

恶性肿瘤患者外泌体检测的研究进展

施卫忠¹, 卢仁泉², 郭林²

(1. 上海质子重离子医院, 上海 201321;

2. 复旦大学附属肿瘤医院 复旦大学上海医学院肿瘤学系, 上海 200032)

摘要:外泌体(extracellular vesicles, EVs)是由各类细胞(尤其是肿瘤细胞)释放的一种磷脂双层封闭的球形颗粒。EVs 往往含有受体、生物活性脂类物质、蛋白和重要遗传物质如 mRNA、miRNAs 及片段化 DNA 等组分,在肿瘤的发生发展中起着重要的作用,特别是有携带肿瘤遗传信息、调节肿瘤微环境、促进肿瘤血管生成等效应。根据其生物学特征, EVs 能在体液中被检测到,但其分离及检测技术有待进一步改善。近年来许多研究表明检测体液中 EVs 水平及其所含的 miRNAs 和 DNA 可以反映肿瘤进展和治疗预后,其可作为一种新的肿瘤标志物,在临床诊疗中有较好的应用前景。

关键词:外泌体;肿瘤;分子标志物;预后

中图分类号:R730.23 **文献标识码:**A **文章编号:**1004-0242(2015)10-0849-06

doi:10.11735/j.issn.1004-0242.2015.10.A011

Research Progress in the Detection of Extracellular Vesicles in Patients with Malignancy

SHI Wei-zhong¹, LU Ren-quan², GUO Lin²

(1. Shanghai Proton and Heavy Ion Center, Shanghai 201321, China;

2. Fudan University Shanghai Cancer Center, Department of Oncology, Shanghai Medical College, Fudan University, Shanghai 200032, China)

Abstract: Extracellular vesicles (EVs), a kind of spherical particles enclosed by a phospholipid bilayer, is released by various cells (especially cancer cells). EVs often contains the receptors, bioactive lipids, proteins and the nucleic acids such as mRNA, miRNAs and DNA fragments, which play important roles in carcinogenesis, especially in carrying the genetic information of cancer, adapting cancer microenvironment, enhancing angiogenesis of cancer. Considering its features, EVs can be detected in body fluid, but the techniques of isolation and detection need to be updated. Recently, EVs attracts more and more attentions. The increasing number of data showed that the detection of EVs is useful for monitoring development and prognosis of malignancy, EVs therefore might be a novel biomarker, which has a potential application in clinical diagnosis and therapy for malignancies.

Key words: extracellular vesicles; cancer; biomarker; prognosis

外泌体(extracellular vesicles, EVs)是广泛存在于各类细胞如血细胞、树突状细胞、肿瘤细胞等中的囊泡样结构^[1],在生理和病理状态下均可释放。EVs 能在体液中被检测到,如血清、唾液、羊水、滑膜液、乳汁和尿液^[2-7]。由于 EVs 含有受体、生物活性脂质、蛋白、核酸如 mRNA、miRNAs 及片段化 DNA,故其可向受体细胞传递重要的遗传信息,是细胞间信号传递的重要途径^[8]。肿瘤细胞分泌 EVs 与肿瘤发生发展、免疫逃逸、微环境建立等方面存在着密切关系^[9]。

收稿日期:2015-03-16;修回日期:2015-04-21

基金项目:上海市科委基金资助(124119a0202)

通讯作者:卢仁泉, E-mail: lurenquan@126.com

1 外泌体简介

1.1 外泌体的发现

外泌体(EVs)的发现可以追溯到 1940 年,当时的研究发现了血浆中含有一种亚细胞因子能够促进血液凝固^[10]。1967 年,学者^[11]通过电子显微镜观察到这种亚细胞因子是由囊泡状结构组成的,来源于血小板并称之为“血小板尘埃”,这些小囊泡的直径在 20~50nm,密度为 1.020~1.025g/ml。后来,Johnstone^[12]在网织红细胞培养液中分离纯化得到了一种囊泡样结构物质,并命名其为“外泌体”。到 1996 年,荷兰科

学家 Graca Raposo 和 Hans Geuze 发现 B 细胞分泌的 EVs 通过 HLA 复合物能够交叉激活 T 细胞,为 EVs 在免疫治疗领域打开了新篇章。近年来研究发现, EVs 在正常生理功能及疾病发生发展中发挥着重要的作用。2013 年度诺贝尔生物学医学奖授予了研究 EVs 相关领域的 3 位科学家,使 EVs 成为了生物学医学领域的研究热点。

1.2 EVs 特性

真核细胞和原核细胞都会释放 EVs,它们是由磷脂双层封闭的球形颗粒。EVs 是由多泡体(multivesicular bodies, MVB)和质膜的融合而释放的,大小在 30~1000nm^[13,14]。EVs 表面有 CD9、CD63 等跨膜分子,内含受体、生物活性脂类物质、蛋白和重要遗传物质如 mRNA、miRNAs 及片段化 DNA 等组分。细胞在它们所处的体液环境如血液和尿液中释放 EVs;在条件适合的培养介质中,可以含有大量的细胞分泌的 EVs,通常大于 1010/ml^[15,16]。

1.3 肿瘤细胞释放 EVs

相比正常细胞,肿瘤细胞会分泌更多的 EVs,并且含有肿瘤相关的遗传信息。Khalid 等^[17]用电镜拍摄到了神经胶质瘤细胞的 EVs 从分泌到脱落的图像,证实了肿瘤细胞可以分泌 EVs。肿瘤细胞分泌的 EVs 参与了肿瘤进展的多个方面。

肿瘤分泌的 EVs 可以引起间质细胞表型的改变,从而有利于肿瘤的侵袭和传播。EVs 可以促进肿瘤细胞和间质细胞间受体、活性蛋白、脂质或遗传信息的改变,如肿瘤分泌的 EVs 可以通过传递白介素 8 和趋化因子到邻近的细胞增强肿瘤的侵袭性^[18]。

肿瘤分泌的 EVs 能够抑制免疫反应,通过诱导免疫效应中诸如 NK 细胞和细胞毒性 T 细胞(CTLs)的凋亡,从而有利于肿瘤细胞逃避免疫监视^[19]。

EVs 传递的 miRNAs 影响了控制先天免疫和适应性免疫发展和作用的途径,使它们对肿瘤的免疫应答失调^[20]。

肿瘤细胞可以通过 EVs 向受体细胞传递其遗传信息(mRNA、miRNAs 和癌基因)。肿瘤相关细胞表型已经被证明是依赖肿瘤 mRNA 的转移^[21]。来源于肿瘤细胞的 EVs 如大肠癌细胞^[22]、肺癌细胞^[23]和前列腺癌细胞^[24]通过转移特异 RNA 亚群来改变正常细胞的表型。

EVs 参与了肿瘤微环境的调节。Skog 等^[25]发现

胶质母细胞瘤分泌的 EVs 可以转运特异的功能性 mRNA 和 miRNAs,诱导激活细胞迁移、血管生成和脑微血管细胞增殖。

2 EVs 的检测

2.1 EVs 分离纯化

离心法是目前提取 EVs 最常用的方法,这种方法得到的 EVs 量多,但是纯度不足,电镜鉴定时会发现 EVs 聚集成块;在离心法的基础上,加入两种浓度蔗糖溶液进行分离,衍生出密度梯度离心法,这种方法提高了 EVs 的纯度,但耗时,得到的 EVs 量少;利用相对分子量大小进行分离的过滤离心法,操作简单、省时,且不影响 EVs 生物活性,但存在纯度不足的问题;还有利用包被有 EVs 相关抗原(如 CD9、CD63)抗体的磁珠与 EVs 结合进行分离的免疫磁珠法,这种方法不需要进行超速离心,但得到的 EVs 较难进行后续的研究。

2.2 EVs 鉴定分析

应用电镜可以直接观察 EVs 形态;应用 Western blot 法可以根据 EVs 表面的标志物 CD9、CD63 等跨膜分子,利用 CD9、CD63 单克隆抗体与相应抗原结合,检测 EVs 蛋白表达量;而应用 PCR 或测序的方法对 EVs 内含有的遗传信息物质进行分析是目前应用越来越广泛的检测方法;其他还有一些鉴定技术如动态光散射技术、流式细胞术分析、纳米微粒追踪分析,但都存在检测灵敏度的问题。

3 EVs 在肿瘤诊疗中的应用

3.1 EVs 是肿瘤早期诊断的良好指标

许多研究已表明,检测 EVs 水平可以用于肿瘤的早期诊断。Logozzi 等^[26]用双抗体夹心法检测了Ⅲ期、Ⅳ期黑色素瘤患者组和健康对照组的 EVs 相关标志物,发现黑色素瘤患者组表达 CD63 和 Caveolin-1 的 EVs 水平显著性高于健康对照组(619±310 vs 228±102),EVs 相关 Caveolin-1 的表达其敏感度和特异性分别达到了 69%和 96.3%;另外有研究显示肺癌患者的血浆 EVs 水平显著性高于健康对照组。

EVs 检测对一些肿瘤的早期诊断较目前的检测方法具有更高的敏感度和特异性。如对前列腺癌患

者的血清学诊断主要是 PSA,但由于其特异性不高,无法很好地区分癌症患者及良性前列腺疾病患者,而应用特异性标志物对前列腺癌患者血浆中特异性 EVs 进行鉴定,结果显示运用前列腺癌 EVs 诊断的特异性和敏感度分别达到了 83%和 90%^[27]。研究同样分析了结肠癌患者血浆中的 EVs,诊断的敏感度和特异性分别达到了 85%和 85%^[28]。

此外,EVs 中含有遗传信息的核酸,如 DNA、miRNAs、mRNA,并且肿瘤细胞分泌的 EVs 携带的遗传信息与肿瘤组织表达相一致。不同肿瘤分泌的 EVs 所携带的遗传物质是不同的,分析 EVs 携带的遗传物质可以鉴别不同的肿瘤。如转移性胃癌细胞分泌的 EVs 含有 let-7 miRNA^[29],乳腺癌细胞分泌的 EVs 含有 miR-451。

检测肿瘤患者 EVs 中 miRNAs 水平可以早期诊断肿瘤。Madhavan 等^[30]检测了胰腺癌患者血清 EVs 中的 miRNAs 表达水平,结果显示 83%胰腺癌患者的 miR-1246、miR-4644、miR-3976 和 miR-4306 表达显著性上调,而在健康对照组中很少表达。

Ogata-Kawata 等^[31]通过研究比较了 88 例结肠癌患者和 11 例健康对照组血浆中 EVs 的 7 种 miRNAs (let-7a、miR-1229、miR-1246、miR-150、miR-21、miR-223 和 miR-23a)表达,发现它们在结肠癌患者中的表达显著性高于健康对照组;对于 I 期结肠癌患者,miR-23a 和 miR-1246 同样具有高度的敏感度,分别为 95%和 90%,而 CA19-9 和 CEA 的敏感度分别只有 10%和 15%;他们又对 29 例结肠癌患者手术前后的 7 种 miRNAs 进行检测,发现手术后的表达水平均有显著性下降。

Cazzoli 等^[32]将检测血浆 EVs 中的 4 种 miRNAs (miR-378a、miR-379、miR-139-5p 和 miR-200b-5p)作为肺癌的“筛查试验”,结果显示敏感度和特异性分别为 97.5%和 72%,ROC 曲线下面积为 90.8%;随后将检测血浆 EVs 中的 6 种 miRNAs (miR-151a-5p、miR-30a-3p、miR-200b-5p、miR-629、miR-100 和 miR-154-3p)作为肺癌的“诊断试验”,结果显示敏感度和特异性分别为 96.0%和 60.0%,ROC 曲线下面积为 76.0%,提示了检测血浆 EVs 的 miRNAs 表达,可以作为一种新的早期筛查和诊断试验。

Mitchell 等^[33]研究发现前列腺癌患者(443.2±109.7,n=10)尿液中 EVs 水平显著性高于正常对照

组(366.8±92.56,n=10),并且在接受 12 个星期的激素治疗后,其水平降低了将近一半(224.9±82.7,n=10),但是在放疗组中没有得到相同的结果;Nilsson 等^[7]通过对前列腺癌患者尿液中的 EVs RNA 进行分析,在未经治疗的 4 例前列腺癌患者中均检测出 PCA-3,而经过激素治疗的患者均未检出。同时,在 4 例未经治疗的患者中,2 例 Gleason 评分高的患者检测出了 *TMPRSS2:ERG* 融合基因,而 2 例评分低的患者并未检出。这些研究表明尿液 EVs 可能可以用于前列腺癌的诊断、判断肿瘤程度并提示前列腺癌激素治疗的效果,PCA-3 和 *TMPRSS2:ERG* 可能可以作为 EVs 内的 2 个前列腺癌标志物;Dijkstra 等^[34]通过研究,同样证明了尿液 EVs 可以作为前列腺癌的特异性标志物。

Balaj 等^[35]研究发现肿瘤细胞比正常成纤维细胞分泌更多的 EVs,并且肿瘤细胞分泌的 EVs 所含的 DNA 及 RNA 具有更高水平的表达;Thakur 等^[36]通过酶法和结构分析两种方法,证明了肿瘤分泌的 EVs 含有双链 DNA(dsDNA),并且其代表了整个基因组表达,可以反映亲代肿瘤细胞的突变。由于 DNA 相较于 RNA 具有更好的稳定性,更适合成为一种肿瘤检测的标志物。

3.2 EVs 反映肿瘤进展

Kosaka 等^[37]报道了转移性乳腺癌细胞释放 EVs,其所含的 miRNA-210 传递到内皮细胞,抑制了靶细胞的基因表达,从而促进了肿瘤进展。Fabbri 等^[38]发现 EVs 中 miR-21 和 miR-29a 可以通过与 Toll 样受体结合诱导转移前炎症反应,从而调节肿瘤微环境;Taylor 等^[39]研究比较了不同分期卵巢癌患者与良性卵巢肿瘤患者血浆 EVs 中的 8 种 miRNAs,发现卵巢癌患者 miRNAs 特异性高表达,且与肿瘤组织 miRNAs 表达谱密切相关,表明这些含有 miRNAs 的血浆 EVs 可以成为卵巢癌的诊断标志物,其所含 miRNAs 表达水平与卵巢癌分期相关;Zhou 等^[40]发现 EVs 中的 miR-105 可以破坏血管内皮屏障以促进脑转移;另有研究表明,转移性前列腺癌患者血浆 EVs 中 11 种特异性 miRNAs 表达均显著性高于未转移患者,其中 miR-141 和 miR-375 可作为前列腺癌是否转移的标志物^[41]。

这些研究数据表明肿瘤分泌的 EVs 在肿瘤发展中的重要作用。EVs 中 miRNAs 的表达水平可以

反映肿瘤进展,判断肿瘤分期以及监测肿瘤是否转移。

3.3 EVs 反映肿瘤患者的病情变化

经治疗后肿瘤患者循环 EVs 水平呈下降趋势,提示 EVs 与肿瘤的治疗效果相关。Logozzi 等^[42]发现经过化疗的黑色素瘤患者 EVs 中 Caveolin-1 表达显著性低于未接受化疗组,提示检测 EVs 中 Caveolin-1 表达对黑色素瘤患者的化疗效果有较好的指示作用。

此外,肿瘤晚期患者易发生静脉血栓栓塞,可能与异常激活的血凝过程有关,这往往又由过量升高的组织因子(TF)启动^[26]。许多肿瘤如卵巢癌表达并产生组织因子,随后肿瘤释放携带组织因子的 EVs 进入循环外周血^[43-45]。这些肿瘤分泌携带有组织因子的 EVs 与晚期肿瘤患者发生静脉血栓栓塞存在显著性相关^[46,47]。早期检测这些 EVs 可有助于预防静脉血栓栓塞的发生。

3.4 EVs 是一个较好的预后指标

研究表明,miRNAs 与肿瘤的预后相关,故含 miRNAs 的 EVs 也可作为肿瘤预后的指标。Lindner 等^[48]研究报道 EVs 所含循环 miRNAs 可将成为胃癌患者诊断和预后的标志物,与肿瘤发展与复发相关;Huang 等^[49]对经过去势治疗的前列腺癌患者的 EVs 中 miR-1290 和 miR-375 进行研究,发现高水平的 miR-1290 和 miR-375 与低生存率相关,提示血浆含 miR-1290 和 miR-375 的 EVs 可以成为前列腺癌去势治疗耐受患者的预后标志物;另 Corcoran 等^[50]研究发现 EVs 中的 miR-34a 是用来反映多烯紫杉醇对前列腺癌效果的一个预测标志;Safaei 等^[51]研究发现,顺铂耐药卵巢癌细胞释放的 EVs 中含有大量顺铂,提示卵巢癌细胞可以通过增加 EVs 的释放排出抗肿瘤药物,研究同时发现这些顺铂耐药卵巢癌细胞释放的 EVs 表达高水平的转运蛋白 ATP7A, ATP7B 和 MRP2,可能与卵巢癌细胞对顺铂耐药相关,检测 EVs 蛋白水平的变化可能可以判断卵巢癌细胞是否对顺铂耐药;Sza-jnik 等^[52]检测了 22 例卵巢癌患者化疗前后 EVs 蛋白水平,发现在经过化疗的患者中,EVs 蛋白水平的降低与 CA125 和 HE4 水平降低呈现一致性,提示血浆中 EVs 蛋白水平可以作为一项肿瘤治疗的评估指标,反映肿瘤细胞的消除和肿瘤负荷的减少。

3.5 EVs 应用于抗肿瘤免疫治疗

运用 EVs 制备肿瘤疫苗的基本原理是利用

EVs 能递呈肿瘤抗原的特点,增强机体 T 细胞抗肿瘤免疫的能力。目前,已有多个肿瘤疫苗正在进行相关临床试验应用于抗肿瘤治疗。

4 小 结

EVs 是由细胞释放的囊泡样物质,存在于体液中。EVs 中含有受体、生物活性脂质、蛋白及遗传物质 mRNA、miRNAs 及 DNA 片段,在肿瘤的发生发展中起着重要的作用。肿瘤细胞相比正常细胞分泌更多的 EVs 进入体液中,根据其特征,EVs 可以作为一种新的肿瘤标志物,在肿瘤的早期诊断、疾病监测以及治疗预后中有着较好的应用前景。目前,国外对 EVs 的研究已经越来越深入,但国内尚处于起步阶段,对 EVs 的分类尚有不明确,概念尚存在不统一。此外,EVs 的分离技术不够完善,难以快速得到纯度较高的 EVs,对后续的检测分析造成困难;另一方面,对 EVs 的检测系统也尚未开发成熟,难以满足临床大样本量的检测。相信,随着对 EVs 研究的深入,建立标准化的分离和检测方法,以及实验技术及设备等方面的提高,我们将更进一步了解其在正常生理和病理情况下发挥的重要作用 and 机制,为将来肿瘤的诊断、治疗及预后带来更多的价值。

参考文献:

- [1] Van der Pol E, Böing AN, Harrison P, et al. Classification, functions, and clinical relevance of extracellular vesicles [J]. *Pharmacol Rev*, 2012, 64(3): 676-705.
- [2] Michael A, Bajracharya SD, Yuen PS, et al. Exosomes from human saliva as a source of microRNA biomarkers [J]. *Oral Dis*, 2010, 16(1): 34-38.
- [3] Lakkaraju A, Rodriguez-Boulán E. Itinerant exosomes: emerging roles in cell and tissue polarity [J]. *Trends Cell Biol*, 2008, 18(5): 199-209.
- [4] Kosaka N, Izumi H, Sekine K, et al. microRNA as a new immune-regulatory agent in breast milk [J]. *Silence*, 2010, 1(1): 7.
- [5] Keller S, Rupp C, Stoeck A, et al. CD24 is a marker of exosomes secreted into urine and amniotic fluid [J]. *Kidney Int*, 2007, 72(9): 1095-1102.
- [6] Pisitkun T, Shen RF, Knepper MA. Identification and proteomic profiling of exosomes in human urine [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, 101(36): 13368-13373.

- [7] Nilsson J, Skog J, Nordstrand A, et al. Prostate cancer-derived urine exosomes: a novel approach to biomarkers for prostate cancer[J]. *Br J Cancer*, 2009, 100(10): 1603–1607.
- [8] Tetta C, Ghigo E, Silengo L, et al. Extracellular vesicles as an emerging mechanism of cell-to-cell communication[J]. *Endocrine*, 2013, 44(1): 11–19.
- [9] Taylor DD, Gercel-Taylor C. Tumour-derived exosomes and their role in cancer-associated T-cell signalling defects[J]. *Br J Cancer*, 2005, 92(2): 305–311.
- [10] Chargaff E, West R. The biological significance of the thromboplastic protein of blood[J]. *J Biol Chem*, 1946, 166(1): 189–197.
- [11] Wolf P. The nature and significance of platelet products in human plasma[J]. *Br J Haematol*, 1967, 13(3): 269–288.
- [12] Johnstone RM, Adam M, Hammond JR, 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.
- [13] Mathivanan S, Ji H, Simpson RJ. Exosomes: extracellular organelles important in intercellular communication [J]. *J Proteomics*, 2010, 73(10): 1907–1920.
- [14] Gyorgy B, Modos K, Pallinger E, et al. Detection and isolation of cell-derived microparticles are compromised by protein complexes resulting from shared biophysical parameters[J]. *Blood*, 2011, 117(4): e39–e48.
- [15] Yuana Y, Oosterkamp TH, Bahatyrova S, et al. Atomic force microscopy: a novel approach to the detection of nanosized blood microparticles [J]. *J Thromb Haemost*, 2010, 8(2): 315–323.
- [16] Dragovic RA, Gardiner C, Brooks AS, et al. Sizing and phenotyping of cellular vesicles using Nanoparticle Tracking Analysis[J]. *Nanomedicine*, 2011, 7(6): 780–788.
- [17] Al-Nedawi K, Meehan B, Micallef J, et al. Intercellular transfer of the oncogenic receptor EGFRvIII by microvesicles derived from tumour cells [J]. *Nat Cell Biol*, 2008, 10(5): 619–624.
- [18] Castellana D, Zobairi F, Martinez MC, et al. Membrane microvesicles as actors in the establishment of a favorable prostatic tumoral niche: a role for activated fibroblasts and CX3CL1-CX3CR1 axis[J]. *Cancer Res*, 2009, 69(3): 785–793.
- [19] Castellana D, Kunzelmann C, Freyssinet JM. Pathophysiologic significance of procoagulant microvesicles in cancer disease and progression[J]. *Hamostaseologie*, 2009, 29(1): 51–57.
- [20] O'Connell RM, Rao DS, Chaudhuri AA, et al. Physiological and pathological roles for microRNAs in the immune system[J]. *Nat Rev Immunol*, 2010, 10(2): 111–122.
- [21] Baj-Krzyworzeka M, Szatanek R, Weglarczyk K, et al. Tumour-derived microvesicles modulate biological activity of human monocytes[J]. *Immunol Lett*, 2007, 113(2): 76–82.
- [22] Hong BS, Cho JH, Kim H, et al. Colorectal cancer cell-derived microvesicles are enriched in cell cycle-related mRNAs that promote proliferation of endothelial cells[J]. *BMC Genomics*, 2009, 10: 556.
- [23] Del TM, Ng T, Aliotta JM, et al. Marrow cell genetic phenotype change induced by human lung cancer cells[J]. *Exp Hematol*, 2011, 39(11): 1072–1080.
- [24] Renzulli JN, Del TM, Dooner G, et al. Microvesicle induction of prostate specific gene expression in normal human bone marrow cells[J]. *J Urol*, 2010, 184(5): 2165–2171.
- [25] Skog J, Wurdinger T, van Rijn S, et al. Glioblastoma microvesicles transport RNA and proteins that promote tumour growth and provide diagnostic biomarkers [J]. *Nat Cell Biol*, 2008, 10(12): 1470–1476.
- [26] Logozzi M, De Milito A, Lugini L, et al. High levels of exosomes expressing CD63 and caveolin-1 in plasma of melanoma patients[J]. *PLoS One*, 2009, 4(4): e5219.
- [27] Kuslich CD, Pawlowski T, Kimbrough J, et al. Plasma exosomes are a robust biosignature for prostate cancer[J]. *Proceedings of the American Association for Cancer Research Annual Meeting*, 2010, 51: 196–197.
- [28] Spetzler D, Pawlowski T, Kimbrough J, et al. Plasma exosome-based biosignatures: a novel method for early diagnosis of colorectal cancer[J]. *Proceedings of the American Association for Cancer Research Annual Meeting*, 2010, 51: 662.
- [29] Pigati L, Yaddanapudi SC, Iyengar R, et al. Selective release of microRNA species from normal and malignant mammary epithelial cells [J]. *PLoS One*, 2010, 5(10): e13515.
- [30] Madhavan B, Yue S, Galli U, et al. Combined evaluation of a panel of protein and miRNA serum-exosome biomarkers for pancreatic cancer diagnosis increases sensitivity and specificity[J]. *Int J Cancer*, 2015, 136(11): 2616–2627.
- [31] Ogata-Kawata H, Izumiya M, Kurioka D, et al. Circulating exosomal microRNAs as biomarkers of colon cancer [J]. *PLoS One*, 2014, 9(4): e92921.
- [32] Cazzoli R, Buttitta F, Di Nicola M, et al. microRNAs derived from circulating exosomes as noninvasive biomarkers for screening and diagnosing lung cancer[J]. *J Thorac Oncol*, 2013, 8(9): 1156–1162.
- [33] Mitchell PJ, Welton J, Staffurth J, et al. Can urinary exo-

- somes act as treatment response markers in prostate cancer?[J]. J Transl Med, 2009, 7:4.
- [34] Dijkstra S, Birker IL, Smit FP, et al. Prostate cancer biomarker profiles in urinary sediments and exosomes[J]. J Urol, 2014, 191(4):1132–1138.
- [35] Balaj L, Lessard R, Dai L, et al. Tumour microvesicles contain retrotransposon elements and amplified oncogene sequences[J]. Nat Commun, 2011, 2:180.
- [36] Thakur BK, Zhang H, Becker A, et al. Double-stranded DNA in exosomes: a novel biomarker in cancer detection [J]. Cell Res, 2014, 24(6):766–769.
- [37] Kosaka N, Iguchi H, Hagiwara K, et al. Neutral sphingomyelinase 2 (nSMase2)-dependent exosomal transfer of angiogenic microRNAs regulate cancer cell metastasis[J]. J Biol Chem, 2013, 288(15):10849–10859.
- [38] Fabbri M, Paone A, Calore F, et al. MicroRNAs bind to Toll-like receptors to induce prometastatic inflammatory response [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2012, 109 (31): E2110–E2116.
- [39] Taylor DD, Gercel-Taylor C. MicroRNA signatures of tumor-derived exosomes as diagnostic biomarkers of ovarian cancer[J]. Gynecol Oncol, 2008, 110(1):13–21.
- [40] Zhou W, Fong MY, Min Y, et al. Cancer-secreted miR-105 destroys vascular endothelial barriers to promote metastasis[J]. Cancer Cell, 2014, 25(4):501–515.
- [41] Bryant RJ, Pawlowski T, Catto JW, et al. Changes in circulating microRNA levels associated with prostate cancer [J]. Br J Cancer, 2012, 106(4):768–774.
- [42] Logozzi M, De Milito A, Lugini L, et al. High levels of exosomes expressing CD63 and caveolin-1 in plasma of melanoma patients[J]. PLoS One, 2009, 4(4):e5219.
- [43] Uno K, Homma S, Satoh T, et al. Tissue factor expression as a possible determinant of thromboembolism in ovarian cancer[J]. Br J Cancer, 2007, 96(2):290–295.
- [44] Dvorak HF, Quay SC, Orenstein NS, et al. Tumor shedding and coagulation[J]. Science, 1981, 212(4497):923–924.
- [45] Carr JM, Dvorak AM, Dvorak HF. Circulating membrane vesicles in leukemic blood[J]. Cancer Res, 1985, 45(11 Pt 2):5944–5951.
- [46] Zwicker JJ, Liebman HA, Neuberg D, et al. Tumor-derived tissue factor-bearing microparticles are associated with venous thromboembolic events in malignancy[J]. Clin Cancer Res, 2009, 15(22):6830–6840.
- [47] Tesselaar ME, Romijn FP, Van Der Linden IK, et al. Microparticle-associated tissue factor activity: a link between cancer and thrombosis?[J]. J Thromb Haemost, 2007, 5(3):520–527.
- [48] Lindner K, Haier J, Wang Z, et al. Circulating microRNAs: emerging biomarkers for diagnosis and prognosis in patients with gastrointestinal cancers [J]. Clin Sci (Lond), 2015, 128(1):1–15.
- [49] Huang X, Yuan T, Liang M, et al. Exosomal miR-1290 and miR-375 as prognostic markers in castration-resistant prostate cancer[J]. Eur Urol, 2015, 67(1):33–41.
- [50] Corcoran C, Rani S, O'Driscoll L. miR-34a is an intracellular and exosomal predictive biomarker for response to docetaxel with clinical relevance to prostate cancer progression[J]. Prostate, 2014, 74(13):1320–1334.
- [51] Safaei R, Larson BJ, Cheng TC, et al. Abnormal lysosomal trafficking and enhanced exosomal export of cisplatin in drug-resistant human ovarian carcinoma cells[J]. Mol Cancer Ther, 2005, 4(10):1595–1604.
- [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]. Gynecol Obstet (Sunnyvale), 2013, (Suppl 4):3.

郑重声明

本刊作者谨防商务网站虚假征稿

《中国肿瘤》官网网址为: <http://www.chinaoncology.cn> 请作者直接点击进入网页, 注册并登录采编系统进行投稿。如有疑问请致电 0571-88122280, 88122281, 13758247950, 13757142507 查询。本刊邮箱为 zgzl_09@126.com 不再接受邮件投稿, 所有稿件均通过采编系统管理, 作者可通过采编系统查阅稿件审理进展。通过百度、谷歌等搜索后出现的注有《中国肿瘤》字样的代理征稿等相关信息, 本刊均未同其签订过委托、授权或合作协议, 敬请作者谨防上当!