

外泌体在胶质瘤中的研究进展

蒋 航,陈 波,曾 雪,张云东
(重庆医科大学附属第三医院,重庆 401120)

摘 要:胶质瘤是常见的原发性脑肿瘤,具有高侵袭性、高复发性、高致死率的特点。外泌体是由细胞分泌的功能性囊泡结构,普遍存在于生物体液中,其具有广泛的内容物,并参与了多种生理和病理过程,尤其是肿瘤的发生发展。外泌体可诱导受体细胞产生大量的生物学过程,与肿瘤的形成、发展、转移、浸润和耐药性等密切相关。外泌体在胶质瘤的诊断及治疗中的作用也日益受到重视,胶质瘤外泌体的特异性成分可作为诊断和预测生物标志物,外泌体也可作为运送抗癌药物的载体,经修饰的外泌体可以用于胶质瘤的免疫治疗。本文综述了外泌体在胶质瘤进展中的重要作用及其对诊断和新治疗策略发展的意义。

关键词:胶质瘤;外泌体;肿瘤微环境;生物标志物;免疫治疗

中图分类号:R739 文献标识码:A 文章编号:1004-0242(2020)10-0777-10
doi:10.11735/j.issn.1004-0242.2020.10.A010

Research Progress of Exosomes in Gliomas

JIANG Hang, CHEN Bo, ZENG Xue, ZHANG Yun-dong

(The Third Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 401120, China)

Abstract: Glioma is a common primary brain tumor with high invasiveness, high recurrence and high fatality rate. Exosomes are functional vesicle structures secreted by cells and are ubiquitous in biological fluids. They have a wide range of contents and participate in a variety of physiological and pathological processes, especially the occurrence and development of tumors. Exosomes can induce a large number of biological processes in recipient cells, which are closely related to tumor formation, development, metastasis, infiltration and drug resistance. The role of exosomes in the diagnosis and treatment of gliomas has also received increasing attention. The specific components of glioma exosomes can be used as diagnostic and predictive biomarkers, and exosomes can also be used as carriers for the delivery of anticancer drugs. Modified exosomes can be used for glioma immunotherapy. This article reviews the important role of exosomes in the progression of glioma and its significance for the development of diagnosis and new treatment strategies.

Key words: glioma; exosomes; tumor microenvironment; biomarker; immunotherapy

脑胶质瘤(glioma)是一种常见的侵袭性原发性脑肿瘤,根据其组织病理学和遗传特征分为 I~IV 级,其中胶质母细胞瘤的恶性程度最高^[1],平均中位生存期仅约 14~16 个月^[2],每年在世界范围内造成数千人死亡。目前,胶质瘤的治疗主要以切除为主,辅以放疗、化疗的综合治疗^[3]。由于其较强的浸润性,很难将其彻底清除,随着时间的推移,有很大可能性发生转移和复发。并且,胶质瘤也存在着很大

的临床异质性,不同病例胶质瘤的侵袭范围以及对放、化疗的反应不同^[4]。因此,寻找诊断和预后的生物标志物对于胶质瘤的早期诊断及进展检测能够提高胶质瘤的治疗效率,具有重要意义^[5]。以往的研究,主要是通过信号通路的调节来确定肿瘤的发生发展机制及提出潜在的治疗策略。近些年来,肿瘤分泌的外泌体被发现参与了包括胶质瘤在内的许多类型肿瘤微环境的调节、细胞间通讯、肿瘤耐药性等多个方面^[6]。肿瘤细胞来源的外泌体中具有一些特异性的成分,这些成分被认为是潜在的诊断以及预后生物标志物^[5]。除此之外,外泌体还具有治疗肿瘤的

收稿日期:2020-06-22;修回日期:2020-08-12
基金项目:重庆医科大学院内孵化重点项目(KY19026)
通信作者:张云东, E-mail: zhangghx68@sina.com

潜在能力,例如利用自然杀伤细胞分泌的外泌体免疫治疗肿瘤^[7],将外泌体作为载体靶向给药。本篇综述了外泌体在胶质瘤中的发生发展以及临床诊断治疗中作用。

1 外泌体的概述

1.1 外泌体来源

外泌体(exosomes)是一种细胞分泌的小囊泡结构,直径在40~140nm之间,几乎所有的细胞都能够分泌外泌体^[8]。尿液、精液、唾液、支气管液、脑脊液、母乳、血清、羊水、滑液、眼泪、淋巴液、胆汁、胃酸都能发现外泌体的存在^[9]。外泌体为杯状囊泡,其脂质双分子层富含胆固醇、鞘磷脂和神经酰胺^[10]。外泌体的组成主要是来源于供体细胞的脂质、核酸和蛋白质。不同细胞产生的外泌体具有较大的异质性,主要表现在内容物的种类和含量上。

与其他胞外小泡不同,外泌体是作为内体途径一部分形成的。质膜驱动的内吞作用使细胞形成内吞小泡,内吞小泡可以相互融合形成内小体,内小体生长和成熟,成为多泡体(multivesicular bodies, MVBs)。在这个成熟过程中,MVBs外膜向内变形,在MVBs内部产生腔内小泡,每个小泡都含有胞质成分。MVBs随后被运输到细胞表面,与质膜融合后,其腔内小泡作为胞外小体释放到胞外空间,形成外泌体^[9,11]。MVBs和外泌体的形成和释放是通过转运所需的内体分选复合体(endosomal complexes required for transport, ESCRT)途径来调节。MVBs的形成可受到生长因子的刺激,细胞根据自身需要调节外泌体的产生^[12]。外泌体进入靶细胞最常见的摄取方式是通过内吞作用^[9]。

1.2 外泌体的组成

1.2.1 外泌体的脂质含量及膜特性

外泌体中含有脂质的种类很多。一项研究在结肠癌细胞系LIM1215的外泌体中测定了500多种脂质种类^[13]。外泌体具有与细胞膜极为相似的膜成分,富含鞘磷脂、神经节苷脂和不饱和脂质,但是它们的磷脂酰胆碱和二酰甘油的比例相对于它们来源的细胞膜是降低的^[14]。此外,外泌体具有更多的磷脂酰丝氨酸,这可能会帮助外泌体易于被受体细胞所识别内吞^[15]。同时,外泌体携带的脂质还可作为信号

分子,参与生物学过程。

1.2.2 外泌体中的蛋白质组成

外泌体的蛋白质组成来源相当有限——不包含任何来自核、线粒体、内质网或高尔基体的蛋白质^[16]。所有已被鉴定的外泌体蛋白都存在于胞浆、胞室膜或质膜中。转运所需的内体分选复合体(ESCRT)是外泌体形成过程中内膜出芽所必需的一组蛋白^[12]。ESCRT复合体及其辅助蛋白Alix和肿瘤易感基因蛋白101(tumor susceptibility gene 101, TSG101)存在于各种细胞来源的外泌体,可作为外泌体的通用标记^[12,17]。研究表明,外泌体富含糖蛋白和跨膜蛋白,这有利于其被受体细胞识别并摄取^[18]。外泌体的蛋白组成反应了其内体起源^[19]。外泌体的膜结构可以保护其内容蛋白不被外部的蛋白酶和磷酸酶所降解。通过表达特定的外泌体表面蛋白、配体和与靶细胞上蛋白相互作用的受体,外泌体可具有更高的特异性^[20]。

1.2.3 外泌体中的核酸

外泌体中携带RNA的长度(通常小于200个核苷酸)明显低于细胞中的平均长度^[21]。外泌体中的RNA主要包括microRNAs(miRNAs)和转运RNA(transfer RNAs, tRNAs)、小干扰RNA(small interfering RNAs, siRNAs)。其中的miRNAs,是长度约为22~26个核苷酸的单链非蛋白编码RNA,主要作为转录或转录后水平的基因阻遏物RNA抑制mRNA翻译或刺激mRNA降解^[22]。miRNAs被认为是肿瘤发生的重要因素,因为它们能够调控许多基因的表达^[23]。外泌体RNA的种类因来源细胞类型而异。研究表明,肿瘤来源的外泌体通常比来自正常细胞的外泌体含有更多的RNA^[24]。

2 外泌体与胶质瘤

2.1 外泌体参与胶质瘤发生发展

外泌体可作为胶质瘤许多致瘤因子的载体,参与胶质瘤的发生发展。外泌体可以携带各种分子进入受体细胞,其中一些成分具有致癌作用,例如肿瘤蛋白、致癌转录因子、致癌miRNAs等,导致肿瘤在不同癌症阶段的发展。胶质母细胞瘤(glioblastoma, GBM)中表皮生长因子受体变体Ⅲ(epidermal growth factor receptor variant Ⅲ, EGFRvⅢ)等致癌成分通过外泌体转移至微环境传播侵袭性^[25]。神经营养因

子(neurotrophins,NTs)是一类最初在神经系统中发现的生长因子,它参与了包括胶质瘤在内的几种恶性肿瘤细胞的增殖、分化或凋亡^[26]。外泌体 miR-451 参与胶质瘤的增殖、细胞迁移和调节肝激酶 B1/amp 活化蛋白的表达^[27]。一项研究发现^[28],外泌体 miR-148a 通过靶向细胞粘附分子 1 (cell adhesion molecule 1,CADM1)激活 STAT3 通路,促进 GBM 细胞增殖和转移。来自缺氧诱导因子 1 α (hypoxia-inducible factor-1 α ,AHIF)基因高表达的 GBM 细胞的外泌体促进了细胞的生存、侵袭,降低了凋亡细胞的比例^[29]。Pace 等^[30]从人 T98G-GBM 细胞系的条件培养基中分离出免疫球蛋白超家族蛋白 L1CAM 修饰的外泌体显著提高了三种胶质瘤细胞(T98G/shL1、U-118 MG 和原代 GBM 细胞)的运动、增殖和侵袭能力。

外泌体促进胶质瘤血管生成。血管生成是肿瘤发生发展过程中的关键事件,胶质瘤来源的外泌体参与了此过程并发挥了重要作用。胶质瘤来源外泌体包含不同的促血管生成因子,内皮细胞需要这些促血管生成因子来增殖和迁移^[31]。血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor,VEGF)又称血管通透性因子,是目前研究最多的促血管生成因子,报道表明 VEGF 可通过胶质瘤来源的外泌体运输,从而促进胶质瘤血管的生成^[31]。一项体外实验研究发现^[32],长链非编码 RNA CCAT2(linc-CCAT2)在胶质瘤组织中过度表达,linc-CCAT2 富集的胶质瘤 U87 外泌体可以被人脐静脉内皮细胞(human umbilical vein endothelial cells,HUVECs)吸收,上调 HUVECs 中血管内皮生长因子 α (vascular endothelial growth factor- α ,VEGF α) 和转化生长因子 β (transforming growth factor- β ,TGF- β) 的表达,促进 B 淋巴细胞瘤-2(B-cell lymphoma-2,Bcl-2)基因的表达,抑制 Bax (BCL2-Associated X)和 caspase-3 的表达,从而促进血管的生成。Wang 等^[33]发现胶质瘤干细胞(glioma stem cells,GSCs)中 miR-26a 表达上调,GSCs 来源的富含 miR-26a 外泌体通过抑制 PTEN 激活 PI3K/Akt 信号通路在体外促进人脑微血管内皮细胞(human brain microvascular endothelial cells,HBMECs)的增殖和血管生成。Lang 等^[34]研究表明,胶质瘤细胞 A172 外泌体处理的 HBMECs 中 linc-POU3F3 的表达水平以及 FGF- β 、FGFR- β 、VEGF- α 和 Angio 的基

因和蛋白表达水平明显高于对照组。A172 外泌体在体外促进 HBMECs 迁移、增殖、管状结构形成和体内小动脉形成方面具有较好的作用。研究表明^[23],在低氧诱导的 CD133 阳性 U87 胶质瘤细胞来源外泌体是肿瘤血管系统和胶质瘤细胞体外增殖的有效诱导因子。对 GBM 细胞释放的外泌体进行表征,发现供体细胞中 miR-1 过表达实际上被加载到外泌体中并转移到受体细胞中,在功能上靶向其效应因子,对体内血管形成的影响显著^[35]。GBM 细胞可发生 PTPRZ1-MET 融合(ZM 融合),ZM 融合的 GBM 细胞外泌体中 MET 原癌基因表达较高^[36]。ZM 外泌体的摄取也诱导了 GBM 细胞迁移、侵袭以及血管生成^[36]。胶质瘤 U251 外泌体中含有为血管生成创造有利条件的蛋白水解酶(明胶酶和纤溶酶原激活物)、生长因子(VEGF 和 TGF β)和趋化因子受体 CXCR4,促进胶质瘤血管生成^[37]。

2.2 外泌体参与胶质瘤微环境的构建及细胞转化

胶质瘤通过外泌体影响周围组织和改造肿瘤微环境,为肿瘤的发展和转移创造适合的条件。越来越多的证据表明,肿瘤细胞与其他细胞之间的一种关键的交流方式是释放和摄取外泌体,主要通过其携带的蛋白质和 RNA 发挥作用^[38]。外泌体介导的细胞间通讯被证明有助于受体细胞的细胞转化、表型重组和功能改变,其途径包括微环境的局部和系统修饰以及 miRs 等生物分子的直接转移^[35]。MiRNA -1 通过外泌体介导肿瘤微环境内的癌细胞相互沟通^[35]。与其他类型的肿瘤类似,GBM 细胞中产生的突变 RNA 和蛋白质水平通过外泌体转移到邻近细胞中,导致肿瘤进一步生长。MiR-1246 在缺氧性胶质瘤外泌体中富集,通过靶向 TERF2IP 激活 STAT3 信号通路并抑制 NF- κ B 信号通路影响 M2 巨噬细胞极化,从而促进免疫抑制微环境的形成^[39]。胶质瘤源性外泌体(GEXs)在体外和体内均能促进 MDSCs 的分化,调节肿瘤免疫抑制微环境形成^[40]。Bian 等^[41]研究发现,胶质瘤细胞源性外泌体促进了星形胶质细胞的活化,并具有将转化生长因子 β (TGF- β) 激活的长非编码 RNA(lncRNA)穿梭到星形胶质细胞的能力。TGF- β 激活的星形胶质细胞反过来促进胶质瘤细胞的迁移和侵袭,TGF- β 可能通过外泌体调控胶质瘤微环境^[41]。

外泌体促进胶质瘤发生上皮间质转化(epithe-

lial-mesenchymal transition, EMT), 促进肿瘤的转移。肿瘤的上皮间质转化是肿瘤获得侵袭转移能力的基础, 外泌体参与了胶质瘤的上皮间质转化。在胶质瘤中, 肿瘤细胞通过外泌体释放许多生长因子, 包括 TGF- β 、表皮生长因子、血小板衍生生长因子和成纤维细胞生长因子 2, 这些因子可引起 EMT 启动所需的转录因子水平的改变, 也可通过多种蛋白酶增加对周围正常细胞的侵袭力^[4]。胶质瘤细胞释放的外泌体中含有 CD147, CD147 可促进内皮细胞中金属基质蛋白 MMP-1、MMP-2 和 MMP-9 的表达, 这些蛋白促进肿瘤细胞的上皮间质转化, 导致肿瘤的侵袭转移^[42]。ZM 融合的 GBM 细胞外泌体转移到非 ZM 融合的 GBM 细胞和正常的人星形胶质细胞, 改变其基因表达, 并可诱导上皮间质转化^[37]。缺氧性胶质瘤源性外泌体(H-GDEs)显著诱导 M2 巨噬细胞极化, 促进胶质瘤的增殖、迁移和侵袭^[39]。研究发现, U251 细胞源性外泌体通过调节增殖、迁移和侵袭以及细胞周期调控相关蛋白质的产生, 诱导了人骨髓间充质干细胞(hBMSCs)肿瘤样表型转化^[43]。

2.3 外泌体参与胶质瘤耐药性的形成及传递

胶质瘤可通过外泌体介导获得对于抗癌药物或疗法产生耐药性。目前针对胶质瘤的治疗以手术切除配合放疗化疗为主, 由于胶质瘤的弥漫性浸润, 易导致治疗失败。并且放化疗治疗手段常受到耐药性及抗辐射进展的限制, 效果并不理想^[44]。外泌体耐药可能通过以下机制^[45]: ①通过外泌体将药物释放到细胞外环境; ②调节参与药物耐药机制包括 ABC 家族的射流泵和/或酶及参与药物引起的 DNA 损伤修复相关的蛋白表达。目前化疗最为常用的替莫唑胺(temozolomide, TMZ), 被证明能延长生存时间, 但耐药性抑制了其疗效。O6-甲基鸟嘌呤 DNA 甲基转移酶和烷基嘌呤-DNA-N-糖基化酶是替莫唑胺所致 DNA 损伤修复的关键酶, 其在组织中的含量与治疗效果呈负相关^[46]。Yu 等^[44]发现, 胶质瘤细胞以非接触方式刺激正常人星形胶质细胞(NHA)转变为反应性星形胶质细胞(RAS)。RAS 释放的外泌体中 O6-烷基鸟嘌呤 DNA 烷基转移酶(MGMT)mRNA 的含量显著高于非反应性 NHA。并且, MGMT 阴性的胶质瘤细胞在体外和体内均能通过翻译外源性 MGMT mRNA 而获得抗替莫唑胺表型^[44]。

研究发现, GBM 细胞通过分泌富含 lncsf2-

as1 的外泌体来促进肿瘤的化疗耐药^[47]。替莫唑胺耐药的 GBM 细胞及其外泌体中 miR-1238 水平高于敏感细胞^[48]。耐 TMZ 的 GBM 细胞将具有生物活性的 miR-1238 通过外泌体分泌出去, TMZ 敏感的 GBM 细胞在接收了这些外泌体后, 获得了 TMZ 耐药性^[48]。研究发现^[36], ZM 融合外泌体赋予了 GBM 细胞对替莫唑胺的耐药性, 外泌体衍生的 ZM 融合网络蛋白在 GBM 微环境中靶向于受体细胞中的多种促癌效应因子。Dai 等^[29]研究发现, AHIF 的反义转录在 GBM 癌组织和抗辐射的 GBM 细胞中显著上调, AHIF 基因敲除降低 GBM 细胞的存活率和侵袭能力, 增加凋亡细胞的比例。来自 AHIF 基因敲除的 GBM 细胞的外泌体抑制了细胞的生存、侵袭和抗辐射能力。进一步生物生化分析表明, AHIF 对外泌体中迁移和血管生成相关的因子具有调节作用。此项研究首次证实了 AHIF 通过外泌体途径促进胶质母细胞瘤的进展和耐辐射^[29]。miR-151a 缺失导致 GBM 细胞 TMZ 耐药。TMZ 耐药的 GBM 细胞以外泌体方式向受体 TMZ 敏感细胞传递 TMZ 耐药^[49]。通过抑制趋化因子受体 xcr4 介导的 DNA 修复, 恢复 miR-151a 表达使 TMZ 耐药 GBM 细胞敏化。外泌体来源的 miR-221 靶向 DNMT3 基因诱导胶质瘤的进展和替莫唑胺耐药^[50]。

3 外泌体与胶质瘤的诊断

一个理想的诊断标记应具有以下特点^[51]: 易于获得、易分离性, 以及准确提供疾病状态重要信息的能力。外泌体可以从血液或者脑脊液中分离检测, 外泌体的特异成分不仅与胶质瘤的恶性进程密切相关, 而且外泌体对胶质瘤预后也具有重要指示作用。因此, 外泌体对胶质瘤的诊断具有非常重要的前景。

胶质瘤来源外泌体可以通过血液检测为癌症患者提供诊断信息。临床样本分析显示^[52], 肿瘤分级与从胶质瘤患者采血中分离的肿瘤组织和外泌体中聚合酶 I 与转录释放因子(polymerase I and transcript release factor, PTRF) 表达均呈正相关, GBM 患者术后血清中分离的外泌体中 PTRF 表达降低。PTRF 在肿瘤样本和血清外泌体中都是一种有潜力的生物标志物, 有助于胶质瘤的检测^[52]。一项研究发现^[31], 在 25 例胶质母细胞瘤患者中, 7 例患者的血清外泌体

中检测到肿瘤特异性 EGFRvⅢ。实验人员在肿瘤活检和胶质母细胞瘤患者血清外泌体中检测到 EGFRvⅢ信息,但不能在 30 例正常对照血清中检测到。19 种血管生成蛋白中有 7 种易于胶质瘤外泌体中检测到,其中 6 种[血管生成素、白介素-6(interleukin-6,IL-6)、白介素-8(IL-8)、金属蛋白酶组织抑制因子-1(tissue inhibitor of metalloproteinase-1,TIMP-1)、VEGF 和金属蛋白酶组织抑制因子-1 (TIMP-2)]在总蛋白水平上高于胶质母细胞瘤细胞。最丰富的三种血管生成蛋白是血管生成素、IL-6 和 IL-8,有望成为胶质瘤诊断的标志物^[31]。研究表明^[53],miR-454-3p 在肿瘤组织中表达显著下调,而在同一胶质瘤患者的血清外泌体中含量显著上调。miR-454-3p 的恢复表达抑制了胶质瘤细胞的增殖、迁移、侵袭和自噬^[53]。外泌体 miR-454-3p 可能作为胶质瘤诊断及预后的生物标志物。通过检测 GBM 患者外泌体 miRNA 表达水平的差异,发现 2 种 microRNAs (miR-320 和 miR-554-3p)的表达水平与 GBM 诊断显著相关^[54]。MiR-1246 在 GBM 患者脑脊液中富集,肿瘤切除后减少^[39]。GBM 患者脑脊液中 miR-1246 可能是 GBM 诊断的一个新的生物标志物并可能对于手术切除肿瘤效果具有指示作用^[39]。

外泌体可为胶质瘤辅助治疗策略以及预后指示。研究发现^[55],胶质瘤患者脑脊液中的外泌体 miR-21 水平显著高于对照组,而血清来源的外泌体 miR-21 表达无差异。脑脊液衍生的外泌体 miR-21 水平与肿瘤的脊柱、脑室转移以及肿瘤复发具有相关性^[55]。手术全切除胶质瘤后,外泌体 miR-21 水平显著降低。推测外泌体 miR21 水平可以作为一个有前途的胶质瘤诊断和预后的指标,特别是对预测肿瘤复发或转移有重要价值,并且还可能会对于手术切除程度有一定评估效果。

4 基于外泌体的胶质瘤治疗策略

外泌体作为内源性细胞通讯分子的载体,易于被肿瘤识别内吞,故外泌体可被应用于靶向治疗药物的载体。此外,来自一些特殊细胞来源的外泌体可以介导胶质瘤的免疫疗法。

4.1 外泌体辅助胶质瘤的免疫治疗

外泌体包含丰富的内容物,这取决于它们的来

源细胞。外泌体的生物学功能也因其来源的生理条件和细胞而异。已有证据表明,外泌体可在抗肿瘤方面发挥作用。

利用外泌体介导免疫治疗胶质瘤。传统的胶质瘤手段包括手术以及放化疗虽然取得了长足的进展,但是这些进步对于临床结果的影响还是不如人意。免疫治疗作为一种新的治疗策略,已经在包括胶质瘤的多种肿瘤中进行研究。免疫治疗旨在诱导抗原特异性 T 细胞对肿瘤抗原的反应,是一个肿瘤治疗的新概念^[56]。在以往的研究中发现,外泌体在肿瘤模型中具有免疫刺激功能,这让利用外泌体来介导肿瘤免疫治疗成为了可能。外泌体有可能被开发成肿瘤疫苗。肿瘤表达肿瘤特异性抗原,这些抗原被传递到来源于它们的外泌体。这些外泌体可激活树突状细胞,进而激活 CD8⁺T 细胞的抗肿瘤能力^[57]。Bu 等^[58]研究发现,分离纯化得到胶质瘤来源外泌体,将树突状细胞(dendritic cells,DCs)与些外泌体共同孵育后,可激活 T 淋巴细胞,使其成为胶质瘤特异性细胞毒性 T 淋巴细胞(cytotoxic T lymphocytes,CTL)。CTL 对胶质瘤细胞的杀伤作用强于自体淋巴细胞。这些数据表明胶质瘤外泌体负载 DCs 可作为诱导胶质瘤特异性 CTL 的工具。利用肿瘤外泌体作为抗原来源,相较于其他的诸如肿瘤细胞裂解物、mRNA 等来说,外泌体具有不少优势^[59]:外泌体成分可以确定;具有稳定的外泌体膜可以冷冻保存至少 6 个月;外泌体的生产和纯化有良好的制造程序。

利用自然杀伤杀伤细胞来源外泌体治疗胶质瘤。不变自然杀伤 T 细胞(invariant natural killer T cells,iNKT)是 T 细胞的一个特殊类群,具有 T 和 NK 细胞的共同特征^[60]。最近的研究表明,强效的合成 iNKT 激动剂 α -GalCer 与 DC 疫苗联合使用,可通过上调免疫刺激因子(如 CD40)来促进 iNKT 和 DC 相互作用,从而增强传统的 T 细胞反应,基于此生产的疫苗对脑胶质瘤免疫治疗效果良好^[61]。外泌体作为 α -GalCer 激活的一种有效的细胞佐剂,与具有直接抗肿瘤作用的 iNKTs 联合使用,可协同破坏免疫耐受,诱导对 GBM 细胞产生强抗原特异性 CTL 反应,对胶质母细胞瘤免疫治疗效果显著^[62]。自然杀伤细胞(natural killer cells,NK)来源外泌体的构成组分与其激活状态无关,即使在没有特定刺激的情况下,NK 细胞来源的外泌体也表现出有效的免疫功

能。有研究发现^[63],NK 细胞来源的外泌体,对于异种移植黑色素瘤的小鼠模型有较好的抑制肿瘤生长的效果。NK-Exo 在体内和体外的肿瘤特异性和免疫治疗效果通过移植瘤小鼠胶质瘤模型也得到了证实^[7]。

4.2 外泌体作为抗胶质瘤药物传递载体

对于胶质瘤的药物治疗有个需克服的阻碍,那就是大脑的自然生理屏障,即血脑屏障(blood brain barrier, BBB)的存在,阻碍了药物系统性地向大脑肿瘤部位扩散抑制化疗的整体疗效。多数的胶质瘤化疗药物在血液中的溶解度较低,半衰期较短,药物利用率较差^[64]。常规给药方式的药物治疗效果并不显著。目前用于高效和选择性地将药物输送到肿瘤部位的技术之一是将药物封装在肿瘤靶向载体或纳米载体中,这些纳米载体通常包含促进肿瘤区域靶向的靶向因子^[51]。纳米技术辅助药物输送系统取得了比较令人满意的结果。然而纳米载体系统的人工性质导致体内毒性相关问题。因此构建一种无毒且高效的药物靶向传递载体具有迫切需求。

外泌体作为广泛的内源性载体,其具有许多药物的传递有利特征^[51]:尺寸小可深入渗透组织;免疫逃避;高效循环半衰期长;具有靶向肿瘤细胞的亚型;能有效荷载亲水性药物和疏水性药物。由于外泌体在双层脂质膜和水核中类似于脂质体,像脂质体一样,外泌体可以通过质膜传递它们的货物,并提供一个防止过早被代谢和消除的屏障^[64]。此外,这些自然产生的分泌膜囊泡毒性更低,在体内的耐受性更好它们可能同时负载亲水和亲脂药物^[65]。使用来自干细胞来源的神经元或其他脑细胞的外泌体,可以消除免疫原性,这些外泌体可能表现出内在的亲神经行为和增强的脑特异性^[66]。P-糖蛋白(P-gp)的过度表达是癌细胞对多种药物产生耐药性的主要原因之一,这是胶质母细胞瘤细胞获得 TMZ 耐药性的一个关键因素。外泌体为基础的药物载体可以明显绕过 P-gp 药物外排系统(确切机制未知),从而减少相应药物的必要剂量^[67]。使用活性药物主动包封方式,如通过电穿孔,可提供更高的装载效率,并且对外泌体膜完整性的危害极小^[51]。基于以上特点,将外泌体作为药物的载体具有巨大潜力。利用脑内皮细胞来源的外泌体作为治疗胶质瘤的药物载体。一项在胶质瘤斑马鱼模型中的研究发现^[64],大脑内皮细胞来源的外泌体可以通过血脑屏障传递抗癌药物治

疗脑癌。这些外泌体的传递显著增加了体外培养的人胶质母细胞瘤 U-87 MG 细胞对抗癌药物阿霉素和紫杉醇的细胞内摄取和细胞毒性^[64]。

利用骨髓基质细胞(marrow stromal cells, MSC)外泌体作为抗肿瘤 miRNAs 的载体。一些种类的 miRNA 对于肿瘤具有抑制作用,而外泌体是 RNA 的天然载体,人们猜测外泌体能够作为外源核酸的载体。外泌体可以装载 miRNA (如肿瘤抑制因子 miR-7 和 miR-128^[68])、miRNA 拮抗剂(如胶质母细胞瘤中致癌 miR-21 抑制剂^[69])、小分子效应体(如多巴胺特)和 shRNA 表达质粒。一项研究发现,利用慢病毒感染,设计 MSCs 产生具有高于生理水平 miR-124a (Exo-miR-124a) 的外泌体,通过实验验证了 Exo-miR-124a 可以抑制患者来源的胶质瘤干细胞(GSCs)的生长和克隆形成。动物实验发现,Exo-miR-124a 能够治愈颅内 GSC 移植的小鼠^[70]。机制研究表明,miR-124a 通过下调靶点叉头框蛋白 A2(forkhead box protein A2, FOXA2)而发挥作用,凋亡细胞死亡与 FOXA2 介导的异常细胞内脂质积累相关。Katakowski 等^[71]的研究,将 miR-146b 表达质粒转染 MSCs,获得 MSCs 释放的外泌体。肿瘤内注射 miR-146 表达的 MSCs 外泌体可显著抑制大鼠原发性脑肿瘤模型的胶质瘤异种移植生长。这些数据说明, MSCs 可作为“生物工厂”用于生产抗胶质瘤 miR 载体外泌体,系统地传递给患者,以治疗恶性胶质瘤。

通过一些手段改造后的外泌体具有更佳的靶向和通过血脑屏障的能力。聚焦超声(FUS)由于其无创性、可逆性瞬间局部开放 BBB,已被食品和药物管理局批准用于脑部疾病的诊断和治疗。Bai 等^[72]开发了一个自然和安全的运输系统,使用 FUS 来增加外泌体的靶向输送,用于胶质瘤治疗。血清源性外泌体(B-Exos)加两次 FUS 治疗可有效抑制胶质瘤的生长,且无明显副作用。

4.3 抑制外泌体的形成、分泌和吸收

在胶质瘤的发生发展过程中,外泌体介导的细胞相互作用以及对肿瘤微环境的改造起了十分重要的作用。由于癌细胞源性外泌体在整个肿瘤进展中起着关键作用,外泌体干预策略受到了关注,这可能作为一种辅助疗法。将外泌体作为靶点,破坏其外泌体介导的细胞相互作用,阻碍外泌体促血管生成,减少外泌体对肿瘤微环境的改造^[73],有望抑制肿瘤的

恶性进展,包括胶质瘤干细胞的分裂分化以及肿瘤转移。

酸性鞘磷脂酶(aSMase)是一种可溶水解酶,在产生神经酰胺时起着关键作用,神经酰胺能刺激外泌体萌发进入多泡体,这是外泌体生物发生途径中至关重要的一步^[74]。三环类抗抑郁药(去甲肾上腺素、亚胺吡拉明和阿米替林)、S1P受体拮抗剂、FTY720和盐酸水合物(GW4869)等药物已被证明会导致酸性鞘磷脂酶活性的功能丧失,减少外泌体的产生^[75-76]。Sinha等^[77]研究表明,皮质肌动蛋白的敲除或过度表达分别导致外泌体分泌的减少或增加,而不会改变癌细胞中外泌体货物的含量。他们提出皮质肌动蛋白通过结合肌动蛋白相关蛋白(actin-related protein 2/3, Arp2/3)和稳定富含皮质肌动蛋白的MVB来促进外泌体分泌。研究表明^[78],GTP调节酶Rab27a和Rab27b调节多泡体MVB与质膜对接和外体生物发生的不同步骤,其中Rab27a调节MVB分解,Rab27b调节不同类型细胞中外体的MVB分布、形成和分泌。PRAS40基因敲低(knock-down, KD)或PRAS40显性负性(dominant negativity, DN)突变体过表达能阻断转化生长因子 α (TGF- α),而且还能抑制缺氧和H₂O₂诱导的多种正常和肿瘤细胞的外泌体分泌^[79]。证据表明^[80],炎性细胞因子提高了星形胶质细胞中晶体蛋白甲B(crystatin alpha B, CryAB)的水平,上调了外泌体的分泌。一些与胶质瘤侵袭和进展有关的蛋白质,如炎性细胞因子白细胞介素-1 β (IL-1 β)和肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor α , TNF- α)的水平在创伤性脑损伤、神经炎性疾病和多形性胶质母细胞瘤(GBM)中升高的胞外分泌增加^[81]。减少这些蛋白的含量,有望降低胶质瘤外泌体的产生。研究发现^[82],中性鞘磷脂酶2(nSMase2)是阻碍外泌体分泌从而抑制肿瘤转移和血管生成的另一个潜在靶点。

此外,肝素、氯丙嗪、辛伐他汀和阿米洛利等药物^[83],可通过一些细胞靶点降低细胞对外泌体的摄入,这可一定程度阻碍胶质瘤外泌体介导的细胞相互作用。

5 现状与展望

外泌体具有丰富的内容物,包含了大量生物学

信息。目前的大量研究证明了外泌体在胶质瘤的发生发展以及耐药过程中起了重要的作用,相关的机制在逐渐的探索中取得了不错的进展,但仍然还有一些需要阐明的问题,尤其是外泌体与胶质瘤发生过程中的作用机制。外泌体介导的供体与受体细胞间的细胞通讯及对肿瘤微环境的改造加速了肿瘤的恶性进展。外泌体由于其特异性的优点,将其应用于胶质瘤的诊断检测具有极大潜力,但是对于外泌体的分离、纯化、成分的定性分析等技术还有待于继续提升优化,高效特异性的生物标志物也需进一步挖掘。外泌体作为药物递送系统具有靶向性较好,能突破血脑屏障的限制,毒副作用小等优势。此外一些对于外泌体的改造措施,进一步加强了其靶向性以及药物利用率。这些特点使得外泌体成为开发新的胶质瘤治疗方案的关键研究组成部分。将外泌体应用于胶质瘤的治疗,需要进一步明确外泌体中特定活性成分与胶质瘤作用的相关机制,并提高其靶向性和特异性,并且规范化给药方式剂量也是需要解决的问题。尽管目前还有很多很多的难题需要解决,但是随着研究的进一步深入,外泌体很可能成为胶质瘤的诊断、疗效评估、预后判断的常规工具及治疗的辅助手段。总之,外泌体对于胶质瘤发生发展、耐药等过程发挥重要作用,在胶质瘤诊断、治疗方面外泌体也具有广阔应用前景。对于外泌体的进一步深入研究意义重大,也将面临巨大挑战。

参考文献:

- [1] Wang Y, Jiang T. Understanding high grade glioma: molecular mechanism, therapy and comprehensive management[J]. Cancer Lett, 2013, 331(2): 139-146.
- [2] Jensen SA, Day ES, Ko CH, et al. Spherical nucleic acid nanoparticle conjugates as an RNAi-based therapy for glioblastoma[J]. Sci Transl Med, 2013, 5(209): 209ra152.
- [3] Lang JY. Consensus of Chinese experts on glioma radiotherapy (2017) radiotherapy oncology branch of Chinese Medical Association [J]. Chinese Journal of Radiation Oncology, 2018, 27(2): 123-131.[郎锦义. 胶质瘤放疗中国专家共识(2017)中华医学会放射肿瘤治疗学分会[J]. 中华放射肿瘤学杂志, 2018, 27(2): 123-131.]
- [4] Iwata Y, Epithelial-mesenchymal transition in glioblastoma progression[J]. Oncol Lett, 2016, 11(3): 1615-1620.
- [5] Saadatpour L, Fadaee E, Fadaei S, et al. Glioblastoma: exosome and microRNA as novel diagnosis biomarkers [J].

- Cancer Gene Ther, 2016, 23(12):415–418.
- [6] Quezada C, Torres Á, Niechi I, et al. Role of extracellular vesicles in glioma progression[J]. *Mol Aspects Med*, 2018, 60:38–51.
 - [7] Zhu L, Oh JM, Gangadaran P, et al. Targeting and therapy of glioblastoma in a mouse model using exosomes derived from natural killer cells[J]. *Front Immunol*, 2018, 9:824.
 - [8] Koritzinsky EH, Street JM, Star RA, et al. Quantification of exosomes[J]. *J Cell Physiol*, 2017, 232(7):1587–1590.
 - [9] Doyle LM, Wang MZ. Overview of extracellular vesicles, their origin, composition, purpose, and methods for exosome isolation and analysis[J]. *Cells*, 2019, 8(7):127–135.
 - [10] Théry C, Ostrowski M, Segura E. Membrane vesicles as conveyors of immune responses[J]. *Nat Rev Immunol*, 2009, 9(8):581–593.
 - [11] Steinbichler TB, Dudás J, Riechelmann H, et al. The role of exosomes in cancer metastasis [J]. *Semin Cancer Biol*, 2017, 44:170–181.
 - [12] Babst M, Katzmann DJ, Estepa-Sabal EJ, et al. ESCRT-III: an endosome-associated heterooligomeric protein complex required for mvb sorting[J]. *Dev Cell*, 2002, 3(2):271–282.
 - [13] Lydic TA, Townsend S, Adda CG, et al. Rapid and comprehensive ‘shotgun’ lipidome profiling of colorectal cancer cell derived exosomes[J]. *Methods*, 2015, 87:83–95.
 - [14] Laulagnier K, Motta C, Hamdi S, et al. Mast cell- and dendritic cell-derived exosomes display a specific lipid composition and an unusual membrane organization[J]. *Biochem J*, 2004, 380(Pt 1):161–171.
 - [15] Fitzner D, Schnaars M, van Rossum D, et al. Selective transfer of exosomes from oligodendrocytes to microglia by macropinocytosis[J]. *J Cell Sci*, 2011, 124(Pt 3):447–458.
 - [16] Beach A, Zhang HG, Ratajczak MZ, et al. Exosomes: an overview of biogenesis, composition and role in ovarian cancer[J]. *J Ovarian Res*, 2014, 7:14.
 - [17] Addi C, Presle A, Frémont S, et al. The flemmingsome reveals an ESCRT-to-membrane coupling via ALIX/syntaxin/syndecan-4 required for completion of cytokinesis [J]. *Nat Commun*, 2020, 11(1):1941.
 - [18] Escrevente C, Keller S, Altevogt P, et al. Interaction and uptake of exosomes by ovarian cancer cells[J]. *BMC Cancer*, 2011, 11:108.
 - [19] Vlassov AV, Magdaleno S, Setterquist R, et al. Exosomes: current knowledge of their composition, biological functions, and diagnostic and therapeutic potentials[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2012, 1820(7):940–948.
 - [20] Qin W, Dallas SL. Exosomes and extracellular RNA in muscle and bone aging and crosstalk [J]. *Curr Osteoporos Rep*, 2019, 17(6):548–559.
 - [21] Huang X, Yuan T, Tschannen M, et al. Characterization of human plasma-derived exosomal RNAs by deep sequencing [J]. *BMC Genomics*, 2013, 14:319.
 - [22] Chavali S, Bruhn S, Tiemann K, et al. MicroRNAs act complementarily to regulate disease-related mRNA modules in human diseases[J]. *RNA*, 2013, 19(11):1552–1562.
 - [23] Zhang G, Zhang Y, Cheng S, et al. CD133 positive U87 glioblastoma cells-derived exosomal microRNAs in hypoxia-versus normoxia-microenvironment[J]. *J Neurooncol*, 2017, 135(1):37–46.
 - [24] Balaj L, Lessard R, Dai L, et al. Tumour microvesicles contain retrotransposon elements and amplified oncogene sequences[J]. *Nat Commun*, 2011, 2:180.
 - [25] Pinet S, Bessette B, Vedrenne N, et al. TrkB-containing exosomes promote the transfer of glioblastoma aggressiveness to YKL-40-inactivated glioblastoma cells [J]. *Oncotarget*, 2016, 7(31):50349–50364.
 - [26] Redden RA, Iyer R, Brodeur GM, et al. Rotary bioreactor culture can discern specific behavior phenotypes in Trk-null and Trk-expressing neuroblastoma cell lines [J]. *In Vitro Cell Dev Biol Anim*, 2014, 50(3):188–193.
 - [27] Li CC, Eaton SA, Young PE, et al. Glioma microvesicles carry selectively packaged coding and non-coding RNAs which alter gene expression in recipient cells [J]. *RNA Biol*, 2013, 10(8):1333–1344.
 - [28] Cai Q, Zhu A, Gong L. Exosomes of glioma cells deliver miR-148a to promote proliferation and metastasis of glioblastoma via targeting CADM1 [J]. *Bull Cancer*, 2018, 105(7–8):643–651.
 - [29] Dai X, Liao K, Zhuang Z, et al. AHIF promotes glioblastoma progression and radioresistance via exosomes[J]. *Int J Oncol*, 2019, 54(1):261–270.
 - [30] Pace KR, Dutt R, Galileo DS. Exosomal L1CAM stimulates glioblastoma cell motility, proliferation, and invasiveness [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(16):234–256.
 - [31] Skog J, Würdinger 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.
 - [32] Lang HL, Hu GW, Zhang B, et al. Glioma cells enhance angiogenesis and inhibit endothelial cell apoptosis through the release of exosomes that contain long non-coding RNA CCAT2[J]. *Oncol Rep*, 2017, 38(2):785–798.
 - [33] Wang ZF, Liao F, Wu H, et al. Glioma stem cells-derived

- exosomal miR-26a promotes angiogenesis of microvessel endothelial cells in glioma [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2019, 38(1):201.
- [34] Lang HL, Hu GW, Chen Y, et al. Glioma cells promote angiogenesis through the release of exosomes containing long non-coding RNA POU3F3 [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2017, 21(5):959–972.
- [35] Bronisz A, Wang Y, Nowicki MO, et al. Extracellular vesicles modulate the glioblastoma microenvironment via a tumor suppression signaling network directed by miR-1 [J]. *Cancer Res*, 2014, 74(3):738–750.
- [36] Zeng AL, Yan W, Liu YW, et al. Tumour exosomes from cells harbouring PTPRZ1-MET fusion contribute to a malignant phenotype and temozolomide chemoresistance in glioblastoma[J]. *Oncogene*, 2017, 36(38):5369–5381.
- [37] Giusti I, Delle MS, Di Francesco M, et al. From glioblastoma to endothelial cells through extracellular vesicles: messages for angiogenesis [J]. *Tumour Biol*, 2016, 37(9):12743–12753.
- [38] van der Vos KE, Balaj L, Skog J, et al. Brain tumor microvesicles: insights into intercellular communication in the nervous system [J]. *Cell Mol Neurobiol*, 2011, 31(6):949–959.
- [39] Qian M, Wang S, Guo X, et al. Hypoxic glioma-derived exosomes deliver microRNA-1246 to induce M2 macrophage polarization by targeting TERF2IP via the STAT3 and NF- κ B pathways [J]. *Oncogene*, 2020, 39(2):428–442.
- [40] Guo X, Qiu W, Wang J, et al. Glioma exosomes mediate the expansion and function of myeloid-derived suppressor cells through microRNA-29a/Hbp1 and microRNA-92a/Prkar1a pathways [J]. *Int J Cancer*, 2019, 144 (12):3111–3126.
- [41] Bian EB, Chen EF, Xu YD, et al. Exosomal lncRNA-ATB activates astrocytes that promote glioma cell invasion[J]. *Int J Oncol*, 2019, 54(2):713–721.
- [42] Millimaggi D, Mari M, D’Ascenzo S, et al. Tumor vesicle-associated CD147 modulates the angiogenic capability of endothelial cells[J]. *Neoplasia*, 2007, 9(4):349–357.
- [43] Ma Z, Cui X, Lu L, et al. Exosomes from glioma cells induce a tumor-like phenotype in mesenchymal stem cells by activating glycolysis[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2019, 10(1):60.
- [44] Yu T, Wang X, Zhi T, et al. Delivery of MGMT mRNA to glioma cells by reactive astrocyte-derived exosomes confers a temozolomide resistance phenotype[J]. *Cancer Lett*, 2018, 433:210–220.
- [45] Akers JC, Gonda D, Kim R, et al. Biogenesis of extracellular vesicles (EV): exosomes, microvesicles, retrovirus-like vesicles, and apoptotic bodies [J]. *J Neurooncol*, 2013, 113(1):1–11.
- [46] Shao H, Chung J, Lee K, et al. Chip-based analysis of exosomal mRNA mediating drug resistance in glioblastoma[J]. *Nat Commun*, 2015, 6:6999.
- [47] Zhang Z, Yin J, Lu C, et al. Exosomal transfer of long non-coding RNA SBF2-AS1 enhances chemoresistance to temozolomide in glioblastoma [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2019, 38(1):166.
- [48] Yin J, Zeng A, Zhang Z, et al. Exosomal transfer of miR-1238 contributes to temozolomide-resistance in glioblastoma[J]. *EBioMedicine*, 2019, 42:238–251.
- [49] Zeng A, Wei Z, Yan W, et al. Exosomal transfer of miR-151a enhances chemosensitivity to temozolomide in drug-resistant glioblastoma[J]. *Cancer Lett*, 2018, 436:10–21.
- [50] Yang JK, Yang JP, Tong J, et al. Exosomal miR-221 targets DNMT3 to induce tumor progression and temozolomide resistance in glioma[J]. *J Neurooncol*, 2017, 131(2):255–265.
- [51] Basu B, Ghosh MK. Extracellular vesicles in glioma: from diagnosis to therapy[J]. *Bioessays*, 2019, 41(7):e1800245.
- [52] Huang K, Fang C, Yi K, et al. The role of PTRF/Cavin1 as a biomarker in both glioma and serum exosomes[J]. *Theranostics*, 2018, 8(6):1540–1557.
- [53] Shao N, Xue L, Wang R, et al. miR-454-3p is an exosomal biomarker and functions as a tumor suppressor in Glioma [J]. *Mol Cancer Ther*, 2019, 18(2):459–469.
- [54] Manterola L, Guruceaga E, Gállego PJ, et al. A small noncoding RNA signature found in exosomes of GBM patient serum as a diagnostic tool[J]. *Neuro Oncol*, 2014, 16(4):520–527.
- [55] Shi R, Wang PY, Li XY, et al. Exosomal levels of miRNA-21 from cerebrospinal fluids associated with poor prognosis and tumor recurrence of glioma patients [J]. *Oncotarget*, 2015, 6(29):26971–26981.
- [56] Seo N, Akiyoshi K, Shiku H. Exosome-mediated regulation of tumor immunology[J]. *Cancer Sci*, 2018, 109(10):2998–3004.
- [57] Wolfers J, Lozier A, Raposo G, et al. Tumor-derived exosomes are a source of shared tumor rejection antigens for CTL cross-priming[J]. *Nat Med*, 2001, 7(3):297–303.
- [58] Bu N, Wu H, Sun B, et al. Exosome-loaded dendritic cells elicit tumor-specific CD8⁺ cytotoxic T cells in patients with glioma[J]. *J Neurooncol*, 2011, 104(3):659–667.
- [59] Chaput N, Taïeb J, Scharzt NE, et al. Exosome-based immunotherapy [J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2004, 53

- (3):234–239.
- [60] Théry C, Regnault A, Garin J, et al. Molecular characterization of dendritic cell-derived exosomes. Selective accumulation of the heat shock protein hsc73 [J]. *J Cell Biol*, 1999, 147(3):599–610.
- [61] Hunn MK, Farrand KJ, Broadley KW, et al. Vaccination with irradiated tumor cells pulsed with an adjuvant that stimulates NKT cells is an effective treatment for glioma [J]. *Clin Cancer Res*, 2012, 18(23):6446–6459.
- [62] Liu H, Chen L, Liu J, et al. Co-delivery of tumor-derived exosomes with alpha-galactosylceramide on dendritic cell-based immunotherapy for glioblastoma [J]. *Cancer Lett*, 2017, 411:182–190.
- [63] Zhu L, Kalimuthu S, Gangadaran P, et al. Exosomes derived from natural killer cells exert therapeutic effect in melanoma [J]. *Theranostics*, 2017, 7(10):2732–2745.
- [64] Yang T, Martin P, Fogarty B, et al. Exosome delivered anticancer drugs across the blood-brain barrier for brain cancer therapy in Danio rerio [J]. *Pharm Res*, 2015, 32(6):2003–2014.
- [65] Katakowski M, Chopp M. Exosomes as tools to suppress primary brain tumor [J]. *Cell Mol Neurobiol*, 2016, 36(3):343–352.
- [66] Lakhal S, Wood MJ. Exosome nanotechnology: an emerging paradigm shift in drug delivery: exploitation of exosome nanovesicles for systemic in vivo delivery of RNAi heralds new horizons for drug delivery across biological barriers [J]. *Bioessays*, 2011, 33(10):737–741.
- [67] Kim MS, Haney MJ, Zhao Y, et al. Development of exosome-encapsulated paclitaxel to overcome MDR in cancer cells [J]. *Nanomedicine*, 2016, 12(3):655–664.
- [68] Godlewski J, Nowicki MO, Bronisz A, et al. Targeting of the Bmi-1 oncogene/stem cell renewal factor by microRNA-128 inhibits glioma proliferation and self-renewal [J]. *Cancer Res*, 2008, 68(22):9125–9130.
- [69] Asangani IA, Rasheed SA, Nikolova DA, et al. MicroRNA-21(miR-21) post-transcriptionally downregulates tumor suppressor Pcd4 and stimulates invasion, intravasation and metastasis in colorectal cancer [J]. *Oncogene*, 2008, 27(15):2128–2136.
- [70] Lang FM, Hossain A, Gumin J, et al. Mesenchymal stem cells as natural biofactories for exosomes carrying miR-124a in the treatment of gliomas [J]. *Neuro Oncol*, 2018, 20(3):380–390.
- [71] Katakowski M, Buller B, Zheng X, et al. Exosomes from marrow stromal cells expressing miR-146b inhibit glioma growth [J]. *Cancer Lett*, 2013, 335(1):201–204.
- [72] Bai L, Liu Y, Guo K, et al. Ultrasound facilitates naturally equipped exosomes derived from macrophages and blood serum for orthotopic glioma treatment [J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2019, 11(16):14576–14587.
- [73] Gourlay J, Morokoff AP, Luwor RB, et al. The emergent role of exosomes in glioma [J]. *J Clin Neurosci*, 2017, 35:13–23.
- [74] Trajkovic K, Hsu C, Chiantia S, et al. Ceramide triggers budding of exosome vesicles into multivesicular endosomes [J]. *Science*, 2008, 319(5867):1244–1247.
- [75] Dawson G, Qin J. Gilenya (FTY720) inhibits acid sphingomyelinase by a mechanism similar to tricyclic antidepressants [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2011, 404(1):321–323.
- [76] Kornhuber J, Tripal P, Reichel M, et al. Functional inhibitors of acid sphingomyelinase (FIASMs): a novel pharmacological group of drugs with broad clinical applications [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2010, 26(1):9–20.
- [77] Sinha S, Hoshino D, Hong NH, et al. Cortactin promotes exosome secretion by controlling branched actin dynamics [J]. *J Cell Biol*, 2016, 214(2):197–213.
- [78] Ostrowski M, Carmo NB, Krumeich S, et al. Rab27a and Rab27b control different steps of the exosome secretion pathway [J]. *Nat Cell Biol*, 2010, 12(1):19–30; suppl 1–13.
- [79] Guo J, Jayaprakash P, Dan J, et al. PRAS40 connects microenvironmental stress signaling to exosome-mediated secretion [J]. *Mol Cell Biol*, 2017, 37(19):1732–1745.
- [80] Kore RA, Abraham EC. Phosphorylation negatively regulates exosome mediated secretion of cryAB in glioma cells [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2016, 1863(2):368–377.
- [81] Kore RA, Abraham EC. Inflammatory cytokines, interleukin-1 beta and tumor necrosis factor-alpha, upregulated in glioblastoma multiforme, raise the levels of CRYAB in exosomes secreted by U373 glioma cells [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2014, 453(3):326–331.
- [82] Messenger SW, Woo SS, Sun Z, et al. Correction: a Ca(2+)-stimulated exosome release pathway in cancer cells is regulated by Munc13-4 [J]. *J Cell Biol*, 2019, 218(4):1423.
- [83] Mulcahy LA, Pink RC, Carter DR. Routes and mechanisms of extracellular vesicle uptake [J]. *J Extracell Vesicles*, 2014, 3:737–740.