shen L, *et al.* Gastric cancer exosomes trigger differentiation of umbilical cord derived mesenchymal stem cells to carcinoma-associated fibroblasts through TGF-beta/Smad pathway. *Plos One*, 2012, **7**(12): e52465
- [36] Nawaz M, Camussi G, Valadi H, *et al.* The emerging role of extracellular vesicles as biomarkers for urogenital cancers. *Nat Rev Urol*, 2014, **11**(12): 688-701
- [37] Costa Verdera H, Gitz-Francois J J, Schiffelers R M, *et al.* Cellular uptake of extracellular vesicles is mediated by clathrin-independent endocytosis and macropinocytosis. *J Control Release*, 2017, **266**:100-108
- [38] Doherty G J, McMahon H T. Mechanisms of endocytosis. *Annu Rev Biochem*, 2009, **78**(1): 857-902
- [39] Mayor S, Pagano R E. Pathways of clathrin-independent endocytosis. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2007, **8**(8): 603-612
- [40] Kahlert C, Kalluri R. Exosomes in tumor microenvironment influence cancer progression and metastasis. *J Mol Med (Berl)*, 2013, **91**(4): 431-437
- [41] Zhang Y, Liu Y, Liu H, *et al.* Exosomes: biogenesis, biologic function and clinical potential. *Cell Biosci*, 2019, **9**: 19
- [42] Liu Y, Gu Y, Cao X. The exosomes in tumor immunity. *Oncoimmunology*, 2015, **4**(9): e1027472
- [43] Gai C, Carpanetto A, Deregius M C, *et al.* Extracellular vesicle-mediated modulation of angiogenesis. *Histol Histopathol*, 2016, **31**(4): 379-391
- [44] Lawson J, Dickman C, Towle R, *et al.* Extracellular vesicle secretion of miR-142-3p from lung adenocarcinoma cells induces tumor promoting changes in the stroma through cell-cell communication. *Mol Carcinog*, 2019, **58**(3): 376-387
- [45] Cui H, Seubert B, Stahl E, *et al.* Tissue inhibitor of metalloproteinases-1 induces a pro-tumorigenic increase of miR-210 in lung adenocarcinoma cells and their exosomes. *Oncogene*, 2015, **34**(28): 3640-3650
- [46] Hsu Y L, Hung J Y, Chang W A, *et al.* Hypoxic lung cancer-secreted exosomal miR-23a increased angiogenesis and vascular permeability by targeting prolyl hydroxylase and tight junction protein ZO-1. *Oncogene*, 2017, **36**(34): 4929-4942
- [47] Livshits M A, Khomyakova E, Evtushenko E G, *et al.* Isolation of

- exosomes by differential centrifugation: Theoretical analysis of a commonly used protocol. *Sci Rep*, 2015, **5**:17319-17332
- [48] 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. *Cancer Lett*, 2016, **370**(1): 125-135
- [49] Tang H, Huang X, Wang J, *et al.* circKIF4A acts as a prognostic factor and mediator to regulate the progression of triple-negative breast cancer. *Mol Cancer*, 2019, **18**(1): 23-31
- [50] Ye F, Gao G, Zou Y, *et al.* circFBXW7 inhibits malignant progression by sponging miR-197-3p and encoding a 185-aa protein in triple-negative breast cancer. *Mol Ther Nucleic Acids*, 2019, **18**:88-98
- [51] Kim J, Afshari A, Sengupta R, *et al.* Replication study: melanoma exosomes educate bone marrow progenitor cells toward a pro-metastatic phenotype through MET. *elife*, 2018, **7**: pii e39944
- [52] Zhang X, Sai B, Wang F, *et al.* Hypoxic BMSC-derived exosomal miRNAs promote metastasis of lung cancer cells *via* STAT3-induced EMT. *Mol Cancer*, 2019, **18**(1): 40-55
- [53] Valencia K, Luis-Ravelo D, Bovy N, *et al.* miRNA cargo within exosome-like vesicle transfer influences metastatic bone colonization. *Mol Oncol*, 2014, **8**(3): 689-703
- [54] Esquela-Kerscher A, Slack F J. Oncomirs - microRNAs with a role in cancer. *Nat Rev Cancer*, 2006, **6**(4): 259-269
- [55] Grimolizzi F, Monaco F, Leoni F, *et al.* Exosomal miR-126 as a circulating biomarker in non-small-cell lung cancer regulating cancer progression. *Sci Rep*, 2017, **7**(1): 15227-15239
- [56] Yuan D, Xu J, Wang J, *et al.* Extracellular miR-1246 promotes lung cancer cell proliferation and enhances radioresistance by directly targeting DR5. *Oncotarget*, 2016, **7**(22): 32707-32722
- [57] Tang Y, Cui Y, Li Z, *et al.* Radiation-induced miR-208a increases the proliferation and radioresistance by targeting p21 in human lung cancer cells. *J Exp Clin Cancer Res*, 2016, **35**: 7
- [58] Qi Y, Zha W, Zhang W. Exosomal miR-660-5p promotes tumor growth and metastasis in non-small cell lung cancer. *J BUON*, 2019, **24**(2): 599-607
- [59] Muralidharan-Chari V, Clancy J W, Sedgwick A, *et al.* Microvesicles: mediators of extracellular communication during cancer progression. *J Cell Sci*, 2010, **123**(Pt 10): 1603-1611
- [60] Li X, Wang S, Zhu R, *et al.* Lung tumor exosomes induce a pro-inflammatory phenotype in mesenchymal stem cells *via* NFkappaB-TLR signaling pathway. *J Hematol Oncol*, 2016, **9**: 42
- [61] Martins V R, Dias M S, Hainaut P. Tumor-cell-derived microvesicles as carriers of molecular information in cancer. *Curr Opin Oncol*, 2013, **25**(1): 66-75
- [62] Schifferli J A. Microvesicles are messengers. *Semin Immunopathol*, 2011, **33**(5): 393-394
- [63] Andre F, Scharzt N E, Movassagh M, *et al.* Malignant effusions and immunogenic tumour-derived exosomes. *Lancet*, 2002, **360**(9329): 295-305
- [64] Fabbri M, Paone A, Calore F, *et al.* MicroRNAs bind to Toll-like receptors to induce prometastatic inflammatory response. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2012, **109**(31): E2110-2116
- [65] Berchem G, Noman M Z, Bosseler M, *et al.* Hypoxic tumor-derived microvesicles negatively regulate NK cell function by a mechanism involving TGF-beta and miR23a transfer. *Oncoimmunology*, 2016, **5**(4): e1062968
- [66] Qin X, Yu S, Zhou L, *et al.* Cisplatin-resistant lung cancer cell-derived exosomes increase cisplatin resistance of recipient cells in exosomal miR-100-5p-dependent manner. *Int J Nanomedicine*, 2017, **12**:3721-3733
- [67] Xiao X, Yu S, Li S, *et al.* Exosomes: decreased sensitivity of lung cancer A549 cells to cisplatin. *Plos One*, 2014, **9**(2): e89534
- [68] Jing C, Cao H, Qin X, *et al.* Exosome-mediated gefitinib resistance in lung cancer HCC827 cells *via* delivery of miR-21. *Oncol Lett*, 2018, **15**(6): 9811-9817
- [69] Meng X D, Pan J C, Sun S F, *et al.* Circulating exosomes and their cargos in blood as novel biomarkers for cancer. *Transl Cancer Res*, 2018, **7**(Suppl 2): S226-S242
- [70] Livshits M A, Khomyakova E, Evtushenko E G, *et al.* Corrigendum: isolation of exosomes by differential centrifugation: theoretical analysis of a commonly used protocol. *Sci Rep*, 2016, **6**(1): 21447-21458
- [71] Jeppesen D K, Hvam M L, Primdahl-Bengtson B, *et al.* Comparative analysis of discrete exosome fractions obtained by differential centrifugation. *J Extracell Vesicles*, 2014, **3**(1): 25011-25029
- [72] Szatanek R, Baran J, Siedlar M, *et al.* Isolation of extracellular vesicles: determining the correct approach (Review). *Int J Mol Med*, 2015, **36**(1): 11-17
- [73] Liang L G, Kong M Q, Zhou S, *et al.* An integrated double-filtration microfluidic device for isolation, enrichment and quantification of urinary extracellular vesicles for detection of bladder cancer. *Sci Rep*, 2017, **7**: 46224
- [74] Merchant M L, Rood I M, Deegens J K J, *et al.* Isolation and characterization of urinary extracellular vesicles: implications for biomarker discovery. *Nat Rev Nephrol*, 2017, **13**(12): 731-749
- [75] Witwer K W, Buzas E I, Bemis L T, *et al.* Standardization of sample collection, isolation and analysis methods in extracellular vesicle research. *J Extracell Vesicles*, 2013, **2**. doi:10.3402/jev.v2i0.20360
- [76] Whiteside T L. The potential of tumor-derived exosomes for noninvasive cancer monitoring. *Expert Rev Mol Diagn*, 2015, **15**(10): 1293-1310
- [77] Thery C, Amigorena S, Raposo G, *et al.* Isolation and characterization of exosomes from cell culture supernatants and biological fluids. *Curr Protoc Cell Biol*, 2006, **30**(1): 32221-32229
- [78] Smyth T, Kullberg M, Malik N, *et al.* Biodistribution and delivery efficiency of unmodified tumor-derived exosomes. *J Control Release*, 2015, **199**:145-155
- [79] Webber J P, Spary L K, Sanders A J, *et al.* Differentiation of tumour-promoting stromal myofibroblasts by cancer exosomes. *Oncogene*, 2015, **34**(3): 290-302
- [80] Tauro B J, Greening D W, Mathias R A, *et al.* Comparison of ultracentrifugation, density gradient separation, and

- immunoaffinity capture methods for isolating human colon cancer cell line LIM1863-derived exosomes. *Methods*, 2012, **56**(2): 293-304
- [81] Konadu K A, Huang M B, Roth W, *et al.* Isolation of exosomes from the plasma of HIV-1 positive individuals. *J Vis Exp*, 2016 (107): e53495(DOI: 10.3791/53495)
- [82] Vlassov A V, Magdaleno S, Setterquist R, *et al.* Exosomes: current knowledge of their composition, biological functions, and diagnostic and therapeutic potentials. *Biochim Biophys Acta*, 2012, **1820**(7): 940-948
- [83] Squadrito M L, Baer C, Burdet F, *et al.* Endogenous RNAs modulate microRNA sorting to exosomes and transfer to acceptor cells. *Cell Rep*, 2014, **8**(5): 1432-1446
- [84] Momen-Heravi F, Balaj L, Alian S, *et al.* Current methods for the isolation of extracellular vesicles. *Biol Chem*, 2013, **394**(10): 1253-1262
- [85] Marrugo-Ramirez J, Mir M, Samitier J. Blood-based cancer biomarkers in liquid biopsy: a promising non-invasive alternative to tissue biopsy. *Int J Mol Sci*, 2018, **19**(10): 2877-2898
- [86] Yamada T, Inoshima Y, Matsuda T, *et al.* Comparison of methods for isolating exosomes from bovine milk. *J Vet Med Sci*, 2012, **74**(11): 1523-1525
- [87] Yu L L, Zhu J, Liu J X, *et al.* A comparison of traditional and novel methods for the separation of exosomes from human samples. *Biomed Res Int*, 2018, **2018**: 3634563
- [88] Kim J E, Eom J S, Kim W Y, *et al.* Diagnostic value of microRNAs derived from exosomes in bronchoalveolar lavage fluid of early-stage lung adenocarcinoma: a pilot study. *Thorac Cancer*, 2018, **9**(8): 911-915
- [89] Maue S F, Weber C. Microparticles: protagonists of a novel communication network for intercellular information exchange. *Circ Res*, 2010, **107**(9): 1047-1057
- [90] Weber J A, Baxter D H, Zhang S, *et al.* The microRNA spectrum in 12 body fluids. *Clin Chem*, 2010, **56**(11): 1733-1741
- [91] Zhang L, Hao C, Zhai R, *et al.* Downregulation of exosomal let-7a-5p in dust exposed- workers contributes to lung cancer development. *Respir Res*, 2018, **19**(1): 235
- [92] Zhang Y, Zhang Y, Yin Y, *et al.* Detection of circulating exosomal miR-17-5p serves as a novel non-invasive diagnostic marker for non-small cell lung cancer patients. *Pathol Res Pract*, 2019, **215**(8): 152466
- [93] Kanaoka R, Iinuma H, Dejima H, *et al.* Usefulness of plasma exosomal microRNA-451a as a noninvasive biomarker for early prediction of recurrence and prognosis of non-small cell lung cancer. *Oncology*, 2018, **94**(5): 311-323
- [94] Dejima H, Iinuma H, Kanaoka R, *et al.* Exosomal microRNA in plasma as a non-invasive biomarker for the recurrence of non-small cell lung cancer. *Oncol Lett*, 2017, **13**(3): 1256-1263
- [95] Wei F, Ma C, Zhou T, *et al.* Exosomes derived from gemcitabine-resistant cells transfer malignant phenotypic traits via delivery of miRNA-222-3p. *Mol Cancer*, 2017, **16**(1): 132
- [96] Dinh T K, Fendler W, Chalubinska-Fendler J, *et al.* Circulating miR-29a and miR-150 correlate with delivered dose during thoracic radiation therapy for non-small cell lung cancer. *Radiat Oncol*, 2016, **11**: 61

The Role of Exosomal MiRNAs in The Occurrence and Development of Lung Cancer*

YANG Yi-Feng^{1,2)}, SUN Xin-Ying^{1,2)}, SHEN Xin-Tong^{1,2)}, YE Ge-Xin^{1,2)}, LOU Cheng-Tao^{1,2)},
LI Nan³⁾, GONG Zhao-Hui^{1,2)}, MENG Xiao-Dan^{1,2)}**

⁽¹⁾Department of Biochemistry and Molecular Biology, Medical School of Ningbo University, Ningbo 315211, China;

²⁾Zhejiang Provincial Key Laboratory of Pathophysiology, Medical School of Ningbo University, Ningbo 315211, China;

³⁾Clinic Laboratory, First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, China)

Abstract Exosomes are nanoscale extracellular vesicles secreted by cells, which mediate cell-to-cell communication by releasing their biologically active molecules, such as microRNAs (miRNAs), into recipient cells. MiRNAs, a class of non-coding RNAs which mainly negatively regulate their target mRNAs at the post-transcriptional level, are the most abundant nucleic acids in exosomes. In lung cancer, miRNAs play a vital role after their release by exosomes secreted by tumor cells. This review mainly focuses on the role of exosomal miRNAs in multistep development of lung cancer, including angiogenesis, cell proliferation, invasion and metastasis, immune escape, drug resistance, as well as their clinical value as a new biomarker for the diagnosis and prognosis of lung cancer.

Key words exosomes, microRNAs, lung cancer

DOI: 10.16476/j.pibb.2019.0273

* This work was supported by grants from the Natural Science Foundation of Zhejiang Province (LQ18H200001), The National Natural Science Foundation of China (81902146), the Non-profit Technology Research Program of Zhejiang Province (LGF18H160006), the Natural Science Foundation of Ningbo (2019A610224) and the K.C. Wong Magna Fund in Ningbo University.

** Corresponding author.

Tel: 86-574-87609951, E-mail: mengxiaodan@nbu.edu.cn

Received: November 15, 2019 Accepted: January 14, 2020