

肿瘤来源外泌体在机体免疫系统与肿瘤微环境中的作用及其临床应用前景

王倩, 肖文华

解放军总医院第一附属医院 肿瘤内科, 北京 100037

摘要: 外泌体是一种内吞来源的小囊泡, 直径 50 ~ 100 nm, 其内含有 microRNA、mRNA、DNA 片段、蛋白质等。免疫细胞、间叶细胞、肿瘤细胞等许多人体内不同种类的细胞均可释放外泌体。外泌体通过胞外分泌途径产生, 主要从供体细胞运输到受体细胞。肿瘤来源外泌体与肿瘤的发生发展有密切的关系。一方面, 肿瘤来源外泌体有助于肿瘤微环境的构建; 另一方面, 肿瘤来源外泌体在机体免疫系统中发挥着免疫促进与免疫抑制的双重作用。此外, 外泌体可以作为一种生物标记物在肿瘤诊断和治疗过程中发挥作用。在本文中, 我们将对外泌体的生物起源与分泌进行讨论, 并且着重阐述肿瘤来源外泌体在肿瘤微环境、肿瘤免疫等方面的作用及其临床应用前景。

关键词: 外泌体; 肿瘤微环境; 免疫; 诊断; 治疗

中图分类号: R 730.3 **文献标志码:** A **文章编号:** 2095-5227(2017)01-0071-04 **DOI:** 10.3969/j.issn.2095-5227.2017.01.019

网络出版时间: 2016-12-16 16:40

网络出版地址: http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3275.R.20161216.1640.002.html

Function of tumor derived exosomes in human immune system and tumor microenvironment and its clinical application

WANG Qian, XIAO Wenhua

Department of Oncology, The First Affiliated Hospital of Chinese PLA General Hospital, Beijing 100037, China

Corresponding author: XIAO Wenhua. Email: w_hxiao@hotmail.com

Abstract: Exosomes are a kind of endocytosis-derived small vesicles with a size of 50- 100 nm, containing microRNA, mRNA, DNA fragment, protein and so on. They were secreted by immune cells, mesenchymal cells, tumor cells and many other kinds of cells through exocytic pathway, mainly transferred from donor cells to recipient cells. Tumor-derived exosomes have close relationship with tumor progression. On one hand, tumor-derived exosomes contributed to the construction of tumor microenvironment, on the other hand, tumor-derived exosomes have dual function of immunoenhancement and immunosuppression in human immune system. Exosomes have a potential to be biomarker in diagnosis and treatment of tumor. In this article, we will discuss the biogenesis and secretion of exosomes, and mainly emphasizes the function of tumor-derived exosomes in tumor microenvironment and immune system, and its prospect of clinical application.

Keywords: exosomes; tumor microenvironment; immune; diagnosis; therapy

肿瘤发生发展过程中所处的内环境, 是由肿瘤细胞、间质细胞、微血管、微淋巴管、免疫细胞共同构成的复杂结构^[1]。在单个肿瘤细胞发展到肿瘤组织, 再到转移的过程中, 肿瘤细胞会释放一些可以破坏组织微环境的信号。这些信号包括可溶性细胞因子和多种细胞外囊泡, 外泌体就是其中一种^[2]。

外泌体是一种双层囊泡结构, 直径 50 ~ 100 nm, 其内含物包括 microRNA、mRNA、DNA 片段及蛋白质等^[3-5]。当外泌体与周围细胞相互作用时, 细胞表面受体激活, 囊泡内含物转运到相应细胞内, 从而对靶细胞起到调节作用^[6-7]。相比正常细胞, 外泌体在肿瘤细胞中的分泌量更大。但迄

今为止外泌体在肿瘤微环境中的具体作用尚不清楚。本篇文章将着重阐述肿瘤来源外泌体在机体免疫系统与肿瘤微环境中的作用, 并进一步介绍其临床应用前景, 旨在进一步推动有关外泌体的研究。

1 外泌体来源及分泌

机体大多数细胞(如树突细胞、肿瘤细胞、肥大细胞、上皮细胞细胞等)均可分泌外泌体^[8]。一般情况下细胞内较大的微囊泡是从质膜上直接分离而来的, 而外泌体则来源于细胞内的核内小体, 通过胞外分泌途径产生^[9]。肿瘤细胞外泌体的分泌过程受多种因素的影响。肿瘤微环境中存在压力及低氧因素, 这些因素会促使肿瘤细胞分泌大量外泌体^[10]。还有报道指出, P53 蛋白在肿瘤中异常激活可调节肿瘤细胞分泌外泌体^[11]。此外, 乙酰肝素酶(一种在许多肿瘤细胞株中高表达的蛋白酶)也被报道具有调节外泌体分泌的功能^[12]。在宫颈癌细胞中, 小分子 GTP 酶 Rab27A 与 Rab27B 能够调节外泌体的胞外分泌过程^[2]。其中, Rab27A 是调节分泌前阶段的重要分子, 它决定了分泌前阶段颗

收稿日期: 2016-08-24

基金项目: 国家自然科学基金项目(81372220)

Supported by the National Natural Science Foundation of China(81372220)

作者简介: 王倩, 女, 在读硕士。研究方向: 消化道肿瘤的内科治疗。Email: ciciwq125@163.com

通信作者: 肖文华, 男, 主任医师, 教授。Email: w_hxiao@hotmail.com

粒池的大小^[13]。在乳腺癌细胞中,若阻断Rab27A相关途径,外泌体的分泌量会相应下降,肿瘤细胞的迁移和侵袭能力也会下降;然而,在患有乳腺癌的两只小鼠中,抑制Rab27B的表达时,外泌体的分泌量没有受到明显影响^[2]。因此,Rab27蛋白在调节外泌体的分泌过程中具有一定的特异性,这与肿瘤细胞的种类有关。在不同类型肿瘤中,以上几种因素根据不同机制调节外泌体的分泌过程,但到目前为止,肿瘤细胞调节外泌体分泌的具体机制仍然不是十分清楚。

2 外泌体在肿瘤微环境中的作用

外泌体可以在肿瘤细胞之间传递致瘤性蛋白。神经胶质瘤来源的外泌体膜上有一种发生突变的表皮生长因子受体(EGFRv III),该受体的聚集会使细胞大量表达抗凋亡基因,同时增强肿瘤细胞的非贴壁生长能力,而这一突变受体就是通过外泌体在肿瘤细胞之间传递的^[14]。KRAS基因突变的结肠癌细胞能够释放含有突变KRAS蛋白的外泌体,进而促进细胞的生长及致瘤性^[15]。最近的有关研究提示,外泌体转导的一些蛋白会使肿瘤细胞产生化疗耐药性。如对多西他赛耐药的前列腺癌细胞株通过外泌体介导转移MDR-1,促使未对多西他赛耐药的结肠癌细胞株产生耐药性^[16],这一观点有待在动物模型中作进一步验证。

外泌体对肿瘤细胞的凋亡具有一定的调节作用。TGF- β 1是前列腺癌细胞与间皮瘤细胞来源外泌体中的一种蛋白质,被活化后转移到受体细胞中^[17]。有关体外实验已证明,TGF- β 1可以刺激成纤维细胞分化成肌成纤维细胞^[17],肌成纤维蛋白是肿瘤微环境中结构蛋白的重要来源,它能够分泌VEGF、bFGF、血小板来源生长因子等一系列促凋亡生长因子,促进肿瘤细胞的凋亡^[18]。

外泌体具有促进转移前肿瘤微环境形成的功能。Jung等^[19]在一个大鼠胰腺癌模型中发现,体外实验中外泌体能够促进转移器官中细胞的增殖及诱导基因的表达,但体内实验中只有外泌体与可溶性基质共同存在时才能促进细胞增殖与基因表达。Grange等^[20]发现CD105⁺肾细胞瘤分泌的外泌体可以激活内皮细胞,使其在基底膜基质组建毛细胞管样结构,并且诱导化疗耐药性的产生;此外,这个实验还表明,通过上调MMP2、MMP9和VEGFR1,SCID小鼠分泌的CD105⁺外泌体有助于肿瘤在肺组织中构建转移微环境。另有研究发现小鼠黑色素瘤来源的外泌体可以提高肺内皮细胞的渗透性,促进肺转移;此外还发现,黑色素瘤来源的外泌体能够聚集骨转移来源的外泌体,形成转移微环境^[21]。

此外,外泌体可以介导肿瘤细胞与肿瘤相关间质之间的信号通路。Luga等^[22]发现,Tetraspanin Cd81阳性的成纤维细胞来源外泌体可以激活乳腺癌中Wnt信号途径,促进肿瘤细胞迁移。在乳腺癌小鼠模型中,也已证明外泌体诱导Wnt途径的激活,与肿瘤细胞活性、动力、侵袭性及肺转移均明确相关。

3 肿瘤细胞来源外泌体对免疫系统的调节作用

3.1 肿瘤来源外泌体通过抑制免疫系统促进肿瘤进展 肿瘤来源外泌体对免疫系统具有抑制作用。有研究表明,肿

瘤来源外泌体可以表达Fas配体,通过FAS/FASL通路使大量具有杀伤活性的T淋巴细胞(如CD8⁺T淋巴细胞)凋亡^[23];对于NK细胞,肿瘤来源外泌体也可以通过可溶性NKG2D受体配体使其杀伤活性大幅度下降^[24-25]。此外,肿瘤来源外泌体还可通过激活骨髓来源抑制性细胞或者调节T淋巴细胞扩增发挥免疫抑制作用。Chalmin等^[26]发现,不同肿瘤细胞株来源外泌体均可以通过其细胞膜上的HSP72激活TLR-2,进而诱导IL-6的产生,MDSCs中的Stat3在IL-6的诱导下发生磷酸化,活化MDSCs免疫抑制功能。以上结果表明,肿瘤细胞来源的外泌体能够在肿瘤微环境中发挥免疫抑制作用,促进肿瘤的进展。

3.2 肿瘤来源外泌体通过激活免疫系统阻止肿瘤进展 肿瘤来源外泌体对免疫系统也有促进作用。肿瘤来源外泌体携带有肿瘤相关抗原,共刺激分子和MHC组件,这些成分可以刺激免疫细胞,促进抗肿瘤免疫应答反应^[27-29]。有研究表明,外泌体可以将肿瘤细胞中的抗原转运给树突细胞,通过MHC-1分子诱导细胞毒性T淋巴细胞的抗肿瘤反应,抑制肿瘤生长^[30-31]。此外,胰腺癌来源外泌体与肝细胞癌来源外泌体内均含有热休克蛋白70,它可以直接激活NK细胞,通过颗粒酶B和穿孔素在肿瘤中发挥促凋亡作用^[32-33]。黑色素瘤外泌体来源热休克蛋白70能够激活小鼠NK细胞,使肿瘤体积减小,转移率也相应降低^[34]。

因此肿瘤相关分子谱使肿瘤来源外泌体具有免疫抑制或者免疫刺激的双重作用,而具体是哪一种作用,可能取决于肿瘤细胞的微环境。

4 外泌体在肿瘤临床诊断及治疗中的作用

4.1 外泌体在肿瘤诊断中的作用 外泌体中含有很多来源于分泌细胞的特征性蛋白质和核酸分子,可为肿瘤的临床诊断提供有价值的信息。外泌体具有分布广的特点,在神经胶质瘤、乳腺癌、肺癌、卵巢癌、前列腺癌、结直肠癌、胃癌等多种不同类型肿瘤患者的血液、唾液、尿液等循环体液中均发现了外泌体的存在^[35-36];与传统的组织活检方法相比,检测外泌体内容物具有取材容易的巨大优势,方便医务工作者重复取材,也可减轻患者心理和生理上的痛苦;外泌体还具有易保存的特点,可以在4℃下保存96 h,也可以在-70℃条件下长期保存^[37];另外,外泌体的双层膜结构对其内容物具有保护和富集作用,能够有效地避免相关酶类对其中蛋白质和核酸的降解,并且提高检测的敏感性。这些特点提示我们可以利用循环体液中的外泌体进行生物标记物筛选,以预测肿瘤的早期分期,指导肿瘤的个体化治疗。例如,EGFRv III突变型是恶性胶质瘤的一个临床亚型,对这种突变型的检测将对病人治疗方案的选择起到决定性的作用^[38-39]。Skog等^[38]研究证实,当恶性胶质瘤细胞表达EGFRv III突变型时,循环血中的外泌体同样显示EGFRv III突变型阳性。在结肠癌^[40]、卵巢癌^[37]、恶性黑色素瘤^[21]中,研究者也证实外泌体中的内容物有可能成为具有临床应用价值的肿瘤标记物。Lazar等^[41]对不同恶性程度黑色素瘤细胞系分泌的外泌体进行分析,发现外泌体中与细胞运动,血管生成及免疫应答相关蛋白的含量与细胞

恶性程度呈正相关。Taylor和Gercel-Taylor^[37]的研究也表明卵巢癌患者外周血中的外泌体具有特征性的miRNA表达谱,可能成为有价值的生物标记物用于卵巢癌的早期筛查。Cazzoli等^[42]在对肺癌的研究中发现,在循环外周血中,外泌体中的miR-378与miR-200b-5p可能会成为临床上具有应用价值的生物标记物。这些研究均说明,肿瘤细胞来源外泌体中的蛋白和核酸分子将有可能成为非侵入性检测手段的生物标记物用于肿瘤的早期诊断及预后评估。

4.2 外泌体在肿瘤治疗中的作用 肿瘤细胞来源外泌体具有调节肿瘤局部及系统微环境的作用,能够促进肿瘤的进展与转移。因此,减少肿瘤细胞中外泌体的分泌是目前肿瘤治疗的一个潜在方案。细胞内Ca²⁺浓度由H⁺/Na⁺与Na⁺/Ca²⁺通道调节,细胞内Ca²⁺浓度升高会触发外泌体的分泌,因此可以通过调节H⁺/Na⁺与Na⁺/Ca²⁺通道调控外泌体的分泌^[43]。临床前研究已表明,使用二甲基阿米洛利阻断荷瘤小鼠的H⁺/Na⁺与Na⁺/Ca²⁺通道时,肿瘤细胞外泌体的分泌量相应减少,肿瘤生长速度减慢^[26]。神经磷脂酶2能够调节神经酰胺的生物合成,进而触发外泌体的出芽^[44],因此神经磷脂酶2抑制剂GW4869能够有效地抑制外泌体的分泌^[45]。Fabbri等^[46]发现当用GW4869治疗肺癌小鼠时,转移率明显下降。

此外,外泌体也可以作为一种治疗工具,用于肿瘤治疗。黑色素瘤来源外泌体能够将Mart1肿瘤抗原呈递给树突细胞,激活T淋巴细胞^[4-48]。Andre等^[48]在体外实验中将病人腹水中肿瘤来源外泌体与自身已被激活的树突细胞加入病人外周血,发现大部分患者外周血中抗肿瘤特异性淋巴细胞出现扩增现象。基于以上研究,Andre等认为可以用肿瘤来源外泌体作为肿瘤的特异性抗原,刺激患者外周血中的淋巴细胞扩增,提高免疫力,达到抗肿瘤的作用。

5 结语

综上所述,肿瘤来源外泌体通过影响机体免疫系统和肿瘤微环境参与肿瘤的发生发展过程,并且很可能在肿瘤的诊断和治疗过程中发挥作用。然而,外泌体的作用受到抗体各个方面的严格调控,很可能在不同组织,甚至疾病的不同阶段都不尽相同。因此,关于外泌体在肿瘤中的作用机制及其临床诊疗中的应用还有待进一步探索。

参考文献

- Sund M, Kalluri R. Tumor stroma derived biomarkers in cancer [J]. *Cancer Metastasis Rev*, 2009, 28 (1/2): 177-183.
- Bobrie A, Krumeich S, Reyat F, et al. Rab27a supports exosome-dependent and -independent mechanisms that modify the tumor microenvironment and can promote tumor progression [J]. *Cancer Res*, 2012, 72 (19): 4920-4930.
- 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.
- Balaj L, Lessard R, Dai LX, et al. Tumour microvesicles contain retrotransposon elements and amplified oncogene sequences [J]. *Nat Commun*, 2011, 2: 180.
- 张素洁, 胡毅, 马俊勋. 长链非编码RNA检测在肿瘤诊断及预后评估中的应用综述 [J]. *解放军医学院学报*, 2016, 37 (8): 912-915.
- 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.
- Parolini I, Federici C, Raggi C, et al. Microenvironmental pH is a key factor for exosome traffic in tumor cells [J]. *J Biol Chem*, 2009, 284 (49): 34211-34222.
- Lamparski HG, Metha-Damani A, Yao JY, et al. Production and characterization of clinical grade exosomes derived from dendritic cells [J]. *J Immunol Methods*, 2002, 270 (2): 211-226.
- Kahlert C, Kalluri R. Exosomes in tumor microenvironment influence cancer progression and metastasis [J]. *J Mol Med (Berl)*, 2013, 91 (4): 431-437.
- Park E, Tan S, Datta A, et al. Hypoxic tumor cell modulates its microenvironment to enhance angiogenic and metastatic potential by secretion of proteins and exosomes [J]. *Mol Cell Proteomics*, 2010, 9 (6): 1085-1099.
- Yu X, Harris L, Levine J. The regulation of exosome secretion: a novel function of the p53 protein [J]. *Cancer Res*, 2006, 66 (9): 4795-4801.
- Atai A, Balaj L, Van Veen H, et al. Heparin blocks transfer of extracellular vesicles between donor and recipient cells [J]. *J Neurooncol*, 2013, 115 (3): 343-351.
- Kimura T, Niki I. Rab27a, actin and beta-cell endocytosis [J]. *Endocr J*, 2011, 58 (1): 1-6.
- 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.
- Demory Beckler M, Higginbotham N, Franklin L, et al. Proteomic analysis of exosomes from mutant KRAS colon cancer cells identifies intercellular transfer of mutant KRAS [J]. *Mol Cell Proteomics*, 2013, 12 (2): 343-355.
- Corcoran C, Rani S, O'Brien K, et al. Docetaxel-resistance in prostate cancer: evaluating associated phenotypic changes and potential for resistance transfer via exosomes [J]. *PLoS One*, 2012, 7 (12): e50999.
- Webber J, Steadman R, Mason MD, et al. Cancer exosomes trigger fibroblast to myofibroblast differentiation [J]. *Cancer Res*, 2010, 70 (23): 9621-9630.
- Vong S, Kalluri R. The role of stromal myofibroblast and extracellular matrix in tumor angiogenesis [J]. *Genes Cancer*, 2011, 2 (12): 1139-1145.
- Jung T, Castellana D, Klingbeil P, et al. CD44v6 dependence of premetastatic niche preparation by exosomes [J]. *Neoplasia*, 2009, 11 (10): 1093-1105.
- Grange C, Tapparo M, Collino F, et al. Microvesicles released from human renal cancer stem cells stimulate angiogenesis and formation of lung premetastatic niche [J]. *Cancer Res*, 2011, 71 (15): 5346-5356.
- Peinado H, Alečković M, Lavotshkin S, et al. Melanoma exosomes educate bone marrow progenitor cells toward a pro-metastatic phenotype through Met [J]. *Nat Med*, 2012, 18 (6): 883-891.
- Luga V, Zhang L, Vitoria-Petit AM, et al. Exosomes mediate stromal mobilization of autocrine Wnt-PCP signaling in breast cancer cell migration [J]. *Cell*, 2012, 151 (7): 1542-1556.
- Andreola G, Rivoltini L, Castelli C, et al. Induction of lymphocyte apoptosis by tumor cell secretion of FasL-bearing microvesicles [J]. *J Exp Med*, 2002, 195 (10): 1303-1316.
- Lundholm M, Schröder M, Nagaeva O, et al. Prostate tumor-derived exosomes down-regulate NKG2D expression on natural killer cells and CD8+ T cells: mechanism of immune evasion [J]. *PLoS One*, 2014, 9 (9): e108925.
- Clayton A, Mitchell P, Court J, et al. Human tumor-derived exosomes down-modulate NKG2D expression [J]. *J Immunol*,

- 2008, 180 (11): 7249–7258.
- 26 Chalmin F, Ladoire S, Mignot G, et al. Membrane-associated Hsp72 from tumor-derived exosomes mediates STAT3-dependent immunosuppressive function of mouse and human myeloid-derived suppressor cells [J]. *J Clin Invest*, 2010, 120 (2): 457–471.
- 27 Bobrie A, Théry C. Exosomes and communication between tumours and the immune system : are all exosomes equal? [J]. *Biochem Soc Trans*, 2013, 41 (1): 263–267.
- 28 Whiteside TL. Immune modulation of T-cell and NK (natural killer) cell activities by TEXs (tumour-derived exosomes) [J]. *Biochem Soc Trans*, 2013, 41 (1): 245–251.
- 29 Gabriëlsson S, Scheynius A. Exosomes in immunity and cancer—Friends or foes? [J]. *Semin Cancer Biol*, 2014, 28 : 1–2.
- 30 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.
- 31 Zeelenberg S, Ostrowski M, Krumeich S, et al. Targeting tumor antigens to secreted membrane vesicles in vivo induces efficient antitumor immune responses [J]. *Cancer Res*, 2008, 68 (4): 1228–1235.
- 32 Gastpar R, Gehrman M, Bausero A, et al. Heat shock protein 70 surface-positive tumor exosomes stimulate migratory and cytolytic activity of natural killer cells [J]. *Cancer Res*, 2005, 65 (12): 5238–5247.
- 33 Lv H, Wan L, Lin Y, et al. Anticancer drugs cause release of exosomes with heat shock proteins from human hepatocellular carcinoma cells that elicit effective natural killer cell antitumor responses in vitro [J]. *J Biol Chem*, 2012, 287 (19): 15874–15885.
- 34 Elsner L, Muppala V, Gehrman M, et al. The heat shock protein HSP70 promotes mouse NK cell activity against tumors that Express inducible NKG2D ligands [J]. *J Immunol*, 2007, 179 (8): 5523–5533.
- 35 Van Doormaal F, Kleinjan A, Di Nisio M, et al. Cell-derived microvesicles and cancer [J]. *Neth J Med*, 2009, 67 (7): 266–273.
- 36 Chevillet R, Kang Q, Ruf K, et al. Quantitative and stoichiometric analysis of the microRNA content of exosomes [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2014, 111 (41): 14888–14893.
- 37 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.
- 38 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.
- 39 Mellingshoff K, Wang Y, Vivanco I, et al. Molecular determinants of the response of glioblastomas to EGFR kinase inhibitors [J]. *N Engl J Med*, 2005, 353 (19): 2012–2024.
- 40 Silva J, Garcia V, Rodriguez M, et al. Analysis of exosome release and its prognostic value in human colorectal cancer [J]. *Genes Chromosomes Cancer*, 2012, 51 (4): 409–418.
- 41 Lazar I, Clement E, Ducoux-Petit M, et al. Proteome characterization of melanoma exosomes reveals a specific signature for metastatic cell lines [J]. *Pigment Cell Melanoma Res*, 2015, 28 (4): 464–475.
- 42 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.
- 43 Savina A, Furlán M, Vidal M, et al. Exosome release is regulated by a calcium-dependent mechanism in K562 cells [J]. *J Biol Chem*, 2003, 278 (22): 20083–20090.
- 44 Trajkovic K, Hsu C, Chiantia S, et al. Ceramide triggers budding of exosome vesicles into multivesicular endosomes [J]. *Science*, 2008, 319 (5867): 1244–1247.
- 45 Kosaka N, Iguchi H, Yoshioka Y, et al. Secretory mechanisms and intercellular transfer of microRNAs in living cells [J]. *J Biol Chem*, 2010, 285 (23): 17442–17452.
- 46 Fabbri M, Paone A, Calore F, et al. MicroRNAs bind to Toll-like receptors to induce prometastatic inflammatory response [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2012, 109 (31): E2110–E2116.
- 47 Mears R, Craven A, Hanrahan S, et al. Proteomic analysis of melanoma-derived exosomes by two-dimensional polyacrylamide gel electrophoresis and mass spectrometry [J]. *Proteomics*, 2004, 4(12): 4019–4031.
- 48 Andre F, Scharz E, Movassagh M, et al. Malignant effusions and immunogenic tumour-derived exosomes [J]. *Lancet*, 2002, 360 (9329): 295–305.