

•综述•

## 外泌体在免疫调控及肿瘤发生中的功能

李孟娇<sup>1) 2)</sup>, 王浩<sup>1) 2)\*</sup>, 李庆伟<sup>1) 2)\*</sup>

(<sup>1)</sup> 辽宁师范大学生命科学学院, 辽宁大连 116081; (<sup>2)</sup> 辽宁师范大学七鳃鳗研究中心, 辽宁大连 116081)

**摘要** 已知细胞间的信息交流不仅可以通过直接接触,或释放信号分子等方式,同时还存在另一种细胞通讯方式即释放外泌体。外泌体是由细胞分泌,直径为30~100 nm的囊泡结构。外泌体含有蛋白质、脂质、mRNAs和miRNAs等成分,并且能够靶向运输到其他细胞或组织中,从而在细胞间的信息交流、物质传递方面发挥重要作用。本文对外泌体的基本特征、形成过程、功能以及在疾病诊断与治疗中的应用等方面进行简要综述,重点介绍外泌体在免疫调控和肿瘤发生方面的功能。外泌体作为一种广泛存在的亚细胞成分,虽然体积小,组成成分简单,然而,其复杂功能具有重要的研究价值。对外泌体功能的深入了解将为肿瘤等疾病的预防和治疗提供更多的诊断标志物、疫苗以及治疗思路与手段。

**关键词** 外泌体; 细胞间通讯; 免疫调控; 肿瘤; 临床应用

**中图分类号** Q734; Q25; R392; R73

## Emerging Role of Exosomes in Immune Regulation and Cancer

LI Meng-Jiao<sup>1) 2)</sup>, WANG Hao<sup>1) 2)\*</sup>, LI Qing-Wei<sup>1) 2)\*</sup>

(<sup>1)</sup> School of Life Sciences, Liaoning Normal University, Dalian 116081, Liaoning, China;

(<sup>2)</sup> Lamprey Research Center, Liaoning Normal University, Dalian 116081, Liaoning, China)

**Abstract** It is generally known that cell-cell communication can be obtained by direct contact between cells or release of signal molecules. Recently, mounting evidence indicated that exosomes act as another mode of intercellular communication. Exosomes are small (30~100 nm in diameter) membrane vesicles of endocytic origin secreted by almost all cell types. The exosomes contain proteins, lipids, mRNAs and miRNAs, and can be targeted to other cells or tissues, so as to play important roles in mediating communication between different cells and tissues. The features, origin, functions and potential clinical applications of exosomes are summarized briefly in this review, and we focus on how exosomes participate in immune regulation and tumor pathology. As ubiquitous subcellular components, exosomes with small volume and less complex content are involved in numerous physiological and pathological processes. In this expanding field many key questions remain to be investigated. The new findings on exosomes have important implications for the development of novel biomarkers, vaccines, therapeutic strategies and approaches aimed at the treatment of serious diseases such as cancer.

**Key words** exosomes; intercellular communication; immune regulation; cancer; clinical application

细胞与细胞之间不仅通过直接接触的方式传递信号分子进行交流(例如淋巴细胞与抗原呈递细胞之间形成免疫突触),而且彼此相距较远的细胞之间能以非接触的方式,即通过释放信号分子(例如激素、细胞因子等)进行有效的通讯。此外,近年大量的证据表明,存在另一种形式的细胞通讯方式,即通过释放细胞外囊泡(extracellular vesicles, EVs),尤其是外泌体进行信息传递。外泌体又称胞外体(exosomes),是直径为30~100 nm的囊泡样结构,

收稿日期: 2015-09-17; 接受日期: 2015-11-16

国家重点基础研究发展计划(973计划, No. 2013CB835304)与辽宁师范大学青年科研项目(No. LS2014L011)资助

\* 联系人 Tel: 0411-85827065, 0411-85827799; E-mail: haow\_6@hotmail.com, liqw@263.com

Received: September 17, 2015; Accepted: November 16, 2015

Supported by National Basic Research Program of China (973 Program, No. 2013CB835304) and Program for Youth Foundation of Liaoning Normal University (No. LS2014L011)

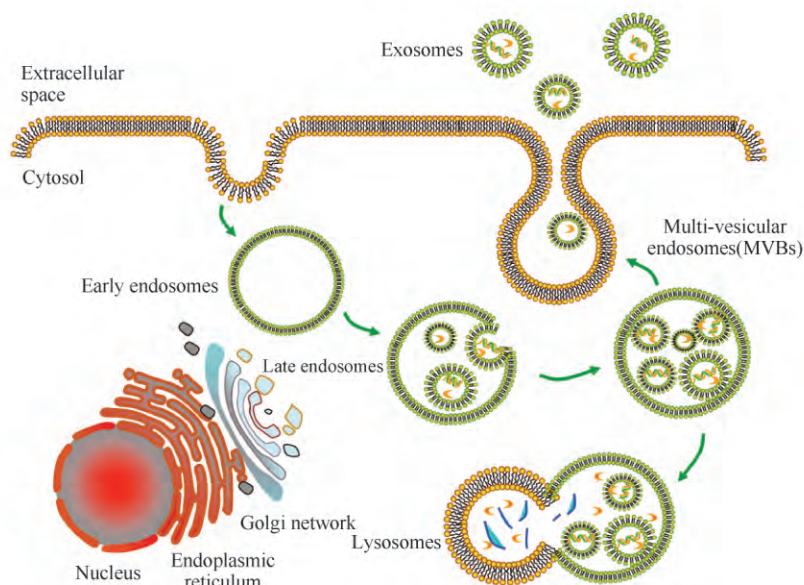
\* Corresponding author Tel: 0411-85827065, 0411-85827799; E-mail: haow\_6@hotmail.com, liqw@263.com

在细胞通讯方面发挥重要作用<sup>[1]</sup>。外泌体的分泌具有高度保守性。目前发现,所有真核细胞及众多原核细胞均能释放外泌体,例如血小板、网织红细胞、树突状细胞、淋巴细胞、肥大细胞、肠上皮细胞、脂肪细胞、肝细胞和肿瘤细胞等<sup>[2]</sup>。此外,正常以及病理状态下的血液、尿液、唾液、乳汁、羊水、脑脊液、支气管灌洗液中也能分离到外泌体<sup>[3]</sup>。例如,Lässer 等<sup>[4]</sup>成功从唾液、血液和乳汁中分离获得外泌体,同时证明了外泌体中 RNA 的存在,并且这些外泌体 RNA 几乎不含有核糖体 RNA,其与胞内 RNA 存在明显的差异。

## 1 外泌体的形成过程

外泌体是众多胞外囊泡的一种,与其它囊泡相比,它的形成过程相对复杂。首先,在胞外环境刺激下,细胞发生内吞,其细胞膜向内凹陷出芽形成一个封闭的囊泡,称为早期胞内体(early endosomes),随后早期胞内体逐渐成熟为晚期胞内体(late

endosomes)。在此过程中,其膜再次向内出芽并脱落,形成一系列内囊泡(intraluminal vesicles, ILVs),将细胞质基质中相应的蛋白质与核酸选择性包裹其中。这种含有许多囊泡的胞内体称为多囊泡胞内体(multi-vesicular endosomes, MVBs)。MVBs 有两种去向,一部分通过与溶酶体融合,其内含物被溶酶体中的酸性水解酶降解;另一部分则在相应刺激下与细胞膜融合,从而将内部囊泡释放到细胞外。这种从 MVBs 释放到细胞外的膜性小囊泡即称为外泌体<sup>[3]</sup>(Fig. 1)。已发现一系列信号通路调控外泌体的生物发生过程,如 Mazzeo 等<sup>[5]</sup>证实,PKD1/2 通路在 MVBs 的成熟和外泌体的释放过程中发挥关键作用,并且介导了二酰基甘油激酶  $\alpha$  (diacylglycerol kinase alpha, DGK- $\alpha$ ) 对 MVBs 分泌机制的调控。除了外泌体以外,还有一部分胞外囊泡是由细胞膜直接向外出芽形成,称为微泡(ectosomes 或 microvesicles),直径在 100 ~ 1 000 nm 之间,其结构组成和功能与外泌体存在本质的差异<sup>[6]</sup>。



**Fig. 1 Biogenesis of exosomes** Upon extracellular stimuli, early endosomes are generated by the inward budding of cell surface. Then early endosomes mature into late endosomes, and during this process, intraluminal vesicles are formed by the inward budding of endosomal membrane. The resulting endosomes are termed multi-vesicular endosomes (MVBs). MVBs can follow two fates. Some MVBs fuse with lysosomes which contain acidic hydrolases, releasing their cargoes into the lysosomal lumen for degradation. Other MVBs fuse with the plasma membrane, which results in the release of intraluminal vesicles as exosomes

在外泌体形成过程中,一系列组织或细胞特异性的蛋白质、脂质和核酸(主要是 RNAs 以及 microRNAs) 会被分选进入外泌体。大量蛋白质组学研究表明,外泌体的蛋白质组分为 2 类:一类是所有外泌体中普遍存在的蛋白质,维持外泌体的结构

和最基本的功能,例如细胞骨架蛋白、膜转运和融合蛋白、蛋白激酶、热休克蛋白、四次跨膜蛋白超家族如 CD9、CD63 等。另一类蛋白质则与细胞来源有关,具有相应的特异性,执行特定的功能,例如树突状细胞来源的外泌体表面含有主要组织相容性复合体

(major histocompatibility complex, MHC)——抗原呈递分子(包括 MHC I 型和 II 型分子)<sup>[7]</sup>。又如糖蛋白 prominin-1/CD133 是黑色素瘤细胞来源的外泌体上的特异性蛋白质,这种含有 prominin-1 的外泌体能够影响黑色素瘤细胞的转移能力<sup>[8]</sup>。

## 2 外泌体-细胞间通讯的中介

外泌体最早发现于 1985 年, Pan 等<sup>[9]</sup>在绵羊网织红细胞发育过程中发现了外泌体,其功能是将细胞内不需要的物质,例如转铁蛋白等分泌到细胞外,因此,这种类似垃圾站的功能并未引起人们关注。直到 1996 年, Raposo 等<sup>[10]</sup>发现, B 淋巴细胞被 EB (epstein-barr virus, EBV) 病毒转化后,其所分泌的外泌体携带 MHC II、共刺激分子和粘附分子等,这种囊泡能直接刺激 CD4<sup>+</sup> T 细胞的增殖。自此,人们对外泌体的研究逐渐进入了新时期。近年的研究表明,外泌体还发挥介导细胞之间通讯的重要作用,即外泌体靶向运输到距离较远的组织或细胞后,通过外泌体表面的蛋白质分子结合于靶细胞受体,从而触发信号转导,或释放出酶或 microRNA 等内容物到靶细胞中,最终影响靶细胞的生理功能<sup>[3]</sup>。目前,国内外对于外泌体功能研究主要集中在两个方面:外泌体的免疫调控功能和外泌体在肿瘤致病中的功能。

### 2.1 外泌体的免疫调控功能

近年,随着对外泌体研究的深入,关于来自免疫与非免疫细胞的外泌体能够有效激活或抑制免疫应答、促进炎症反应、参与自体免疫性疾病和感染性疾病的发生等功能获得了广泛的研究<sup>[11,12]</sup>。外泌体在免疫细胞通讯中的一个重要功能是参与抗原呈递,主要包括两种方式:直接呈递和间接呈递。树突细胞(dendritic cells, DCs)作为机体功能最强的专职抗原呈递细胞(antigen presenting cells, APCs),首先捕获携带了病原体或肿瘤抗原的外泌体。一方面,这些外泌体被树突细胞吸附在表面,其携带的病原体或肿瘤表面抗原在共刺激分子的共同作用下,直接引起 CD4<sup>+</sup> T 细胞的免疫应答。另一方面,树突细胞通过内吞作用将携带抗原的外泌体内化到细胞内,并将外泌体所携带的抗原转移到树突细胞自身的 MHC 复合体上。随后,装载了抗原的 MHC 复合体再转移到树突细胞表面,与共刺激因子共同作用,从而间接引起免疫应答。孙静等<sup>[13]</sup>证明,淋巴瘤释放的外泌体负载有重要的免疫分子热休克蛋白 70(heat shock protein 70, HSP70)和细胞间黏附分

子-1(intercellular cell adhesion molecule-1, ICAM-1),同时它可以在体外靶向结合树突状细胞,诱导抗原特异性的抗淋巴瘤效应。黄邵宏等<sup>[14]</sup>研究表明,肿瘤细胞来源的外泌体携带有表皮生长因子受体(epithelial growth factor receptor, EGFR)。EGFR 阳性的外泌体能够激活树突状细胞,进而诱导辅助 T 细胞的生成,在机体抗肿瘤免疫中发挥重要作用。

除此之外,树突细胞也会释放外泌体,在其表面展示加工过的抗原多肽-MHC 复合物,并将该复合物直接呈递给 T 细胞,借以调控抗原特异性反应<sup>[12]</sup>。而来源于肿瘤细胞系或肿瘤患者腹水中的外泌体,其含有肿瘤抗原成分(例如肿瘤细胞中的跨膜蛋白 EGFR2 或其内体蛋白 MART1 等),能在体外被树突状细胞摄取用于抗原加工与呈递,从而激活抗原特异性的 T 细胞,促进细胞毒性反应<sup>[15]</sup>。1998 年, Zitvogel 等<sup>[16]</sup>首次证明,用肿瘤细胞来源的多肽处理人树突状细胞后,将这些细胞释放的外泌体注射荷瘤小鼠,能够促使小鼠产生肿瘤特异性的毒性 T 细胞反应,从而通过 T 细胞依赖的途径抑制肿瘤的生长。Hao 等<sup>[17]</sup>研究发现,由抗原呈递细胞分泌的外泌体,富集 MHC I/II 类分子、协同刺激分子、热休克蛋白 70(HSP70)和热休克蛋白 90(HSP90)等多种生物活性分子于一身,如同“特洛伊木马”在动物模型中能够发挥有效的免疫激活作用和抗肿瘤免疫活性。与肿瘤细胞裂解物或可溶性抗原作为疫苗相比,由外泌体介导产生的免疫反应具有更高的免疫原性<sup>[18]</sup>。因此,外泌体作为一种潜力巨大的肿瘤疫苗,获得了广泛的关注。

除了树突状细胞,其它免疫细胞释放的外泌体也发挥了重要的免疫调控功能。Lugini 等<sup>[19]</sup>发现, NK 细胞释放的外泌体包含 NK 细胞的标记物 CD56,细胞毒性因子 FASL(fas ligand)和穿孔素(perforin)等,以及抑制肿瘤发生的分子 NKG2D(NK group 2 member D)<sup>[20]</sup>,能够在体外对多种肿瘤细胞系发挥杀伤效应,表明 NK 细胞来源的外泌体在抗肿瘤免疫监视过程中发挥重要作用。T 细胞分泌的外泌体在协调免疫反应过程中,同样发挥了重要作用。de Carvalho 等<sup>[21]</sup>研究发现, T 细胞来源的外泌体携带 CD4 分子, CD4 作为人类免疫缺陷病毒(human immunodeficiency virus, HIV)的识别受体,当表达于外泌体表面时,能够有效中和与削弱 HIV 病毒的感染能力。有趣的是, HIV 病毒中的 Nef 蛋白能够显著减少受感染 T 细胞释放的外泌体中 CD4 分子的表达水平。此外,在用 CD3 抗体和白细胞介

素-2( interleukin-2 ,IL-2) 激活外周 CD3 阳性 T 细胞后 释放的外泌体能够促进 CD8 阳性 T 细胞增殖并分泌细胞因子<sup>[22]</sup>。除了 T 淋巴细胞,在 Ig M 特异性抗体和 CD40 信号的刺激下或与 CD4 阳性 T 细胞互动后,激活的 B 细胞也能释放外泌体。这些外泌体表面携带多肽-MHC II 型分子复合物,能够进一步激活滤泡辅助性 T 细胞<sup>[23]</sup>。伯基特氏淋巴瘤细胞系和被 EB 病毒感染的 B 细胞来源的外泌体携带 LMP1 蛋白( latent membrane protein 1),LMP1 能够模拟 CD40 信号诱导 B 细胞的增殖分化。研究发现 这些外泌体能够有效被正常 B 细胞摄取,并通过 LMP1 促进后者增殖并分化为浆细胞<sup>[24]</sup>。此外,感染胞内病原体,如结核杆菌的巨噬细胞所释放的外泌体,能够诱导其它未感染的巨噬细胞分泌促炎细胞因子<sup>[25]</sup>。巨噬细胞和树突状细胞所释放的外泌体内含有白介素 1 $\beta$ ( IL-1 $\beta$ )<sup>[26-28]</sup>,而其外泌体膜上具有肿瘤坏死因子超家族( tumor necrosis factors , TNF superfamily) 成员如 FASL、TNF 相关凋亡诱导配体( TRAIL/TNFSF10) 和 CD40 配体( CD40L/CD154) 等免疫调节分子<sup>[29-31]</sup>。外泌体能够增加其在细胞外环境中的局部浓度,防止其被蛋白酶降解,从而有效增强了这些免疫调节分子的生物学活性。

外泌体除了能够在免疫细胞之间呈递蛋白质抗原与信号分子以外,还能以 RNA 的形式在细胞之间传递遗传信息。众所周知,编码序列仅占人类基因组 2% 的 miRNAs 调控着多达 60% 基因的表达,在生理病理过程中发挥重要作用。目前认为,miRNAs 除了在细胞内执行功能,还可以由细胞分泌后被其他细胞所摄取,调控靶细胞的基因表达。而 miRNAs 在细胞间传递的载体正是外泌体<sup>[32]</sup>,从而避免 miRNAs 在传递过程中被降解,促进其有效地被靶细胞摄取。例如,树突状细胞释放的外泌体中含有 miRNAs,如 miR-148a 和 miR-451,当外泌体被其它树突细胞摄取后,使特定的转录后调控在抗原呈递细胞之间能够平行传播开来<sup>[33]</sup>。又如,感染 EB 病毒的 B 细胞,能够将病毒 miRNA 包裹入释放的外泌体中,当被树突状细胞摄取后,能够沉默免疫激活分子 CXCL11( Chemokine C-X-C motif ligand 11) 的表达<sup>[34]</sup>。

## 2.2 外泌体在肿瘤病理发生中的作用

肿瘤是危害人类健康的第一大杀手,肿瘤细胞间通过物质信息交流传递,促进其自身的生长和转移。而外泌体在肿瘤细胞之间以及肿瘤细胞与其他细胞之间的物质信息的交流过程中扮演重要角色,

其功能的复杂程度不容忽视。

一方面,肿瘤细胞的生存和转移需调节肿瘤微环境来逃避免疫系统的监控,而肿瘤细胞所分泌的外泌体,则是使肿瘤细胞适应微环境并得以生存的重要手段<sup>[35]</sup>。有研究报导,来源于肿瘤细胞的外泌体能够携带 TRAIL、galectin 9 或 FASL 分子<sup>[36-38]</sup>,从而诱导 CD8 阳性 T 细胞的凋亡,还能够以依赖 TGF $\beta$ 1( transforming growth factor  $\beta$ 1) 的机制来抑制树突细胞和巨噬细胞的成熟<sup>[39]</sup>,导致肿瘤的免疫逃逸。除此之外,肿瘤细胞所分泌的外泌体,还通过调节相关分子的表达等途径促进肿瘤细胞的存活与免疫逃逸。Yang 等证明<sup>[40]</sup>,膀胱癌细胞来源的外泌体,能够通过激活 Akt 和 ERK 信号通路的方式抑制肿瘤细胞凋亡。此外,肿瘤来源的外泌体能够抑制 T 细胞中 CD3 分子  $\zeta$  链的表达,并削弱 NK 细胞与 CD8 阳性 T 细胞依赖于 NKG2D 的细胞毒性<sup>[41]</sup>。

另一方面,某些肿瘤细胞系能将作用到肿瘤细胞上的抗肿瘤药物通过外泌体的方式分泌到细胞外,从而减少药物对肿瘤的杀伤作用。研究表明,卵巢癌细胞能够通过分泌外泌体来降低其溶酶体中所积累的抗肿瘤药物,从而增强卵巢癌细胞的耐药性<sup>[42]</sup>。同样,黑色素瘤也具有类似的现象<sup>[43]</sup>。因此,如何有效地抑制甚至是阻止这种带药外泌体的分泌,就成为了治疗肿瘤的新的研究方向。

肿瘤细胞来源的外泌体除了能够抑制免疫应答,逃避免疫监视和提高抗药性以利于肿瘤的生存之外,还能够促进非转移型肿瘤细胞的侵袭和转移。Singh 等<sup>[44]</sup>发现,与非转移型乳腺癌细胞和非恶性乳腺细胞相比,在转移型乳腺癌细胞( MDA-MB-231) 中,miR-10b 的表达量更高,并且以外泌体的形式分泌到细胞外。这类外泌体被非恶性的 HLME 细胞摄取后,导致后者产生转移的能力。为了进一步确认外泌体与癌细胞转移之间的关系,Wang 等<sup>[45]</sup>通过裸鼠直肠癌肝转移模型发现,来源于高转移性直肠癌细胞系( HT-29) 的外泌体,能增强 Caco-2 直肠癌细胞系的转移能力。并且进一步发现,外泌体是通过募集 CXCR4( Chemokine C-X-C motif ligand 4) 来形成有利于肿瘤细胞转移的微环境。同年,Harris 等<sup>[46]</sup>也分别对 3 种乳腺癌细胞系转移的不同阶段释放的外泌体的功能进行了研究。结果表明,具有转移潜能的乳腺癌细胞分泌的外泌体带有独特的标记物,有利于增强细胞的运动。对胰腺癌细胞的研究<sup>[47]</sup>也发现,其释放的外泌体能够使肝中形成有利于肿瘤生长的预转移微环境( pre-

metastatic niche) ,从而促进胰腺癌的肝转移,表明外泌体在肿瘤细胞转移方面发挥重要作用。然而,上述实验均在体外进行,致使人们对外泌体在体内的真实生理功能存在质疑。最近,Zomer等<sup>[48]</sup>通过Cre-Loxp报告系统,在活体小鼠中观察到外泌体在肿瘤细胞之间的转移。同时发现,在体内恶性程度较高的肿瘤细胞,通过释放包含细胞迁移相关基因mRNAs的外泌体,促进其他恶性程度较低肿瘤细胞的恶化和转移。

### 3 外泌体在肿瘤等疾病诊断与治疗中的应用

外泌体中含有丰富的miRNAs,而不同来源的外泌体所含miRNAs的种类存在较大差异。因此,对外泌体中内含物的分析和检测,已经成为一种新的癌症临床诊断方法。Mitchell等<sup>[49]</sup>研究发现,存在于血液中的外泌体所包含的miR-141是前列腺癌诊断的重要标志物,并且这种RNA不受内源性RNase活性的影响。目前,临床对肝病的诊断和预后监测,利用外泌体中特定miRNA的检测扮演了重要的角色,例如通过观察血清中的外泌体miR-122和miR-155表达水平的高低,借以鉴定肝细胞的炎症反应和损伤程度<sup>[50]</sup>。Melo等<sup>[51]</sup>近期发现,胰腺癌患者血清中的外泌体携带蛋白聚糖glypican-1(GPC1),其可作为早期胰腺癌的一种高度敏感和特异的诊断标志。

外泌体包含有多种蛋白质和遗传物质,并且能够自由穿行于多种细胞之间,具有靶向性。基于以上特点,利用外泌体研究药物靶向治疗具有良好的前景<sup>[52]</sup>。树突细胞来源的外泌体(Dex)已被临床开发作为抗肿瘤疫苗。Morse等<sup>[53]</sup>将非小细胞肺癌(NSCLC)患者自体分离的外泌体进行MAGE肿瘤抗原标记,并将携带有肿瘤抗原的外泌体注射到患者体内,通过长期临床试验,证明携带有MAGE肿瘤抗原的Dex对于非小细胞肺癌的治疗具有良好的安全性和可行性。Escudier等<sup>[54]</sup>也通过临床试验证明,Dex在黑色素瘤的治疗中具有安全耐受的疗效。

### 4 问题与展望

综上所述,外泌体作为一种广泛存在的亚细胞成分,虽然体积小、组成成分简单,然而,其复杂功能具有重要的研究价值。尽管不同细胞来源的外泌体在体内的生理作用还未完全阐明,但是目前可以肯

定,外泌体类似于病毒颗粒,将抗原片段、信号分子、酶、遗传物质等各种分子包装后运输至靶细胞,介导了细胞之间的通讯,通过向靶细胞传递抗原、遗传信息以及信号分子,调控后者的信号转导通路以及基因表达,从而激活或是抑制特定的生理功能,参与众多病理、生理过程。随着研究的深入,在体内水平上探索外泌体的生理功能,以及开发外泌体的临床应用已成为趋势。例如可能通过抑制肿瘤来源外泌体的释放与功能,从而降低肿瘤的恶性水平并恢复机体对肿瘤的免疫监视。对外泌体功能理解的深入将为疾病的预防和治疗提供更多的诊断标志物、疫苗以及治疗思路与手段。

致谢 在本文写作过程中,赵春晖副教授给予了有价值的意见与建议,在此予以致谢。

### 参考文献(References)

- [1] Vlassov A V, 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
- [2] Simons M, Raposo G. Exosomes—vesicular carriers for intercellular communication [J]. *Current Opin Cell Biol*, 2009, **21**(4): 575-581
- [3] Colombo M, Raposo G, Thery C. Biogenesis, secretion, and intercellular interactions of exosomes and other extracellular vesicles [J]. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 2014, **30**: 255-289
- [4] Lasser C, Alikhani V S, Ekstrom K, *et al.* Human saliva, plasma and breast milk exosomes contain RNA: uptake by macrophages [J]. *J Transl Med*, 2011, **9**(1): 1-8
- [5] Mazzeo C, Calvo V, Alonso R, *et al.* Protein kinase D1/2 is involved in the maturation of multivesicular bodies and secretion of exosomes in T and B lymphocytes [J]. *Cell Death Differ*, 2016, **23**(1): 99-109
- [6] Choi D S, Kim D K, Kim Y K, *et al.* Proteomics, transcriptomics and lipidomics of exosomes and ectosomes [J]. *Proteomics*, 2013, **13**(10-11): 1554-1571
- [7] Wubbolts R, Leckie R S, Veenhuizen P T, *et al.* Proteomic and biochemical analyses of human B cell-derived exosomes. Potential implications for their function and multivesicular body formation [J]. *J Biol Chem*, 2003, **278**(13): 10963-10972
- [8] Rappa G, Mercapide J, Anzanello F, *et al.* Wnt interaction and extracellular release of prominin-1/CD133 in human malignant melanoma cells [J]. *Exp Cell Res*, 2013, **319**(6): 810-819
- [9] Pan B T, Teng K, Wu C, *et al.* Electron microscopic evidence for externalization of the transferrin receptor in vesicular form in sheep reticulocytes [J]. *J Cell Biol*, 1985, **101**(3): 942-948
- [10] Raposo G, Nijman H W, Stoorvogel W, *et al.* B lymphocytes secrete antigen-presenting vesicles [J]. *J Exp Med*, 1996, **183**(3): 1161-1172

- [11] Hao S ,Moyana T ,Xiang J. Review: cancer immunotherapy by exosome-based vaccines [J]. *Cancer Biother Radiopharm* , 2007 ,**22**( 5) : 692-703
- [12] Robbins P D ,Morelli A E. Regulation of immune responses by extracellular vesicles [J]. *Nat Rev Immunol* , 2014 ,**14**( 3) : 195-208
- [13] 孙静 姚焯 陈琳军 等. 淋巴瘤细胞胞外体生物学特性及其抗淋巴瘤效应的研究 [J]. *实用医学杂志* ( Sun J , Yao Y , Chen L J , *et al.* Studies on biological properties and effects of anti-lymphoma of lymphoma cell-derived exosomes [J]. *J Pract Med* ) , 2012 ,**28**( 14) : 2302-2305
- [14] 黄邵洪 覃杰 李响 等. 含表皮生长因子受体的外泌体诱导肿瘤特异性调节 T 细胞 [J]. *中国药理学通报* ( Huang S H , Qin J , Li Y , *et al.* Epidermal growth factor receptor-containing exosomes induce tumor-specific regulatory T cells [J]. *Chin Pharmacol Bull* ) , 2014 ,**30**( 8) : 1090-1095
- [15] 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
- [16] Zitvogel L ,Regnault A ,Lozier A , *et al.* Eradication of established murine tumors using a novel cell-free vaccine: dendritic cell-derived exosomes [J]. *Nat Med* , 1998 ,**4**( 5) : 594-600
- [17] Hao S ,Bai O ,Li F , *et al.* Mature dendritic cells pulsed with exosomes stimulate efficient cytotoxic T-lymphocyte responses and antitumor immunity [J]. *Immunology* , 2007 ,**120**( 1) : 90-102
- [18] De Toro J ,Herschlik L ,Waldner C , *et al.* Emerging roles of exosomes in normal and pathological conditions: new insights for diagnosis and therapeutic applications [J]. *Front Immunol* , 2015 ,**6**: 203
- [19] Lugini L ,Cecchetti S ,Huber V , *et al.* Immune surveillance properties of human NK cell-derived exosomes [J]. *J Immunol* , 2012 ,**189**( 6) : 2833-2842
- [20] Guerra N ,Tan Y X ,Joncker N T , *et al.* NKG2D-deficient mice are defective in tumor surveillance in models of spontaneous malignancy [J]. *Immunity* , 2008 ,**28**( 4) : 571-580
- [21] de Carvalho J V , de Castro R O , da Silva E Z , *et al.* Nef neutralizes the ability of exosomes from CD4 + T cells to act as decoys during HIV-1 infection [J]. *PLoS One* , 2014 ,**9**( 11) : e113691
- [22] Wahlgren J ,Karlson T de L ,Glader P , *et al.* Activated human T cells secrete exosomes that participate in IL-2 mediated immune response signaling [J]. *PLoS One* , 2012 ,**7**( 11) : e49723
- [23] Muntasell A ,Berger A C ,Roche P A. T cell-induced secretion of MHC class II-peptide complexes on B cell exosomes [J]. *EMBO J* , 2007 ,**26**( 19) : 4263-4272
- [24] Gutzeit C ,Nagy N ,Gentile M , *et al.* Exosomes derived from Burkitt ' s lymphoma cell lines induce proliferation , differentiation , and class-switch recombination in B cells [J]. *J Immunol* , 2014 ,**192**( 12) : 5852-5862
- [25] Bhatnagar S ,Schorey J S. Exosomes released from infected macrophages contain *Mycobacterium avium* glycopeptidolipids and are proinflammatory [J]. *J Biol Chem* , 2007 ,**282**( 35) : 25779-25789
- [26] Mackenzie A ,Wilson H L ,Kiss-Toth E , *et al.* Rapid secretion of interleukin-1beta by microvesicle shedding [J]. *Immunity* , 2001 ,**15**( 5) : 825-835
- [27] Pizzirani C ,Ferrari D ,Chiozzi P , *et al.* Stimulation of P2 receptors causes release of IL-1beta-loaded microvesicles from human dendritic cells [J]. *Blood* , 2007 ,**109**( 9) : 3856-3864
- [28] Qu Y ,Franchi L ,Nunez G , *et al.* Nonclassical IL-1 beta secretion stimulated by P2X7 receptors is dependent on inflammasome activation and correlated with exosome release in murine macrophages [J]. *J Immunol* , 2007 ,**179**( 3) : 1913-1925
- [29] Monleon I ,Martinez-Lorenzo M J ,Monteagudo L , *et al.* Differential secretion of Fas ligand-or APO2 ligand/TNF-related apoptosis-inducing ligand-carrying microvesicles during activation-induced death of human T cells [J]. *J Immunol* , 2001 ,**167**( 12) : 6736-6744
- [30] Zuccato E ,Blott E J ,Holt O , *et al.* Sorting of Fas ligand to secretory lysosomes is regulated by mono-ubiquitylation and phosphorylation [J]. *J Cell Sci* , 2007 ,**120**( Pt 1) : 191-199
- [31] Munich S ,Sobo-Vujanovic A ,Buchser W J , *et al.* Dendritic cell exosomes directly kill tumor cells and activate natural killer cells via TNF superfamily ligands [J]. *Oncoimmunology* , 2012 ,**1**( 7) : 1074-1083
- [32] Valadi H ,Ekstrom 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
- [33] Montecalvo A ,Larregina A T ,Shufesky W J , *et al.* Mechanism of transfer of functional microRNAs between mouse dendritic cells via exosomes [J]. *Blood* , 2012 ,**119**( 3) : 756-766
- [34] Pegtel D M ,Cosmopoulos K ,Thorley-Lawson D A , *et al.* Functional delivery of viral miRNAs via exosomes [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A* , 2010 ,**107**( 14) : 6328-6333
- [35] Milane L ,Singh A ,Matheolabakis G , *et al.* Exosome mediated communication within the tumor microenvironment [J]. *J Control Release* , 2015 ,**219**: 278-294
- [36] Huber V ,Fais S ,Iero M , *et al.* Human colorectal cancer cells induce T-cell death through release of proapoptotic microvesicles: role in immune escape [J]. *Gastroenterology* , 2005 ,**128**( 7) : 1796-1804
- [37] Klibi J ,Niki T ,Riedel A , *et al.* Blood diffusion and Th1-suppressive effects of galectin-9-containing exosomes released by Epstein-Barr virus-infected nasopharyngeal carcinoma cells [J]. *Blood* , 2009 ,**113**( 9) : 1957-1966
- [38] 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
- [39] Yu S ,Liu C ,Su K , *et al.* Tumor exosomes inhibit differentiation of bone marrow dendritic cells [J]. *J Immunol* , 2007 ,**178**( 11) : 6867-6875

- [40] Yang L , Wu X H , Wang D , *et al.* Bladder cancer cell-derived exosomes inhibit tumor cell apoptosis and induce cell proliferation in vitro [J]. *Mol Med Rep* ,2013 ,**8**( 4) : 1272-1278
- [41] Taylor D D , Gercel-Taylor C , Lyons K S , *et al.* T-cell apoptosis and suppression of T-cell receptor/ CD3-zeta by Fas ligand-containing membrane vesicles shed from ovarian tumors [J]. *Clin Cancer Res* ,2003 ,**9**( 14) : 5113-5119
- [42] Safaei R , Larson B J , Cheng T C , *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
- [43] Chen K G , Valencia J C , Lai B , *et al.* Melanosomal sequestration of cytotoxic drugs contributes to the intractability of malignant melanomas [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A* ,2006 , **103**( 26) : 9903-9907
- [44] Singh R , Pochampally R , Watabe K , *et al.* Exosome-mediated transfer of miR-10b promotes cell invasion in breast cancer [J]. *Mol Cancer* ,2014 ,**13**: 256
- [45] Wang X , Ding X , Nan L , *et al.* Investigation of the roles of exosomes in colorectal cancer liver metastasis [J]. *Oncol Rep* , 2015 ,**33**( 5) : 2445-2453
- [46] Harris D A , Patel S H , Gucek M , *et al.* Exosomes released from breast cancer carcinomas stimulate cell movement [J]. *PLoS One* ,2015 ,**10**( 3) : e0117495
- [47] Costa-Silva B , Aiello N M , Ocean A J , *et al.* Pancreatic cancer exosomes initiate pre-metastatic niche formation in the liver [J]. *Nat Cell Biol* ,2015 ,**17**( 6) : 816-826
- [48] Zomer A , Maynard C , Verweij F J , *et al.* In Vivo imaging reveals extracellular vesicle-mediated phenocopying of metastatic behavior [J]. *Cell* ,2015 ,**161**( 5) : 1046-1057
- [49] Mitchell P S , Parkin R K , Kroh E M , *et al.* Circulating microRNAs as stable blood-based markers for cancer detection [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A* ,2008 ,**105**( 30) : 10513-10518
- [50] 于乐成 ,何长伦 ,陈成伟. 外泌体在肝病发病机制、诊断和治疗中的作用 [J]. *肝脏* ( Yu L C , He C L , Chen C W. Functions of exosomes in pathogenesis , diagnosis and treatment of hepatopathy [J]. *Chin Hepatol* ) ,2014 ,**19**( 3) : 211-214
- [51] Melo S A , Luecke L B , Kahlert C , *et al.* Glypican-1 identifies cancer exosomes and detects early pancreatic cancer [J]. *Nature* ,2015 ,**523**( 7559) : 177-182
- [52] 卢婉 ,杨人强 ,王伶. 外泌体的研究进展 [J]. *生命的化学* ( Lu W , Yang R Q , Wang L. Research progress of exosomes [J]. *Chem Life* ) ,2013 ,**33**( 4) : 438-442
- [53] Morse M A , Garst J , Osada T , *et al.* A phase I study of dexosome immunotherapy in patients with advanced non-small cell lung cancer [J]. *J Transl Med* ,2005 ,**3**( 1) : 9
- [54] Escudier B , Dorval T , Chaput N , *et al.* Vaccination of metastatic melanoma patients with autologous dendritic cell ( DC) derived-exosomes: results of the first phase I clinical trial [J]. *J Transl Med* ,2005 ,**3**( 1) : 10