

外泌体在白血病发病机制中的作用

孙国欢¹ 程涛^{1,2,3} 程辉^{1,2,3}

¹中国医学科学院、北京协和医学院血液病医院(血液学研究所),实验血液学国家重点实验室,天津 300020;²中国医学科学院干细胞医学中心,天津 300020;³北京协和医学院干细胞与再生医学系,天津 300020

通信作者:程辉,Email:chenghui@ihcams.ac.cn

基金项目:国家重点研发计划(2016YFA0100600、2017YFA0103400);国家自然科学基金(81421002、81730006、81430004、81870086);医科院医学与健康科技创新工程(2016-I2M-1-017、2017-I2M-3-009)

DOI:10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2019.02.017

Role of exosomes in leukemogenesis

Sun Guohuan¹, Cheng Tao^{1,2,3}, Cheng Hui^{1,2,3}

¹State Key Laboratory of Experimental Hematology, Institute of Hematology & Blood Diseases Hospital, CAMS & PUMC, Tianjin 300020, China; ²Stem Cell Medicine Center, Chinese Academy of Medical Sciences, Tianjin 300020, China; ³Department of Stem Cell and Regenerative Medicine, Peking Union Medical College, Tianjin 300020, China

外泌体是由细胞产生的细胞外囊泡,作为细胞间通讯的媒介之一,广泛存在于多种体液中,其产生、成熟以及分泌的过程都受到严密的调控^[1]。除了外泌体包膜上的蛋白能起到细胞间信息传递的作用,外泌体传递的内容物也具有重要的生理功能。2007年发表的1篇里程碑式工作证实了外泌体携带的mRNA在受体细胞内具有生物学活性,仍能发挥其蛋白翻译功能^[2]。近年的研究表明,mRNA并非是在受体细胞中发挥生物学功能的分子,包括microRNA/long-non coding RNA、DNA及蛋白质在内的生物学分子都能通过不同方式在受体细胞中发挥其生物学功能^[3]。也有一些研究提示外泌体可能参与了其他细胞器的水平传递,证实了在纯化后的外泌体中存在有功能的线粒体成分,并且这与乳腺癌的肿瘤细胞耐药相关^[4-5]。

近年来的研究表明外泌体参与了众多的生理及病理过程,尤其是在肿瘤研究中,外泌体被证实与多种肿瘤的进展、转移和治疗反应性等密切相关。白血病患者体液与培养的白血病细胞上清中,都可以见到升高的外泌体分泌水平,虽然升高的外泌体并非都来源于白血病细胞,但其高表达白血病细胞的表面分子(如CD34和CD117等)这一特点,表明升高的外泌体至少部分来源于白血病细胞^[6]。对于白血病细胞来源的外泌体研究较多,其可通过不同方式调控白血病细胞自身生物学行为及影响正常的造血功能。此外,也有部分工作关注到了非白血病细胞来源的外泌体在白血病中的作用。这里,我们对白血病微环境中外泌体的作用综述如下。

一、白血病细胞通过自分泌的方式介导对白血病细胞自

身的调控作用

白血病细胞来源的外泌体分泌后可作用于多种受体细胞,也能以自分泌的方式作用于自身,增强自身的增殖及干性。慢性髓性白血病(CML)细胞系LAMA84分泌的外泌体通过TGF- β 1,以自分泌的方式作用于自身的受体,活化抗凋亡相关通路,从而增强体外的集落形成能力,将LAMA84细胞接种到NOD/SCID小鼠皮下,并在接种肿瘤部位进行外泌体注射,这些小鼠的肿瘤重量明显高于注射PBS的小鼠^[7]。这样的自分泌作用方式不仅见于白血病细胞系,同时也见于患者的原代细胞及小鼠模型中。通过对慢性淋巴细胞白血病(CLL)患者的外泌体蛋白质进行分析发现,白血病细胞通过增加S100蛋白的分泌,从而活化自身胞内的NF- κ B信号通路,从而加速疾病进程^[8]。弥漫大B细胞淋巴瘤细胞通过Wnt信号通路的活化介导侧群细胞与非侧群细胞之间的平衡改变,并参与耐药的形成^[9]。在MLL-AF9小鼠模型中,通过敲除外泌体成熟分泌过程中的关键蛋白VPS33B,证实了白血病干细胞来源的外泌体通过自分泌的方式参与了其干性的维持,靶向白血病细胞中的VPS33B蛋白可以明显降低白血病细胞体外的集落形成能力并且延长小鼠的生存期^[10]。因此,靶向白血病细胞的外泌体分泌可能有助于解决白血病耐药及复发的临床问题。

二、白血病来源的外泌体对微环境的重塑作用

造血微环境是调节和维持造血干细胞(HSC)的局部组织环境,由多种细胞类型及细胞外成分构成。在急性髓系白血病(AML)环境下HSC受抑明显,因而无法补充耗竭的造

血祖细胞(HPC)^[11]。但受抑的HSC/HPC回到正常造血环境后,功能与对照组无明显差异。这说明这些受抑的HSC/HPC脱离白血病环境后能完全恢复其重建造血和自我更新的功能^[12]。因此变化了的白血病微环境是导致正常造血被抑制的原因之一。近期的一项研究也表明,AML小鼠接受阿糖胞苷治疗后,白血病负荷能够显著降低甚至于无法被检测到,但是其血管结构的破坏及渗漏情况并没有得到实质性的改善^[13]。这说明白血病微环境是一个被白血病细胞改造后的特殊环境,靶向白血病细胞本身并不能有效地恢复改造后的微环境使其恢复支持造血的功能。因此对于白血病微环境的研究不仅有助于靶向白血病干细胞,也可能通过恢复受损的微环境同时促进正常细胞的再生。白血病来源的外泌体对骨髓微环境的重塑作用早有报道。Peter Kurre 实验室在2012年报道了白血病细胞来源的外泌体能将具有功能的RNA传递到基质细胞中,使得共培养的OP9基质细胞分泌的生长因子发生改变,从而进一步影响了HPC系的增殖^[14]。而白血病细胞来源的外泌体对不同微环境细胞的重塑作用已有较多报道,以下按受体细胞类型分开阐述。

1. 基质细胞或间充质干细胞(MSC): CLL细胞分泌的外泌体作用于基质细胞,靶细胞接收了功能活跃的RNA及蛋白质后,转录特征发生改变,并且增殖、迁移、分泌炎症细胞因子的能力增强,从而促进白血病的进展^[15]。类似的是,AML细胞来源的外泌体也能够改造骨髓微环境,使其利于白血病细胞增殖。通过白血病细胞来源的外泌体处理正常小鼠,发现其MSC数目增多,但成骨分化受到阻滞。支持正常造血的相关因子如CXCL12、KITL及IGF1表达减少,从而降低了基质细胞对正常造血的支持作用。靶向外泌体分泌的关键蛋白Rab27a则能明显减缓白血病的进展^[16]。急性淋巴细胞白血病细胞分泌的外泌体通过作用于骨髓基质细胞,改变其代谢状态,使其倾向于糖酵解代谢方式以适应氧化应激,进而保护白血病细胞的生存及帮助白血病细胞抵抗化疗损伤^[17]。

2. 血管内皮细胞:通过人脐静脉内皮细胞系(HUVEC)与恶性胶质瘤U87细胞系共培养发现,肿瘤细胞能将DLL4整合入分泌的外泌体,这些DLL4蛋白能被骨髓内皮细胞接收并且整合到细胞上,从而造成内皮细胞Notch信号通路的相关受体的表达下调,影响了血管形成^[18]。CML细胞系LAMA84与HUVEC细胞系的共培养证实了CML细胞外泌体中miR-126的表达较细胞本底水平明显提升,免疫荧光标记证实了其能够有效地进入内皮细胞,使得内皮细胞CXCL12和VCAM1表达明显下降,从而负性调节LAMA84细胞的运动性与黏附性^[19]。K562细胞系来源的外泌体可以共培养的HUVEC的新生血管形成,这一作用可以被达沙替尼消除。表明了外泌体在内皮细胞内的功能发挥依赖于达沙替尼敏感的Src磷酸化及其下游信号通路活化^[20]。体内研究也同样表明了白血病细胞来源的外泌体促进了血管的生成^[15]。目前对于白血病细胞与骨髓血管内皮之间通过外泌体而进行的细胞之间相互调控报道较少,主要报道还是集中

在白血病细胞外泌体与内皮细胞系共培养后的表型变化^[21]。对于原代内皮细胞及体内研究的限制是骨髓内皮细胞的分离及体外维持的困难,主要是因为骨髓中内皮细胞比例较低,分离时容易造成内皮细胞死亡;另外,骨髓原代细胞在体外培养时只能短暂地维持其组织特异性及血管生成能力,除非特异性活化AKT-mTOR信号通路^[22]。

3. 成骨细胞(Osteoblast, OB): AML患者及小鼠模型中均可观察到明显的骨质下降。而通过药理学方法恢复AML小鼠中OB的数量及功能可以减少肿瘤负荷并有效地延长小鼠生存期,这说明OB在白血病发病中有重要作用^[23]。而通过AML患者细胞或细胞系上清来源的外泌体这一单一因素处理小鼠,也出现了骨质变薄、骨小梁减少等骨质丢失的现象,并且造血相关基因(IGF1、CXCL12、KITL和IL-7)及骨发育相关基因(OCN和Col1A1)在OB中表达下调,说明白血病细胞来源的外泌体能够改造骨髓微环境^[16]。

三、白血病来源的外泌体对免疫系统的作用

通过对AML患者血清外泌体进行分离及分析,发现未治疗的AML患者血清外泌体水平显著高于对照,对外泌体蛋白进行分析发现其不仅高表达CD34、CD33和CD117等白细胞表面分子,还高表达TGF- β ,患者血清来源的外泌体在体外能降低自然杀伤细胞的细胞毒作用,并且下调正常自然杀伤细胞的NKG2D的表达。而TGF- β 的中和性抗体能够消除细胞毒性作用的降低及NKG2D的表达下调^[6]。将治疗前的白血病患者血浆来源的外泌体与NK-92细胞共培养,能够降低其细胞杀伤能力,从而限制了过继细胞治疗的抗白血病细胞作用^[24]。这表明白白血病细胞来源的外泌体对机体的免疫总体而言起到了一个抑制的作用,从而帮助白血病细胞进行免疫逃逸。但白血病细胞来源的外泌体对其他类型免疫细胞的作用需要进一步探索,这可能有助于寻找增强白血病免疫治疗反应性的潜在靶点。

四、白血病来源外泌体对白血病环境中的正常造血影响

尽管已有大量的研究证实白血病细胞来源的外泌体改造了骨髓微环境,从而抑制了正常造血,但是白血病细胞来源的外泌体对正常造血的直接作用却并未得到充分阐述。白血病患者来源的外泌体与正常脐血来源的HSC体外共作用7d后,正常HSC数量增多,同时伴随着miRNA-21和miRNA-29a表达升高,集落形成能力增强^[25]。近年的研究表明,白血病产生的外泌体除了使骨髓基质细胞表达SCF、CXCL12下调,从而抑制骨髓中正常HSC/HPC的功能;也通过不依赖于细胞直接接触的方式作用于正常HSC/HPC,使其集落形成能力下降,丢失CXCR4与c-Kit表达,并且持续性地抑制包括c-Myb、Cebp- β 和Hoxa-9等在内的多种造血相关转录因子^[26]。也有研究表明AML细胞通过外泌体携带的miR-150与miR-155,作用于正常的HSC/HPC,抑制了编码c-Myb转录本的翻译,从而影响HSC/HPC的增殖与分化^[27]。总之,白血病细胞来源的外泌体不仅通过自分泌作用进行自我强化,使其增加对治疗的抵抗,还能通过作用于其他受体细胞,改变靶细胞的基因表达特征或信号通路活化

水平,从而改造微环境以适应白血病细胞生长^[8,16,28],从而直接或间接地抑制正常造血。

五、微环境细胞来源的外泌体在白血病中的作用

既往的研究认为,间充质干细胞及内皮细胞等微环境细胞来源的外泌体对正常造血过程有支持作用^[29]。将骨髓MSC来源的外泌体与CLL细胞体外共作用24 h后,CLL细胞的自发凋亡减少,对多种药物的抵抗增强^[30]。通过类似的处理,研究者发现人脐血MSC来源的外泌体对K562细胞系的增殖与凋亡无明显影响,但能增强其对伊马替尼的敏感性,增强其凋亡信号通路的活化,从而增强其对治疗的反应性^[31]。基于同样的策略而得出了不同的结论,可能的原因是MSC来源的外泌体在不同白血病细胞类型中可能发挥不同作用,也可能是用外泌体处理目的细胞的研究策略并不能很好地模拟体内实际的外泌体分泌水平。因此在进行外泌体体外研究时需要进行必要的剂量-效应关系分析。研究外泌体这一细胞间双向通讯的媒介有助于我们发现以往缺失的信息,绘制出更为详尽具体的白血病环境下细胞相互作用的图谱,从而有利于更好地靶向白血病治疗,减少耐药与复发;同时有利于增强白血病环境下的正常造血,减少治疗前及治疗过程中患者可能出现的致命的三系减少情况,改善患者的生存及预后。

六、外泌体研究在临床研究中的意义

1. 作为肿瘤生物标志:外泌体广泛存在于多种体液、肿瘤中分泌水平较高、携带众多的肿瘤细胞信息、取材相对无创等优势使其成为了监测肿瘤的发生与疾病进展的可能指标。由于其在白血病中的免疫抑制作用,对外泌体的进一步研究也可能帮助预判对免疫治疗的反应性,为治疗方案的制定提供一定的依据。目前有研究认为外泌体相关分子可作为监测微小残留病的指标,但这有待于从体液中分离外泌体方法的改善与分析指标标准的建立^[32]。

2. 改造外泌体使其成为运送工具或靶向肿瘤细胞来源的外泌体:由于外泌体直径小,加之其对于受体细胞的选择存在一定的偏向,将工程改造后的外泌体作为运送介质可以达到高效、特异地杀伤恶性细胞的目的。通过改造MSC来源的外泌体使其携带靶向K-RAS突变的shRNA,能够在多种胰腺癌动物模型中减慢肿瘤进展并且显著改善生存^[33]。如前所述,白血病细胞分泌外泌体后以自分泌的方式进行自我强化,并改造微环境,从而直接或间接地抑制正常造血。因此靶向肿瘤细胞来源的外泌体本身可作为一个削弱肿瘤细胞,扶持正常造血的靶点。

七、总结及展望

外泌体在白血病机制研究、临床监测及治疗上有着重要的意义,但我们也不难看出目前外泌体研究的诸多制约因素。如Thery教授所说,我们现在对于外泌体的认识,就相当于我们20世纪50年代对于免疫的认识。我们仅知道白细胞中某些细胞有杀伤细胞或产生抗体的功能,但并不能捕获及识别B细胞或T细胞^[34]。首先在于外泌体“表型”的界定上。尽管目前有多种方式可进行外泌体的分离与纯化,但是

不论是哪种方式都不能获取到绝对纯度的外泌体^[35],因此2014年发表了外泌体鉴定的最低要求以及报告规范^[36]。

而在功能研究上,现阶段运用最为广泛的研究手段为提纯外泌体后将其作为独立因素进行处理,这样的研究方式本身存在着较大的局限。首先我们可以看到在体外运用外泌体来处理目的细胞时的浓度是远高于体内水平的,因此在进行外泌体共作用研究时,剂量-效应关系是非常必要的;而体内研究时,从各种体液分离到的外泌体是体内多种细胞来源的混合,难以判断其来源,目前的验证方式多是基于亲脂性染料及荧光蛋白的追踪,更为深层及长时效的影像追踪将有助于我们在体内捕获外泌体的作用及其方式。近年的一些研究也给了我们一些启示:基于转基因的小鼠模型有助于弥补这方面的不足,通过敲除外泌体产生及分泌的关键蛋白质,再进行功能研究可以明确地反映特定细胞来源的外泌体在体内的功能,并且通过不同实验条件的组合能进一步探究其作用方式的时空特异性。

参考文献

- [1] Hessvik NP, Llorente A. Current knowledge on exosome biogenesis and release [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2018, 75 (2):193-208. DOI: 10.1007/s00018-017-2595-9.
- [2] Valadi H, Ekström K, Bossios A, et al. Exosome-mediated transfer of mRNAs and microRNAs is a novel mechanism of genetic exchange between cells [J]. *Nat Cell Biol*, 2007, 9 (6):654-659. DOI: 10.1038/ncb1596.
- [3] Ratajczak MZ, Ratajczak J. Horizontal transfer of RNA and proteins between cells by extracellular microvesicles: 14 years later [J]. *Clin Transl Med*, 2016, 5 (1):7. DOI: 10.1186/s40169-016-0087-4.
- [4] Spees JL, Olson SD, Whitney MJ, et al. Mitochondrial transfer between cells can rescue aerobic respiration [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2006, 103 (5): 1283-1288.
- [5] Hayakawa K, Esposito E, Wang X, et al. Transfer of mitochondria from astrocytes to neurons after stroke [J]. *Nature*, 2016, 535 (7613):551-555. doi: 10.1038/nature18928. Corrigendum: Transfer of mitochondria from astrocytes to neurons after stroke [J]. *Nature*, 2016, 539 (7627):123. DOI: 10.1038/nature19805.
- [6] Szczepanski MJ, Szajnik M, Welsh A, et al. Blast-derived microvesicles in sera from patients with acute myeloid leukemia suppress natural killer cell function via membrane-associated transforming growth factor-beta1 [J]. *Haematologica*, 2011, 96 (9):1302-1309. DOI: 10.3324/haematol.2010.039743.
- [7] Raimondo S, Saieva L, Corrado C, et al. Chronic myeloid leukemia-derived exosomes promote tumor growth through an autocrine mechanism [J]. *Cell Commun Signal*, 2015, 13:8. DOI: 10.1186/s12964-015-0086-x.
- [8] Prieto D, Sotelo N, Seija N, et al. S100-A9 protein in exosomes from chronic lymphocytic leukemia cells promotes NF-κB activity during disease progression [J]. *Blood*, 2017, 130 (6): 777-788. DOI: 10.1182/blood-2017-02-769851.
- [9] Koch R, Demant M, Aung T, et al. Populational equilibrium through exosome-mediated Wnt signaling in tumor progression of diffuse large B-cell lymphoma [J]. *Blood*, 2014, 123 (14):

- 2189-2198. DOI: 10.1182/blood-2013-08-523886.
- [10] Gu H, Chen C, Hao X, et al. Sorting protein VPS33B regulates exosomal autocrine signaling to mediate hematopoiesis and leukemogenesis [J]. *J Clin Invest*, 2016, 126 (12): 4537-4553. DOI: 10.1172/JCI87105.
- [11] Crane GM, Jeffery E, Morrison SJ. Adult haematopoietic stem cell niches [J]. *Nat Rev Immunol*, 2017, 17 (9):573-590. DOI: 10.1038/nri.2017.53.
- [12] Cheng H, Hao S, Liu Y, et al. Leukemic marrow infiltration reveals a novel role for Egr3 as a potent inhibitor of normal hematopoietic stem cell proliferation [J]. *Blood*, 2015, 126 (11): 1302-1313. DOI: 10.1182/blood-2015-01-623645.
- [13] Passaro D, Di TA, Abarrategi A, et al. Increased vascular permeability in the bone marrow microenvironment contributes to disease progression and drug response in acute myeloid leukemia [J]. *Cancer Cell*, 2017, 32 (3):324-341.e6. DOI: 10.1016/j.ccell.2017.08.001.
- [14] Huan J, Hornick NI, Shurtleff MJ, et al. RNA trafficking by acute myelogenous leukemia exosomes [J]. *Cancer Res*, 2013, 73 (2): 918-929. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-12-2184.
- [15] Paggetti J, Haderk F, Seiffert M, et al. Exosomes released by chronic lymphocytic leukemia cells induce the transition of stromal cells into cancer-associated fibroblasts [J]. *Blood*, 2015, 126 (9):1106-1117. DOI: 10.1182/blood-2014-12-618025.
- [16] Kumar B, Garcia M, Weng L, et al. Acute myeloid leukemia transforms the bone marrow niche into a leukemia-permissive microenvironment through exosome secretion [J]. *Leukemia*, 2018, 32 (3):575-587. DOI: 10.1038/leu.2017.259.
- [17] Johnson SM, Dempsey C, Chadwick A, et al. Metabolic reprogramming of bone marrow stromal cells by leukemic extracellular vesicles in acute lymphoblastic leukemia [J]. *Blood*, 2016, 128 (3):453-456. DOI: 10.1182/blood-2015-12-688051.
- [18] Sheldon H, Heikamp E, Turley H, et al. New mechanism for Notch signaling to endothelium at a distance by Delta-like 4 incorporation into exosomes [J]. *Blood*, 2010, 116 (13):2385-2394. DOI: 10.1182/blood-2009-08-239228.
- [19] Taverna S, Amodeo V, Saieva L, et al. Exosomal shuttling of miR-126 in endothelial cells modulates adhesive and migratory abilities of chronic myelogenous leukemia cells [J]. *Mol Cancer*, 2014, 13:169. DOI: 10.1186/1476-4598-13-169.
- [20] Mineo M, Garfield SH, Taverna S, et al. Exosomes released by K562 chronic myeloid leukemia cells promote angiogenesis in a Src-dependent fashion [J]. *Angiogenesis*, 2012, 15 (1):33-45. DOI: 10.1007/s10456-011-9241-1.
- [21] Ohyashiki JH, Umezaki T, Ohyashiki K. Exosomes promote bone marrow angiogenesis in hematologic neoplasia: the role of hypoxia [J]. *Curr Opin Hematol*, 2016, 23 (3):268-273. DOI: 10.1097/MOH.0000000000000235.
- [22] Rafii S, Butler JM, Ding BS. Angiocrine functions of organ-specific endothelial cells [J]. *Nature*, 2016, 529 (7586):316-325. DOI: 10.1038/nature17040.
- [23] Krevvata M, Silva BC, Manavalan JS, et al. Inhibition of leukemia cell engraftment and disease progression in mice by osteoblasts [J]. *Blood*, 2014, 124 (18):2834-2846. DOI: 10.1182/blood-2013-07-517219.
- [24] Hong CS, Sharma P, Yerneni SS, et al. Circulating exosomes carrying an immunosuppressive cargo interfere with cellular immunotherapy in acute myeloid leukemia [J]. *Sci Rep*, 2017, 7 (1):14684. DOI: 10.1038/s41598-017-14661-w.
- [25] Razmkhah F, Soleimani M, Mehrabani D, et al. Leukemia microvesicles affect healthy hematopoietic stem cells [J]. *Tumour Biol*, 2017, 39 (2):1010428317692234. DOI: 10.1177/1010428317692234.
- [26] Huan J, Hornick NI, Goloviznina NA, et al. Coordinate regulation of residual bone marrow function by paracrine trafficking of AML exosomes [J]. *Leukemia*, 2015, 29 (12): 2285-2295. DOI: 10.1038/leu.2015.163.
- [27] Hornick NI, Doron B, Abdelhamed S, et al. AML suppresses hematopoiesis by releasing exosomes that contain microRNAs targeting c-MYB [J]. *Sci Signal*, 2016, 9 (444):ra88. DOI: 10.1126/scisignal.aaf2797.
- [28] Boyiadzis M, Whiteside TL. The emerging roles of tumor-derived exosomes in hematological malignancies [J]. *Leukemia*, 2017, 31 (6):1259-1268. DOI: 10.1038/leu.2017.91.
- [29] Roccaro AM, Sacco A, Maiso P, et al. BM mesenchymal stromal cell-derived exosomes facilitate multiple myeloma progression [J]. *J Clin Invest*, 2013, 123 (4):1542-1555. DOI: 10.1172/JCI66517.
- [30] Crompot E, Van Damme M, Pieters K, et al. Extracellular vesicles of bone marrow stromal cells rescue chronic lymphocytic leukemia B cells from apoptosis, enhance their migration and induce gene expression modifications [J]. *Haematologica*, 2017, 102 (9): 1594-1604. DOI: 10.3324/haematol.2016.163337.
- [31] Liu Y, Song B, Wei Y, et al. Exosomes from mesenchymal stromal cells enhance imatinib-induced apoptosis in human leukemia cells via activation of caspase signaling pathway [J]. *Cytotherapy*, 2018, 20 (2): 181-188. DOI: 10.1016/j.jcyt.2017.11.006.
- [32] Boyiadzis M, Whiteside TL. Plasma-derived exosomes in acute myeloid leukemia for detection of minimal residual disease: are we ready? [J]. *Expert Rev Mol Diagn*, 2016, 16 (6): 623-629. DOI: 10.1080/14737159.2016.1174578.
- [33] Kamerkar S, LeBleu VS, Sugimoto H, et al. Exosomes facilitate therapeutic targeting of oncogenic KRAS in pancreatic cancer [J]. *Nature*, 2017, 546 (7659): 498-503. DOI: 10.1038/nature22341.
- [34] Tkach M, Théry C. Communication by extracellular vesicles: where we are and where we need to go [J]. *Cell*, 2016, 164 (6): 1226-1232. DOI: 10.1016/j.cell.2016.01.043.
- [35] Gardiner C, Di VD, Sahoo S, et al. Techniques used for the isolation and characterization of extracellular vesicles: results of a worldwide survey [J]. *J Extracell Vesicles*, 2016, 5:32945. DOI: 10.3402/jev.v5.32945.
- [36] Lötvall J, Hill AF, Hochberg F, et al. Minimal experimental requirements for definition of extracellular vesicles and their functions: a position statement from the International Society for Extracellular Vesicles [J]. *J Extracell Vesicles*, 2014, 3:26913. DOI: 10.3402/jev.v3.26913.

(收稿日期:2018-09-20)

(本文编辑:刘爽)