

DOI: 10.16781/j.CN31-2187/R.20220864

· 综述 ·

外泌体在甲状腺癌诊治中的研究进展

童修文, 马冠君, 徐昕昀*

海军军医大学(第二军医大学)第二附属医院甲乳疝外科, 上海 200003

[摘要] 甲状腺癌是世界上发病率增长最快的癌症之一, 寻找新型高特异性、高灵敏度、无创的早期诊断和术后检测标志物成为研究热点。外泌体是细胞间信息物质交流的重要载体, 由于其高稳定性、低细胞毒性、低免疫原性和高膜通透性等特征, 具有成为无创、新型疾病诊断和治疗手段的潜能。近年来, 外泌体在甲状腺癌非侵入性诊断、检测、给药、治疗和预后评估等领域取得了实质性突破。本文综述了甲状腺癌来源的外泌体在肿瘤发生、诊断及治疗中的研究进展。

[关键词] 外泌体; 细胞外囊泡; 微RNA; 甲状腺癌; 生物标志物; 诊断

[引用本文] 童修文, 马冠君, 徐昕昀. 外泌体在甲状腺癌诊治中的研究进展[J]. 海军军医大学学报, 2024, 45(3): 340-345. DOI: 10.16781/j.CN31-2187/R.20220864.

Exosome in diagnosis and treatment of thyroid carcinoma: research progress

TONG Xiuwen, MA Guanjun, XU Xinyun*

Department of Thyroid, Breast and Hernia, The Second Affiliated Hospital of Naval Medical University (Second Military Medical University), Shanghai 200003, China

[Abstract] Thyroid carcinoma (TC) is one of the fastest-growing cancers in the world. Finding new biomarkers with high specificity, high sensitivity and non-invasive characteristic for early diagnosis and postoperative detection has become a research focus. Exosome, an important carrier of intercellular communication with high stability, low cytotoxicity, low immunogenicity, and high membrane permeability, has the potential to become a non-invasive and new means of disease diagnosis and treatment. In recent years, there have been substantial breakthroughs for exosomes in non-invasive diagnosis, detection, administration, treatment, and prognostic evaluation of thyroid cancer. This article reviews the research progress of TC-derived exosomes in tumor development and progression, diagnosis, and therapy.

[Key words] exosome; extracellular vesicles; microRNA; thyroid carcinoma; biomarkers; diagnosis

[Citation] TONG X, MA G, XU X. Exosome in diagnosis and treatment of thyroid carcinoma: research progress[J]. Acad J Naval Med Univ, 2024, 45(3): 340-345. DOI: 10.16781/j.CN31-2187/R.20220864.

甲状腺癌的发病率在全球范围内持续增高, 成为世界上发病率增长最快的恶性肿瘤之一^[1]。据报道, 2020年全球甲状腺癌病例共计586202例, 在恶性肿瘤发病率中排名第9位, 女性甲状腺癌的发病率在所有恶性肿瘤中排名第4位^[2]。分化型甲状腺癌(differentiated thyroid carcinoma, DTC)占有甲状腺癌的95%以上, DTC又分甲状腺乳头状癌(papillary thyroid carcinoma, PTC)、滤泡性甲状腺癌(follicular thyroid carcinoma, FTC)和Hürthle细胞癌^[3]。甲状腺癌传统的诊断方法如

肿瘤相关标志物检测和超声等影像学检查存在灵敏度和特异度不佳等问题。即使作为甲状腺癌术前诊断金标准的超声引导下细针穿刺细胞学检查也因其有创及检查费用高等原因不易被患者接受, 文献报道有10%~40%的细针穿刺细胞学检查不能做出肿瘤良恶性的明确诊断, 导致许多良性病变进行不必要的甲状腺切除术^[4]。寻找新型高特异度、高灵敏度、无创的早期诊断和术后检测标志物已成为研究热点。大多数甲状腺癌患者经手术、促甲状腺激素抑制、放射性碘治疗、化疗、外部照射和靶向

[收稿日期] 2022-11-08 [接受日期] 2023-04-25

[作者简介] 童修文, 硕士生. E-mail: xiuwentong@126.com

*通信作者(Corresponding author). Tel: 021-81886814, E-mail: 13801983169@163.com

治疗后预后良好,但对于晚期或难治性甲状腺癌患者仍然缺乏有效的治疗手段,此类患者的生存期和生活质量无法得到保证,探寻新型有效的治疗策略则成了亟须解决的问题。外泌体是一种能被机体内大多数细胞分泌的细胞外囊泡,携带大量的生物信息,越来越多的证据表明外泌体在肿瘤的发生、发展中占据重要地位,可以用作恶性肿瘤的诊断和治疗^[5-6]。本文综述了近年来甲状腺癌来源的外泌体在肿瘤发生和发展、诊断及治疗中的研究进展,以期期为甲状腺癌诊断和治疗策略的研究提供新思路 and 理论依据。

1 外泌体概述

外泌体是分泌到细胞外环境的细胞外囊泡,具有双层脂质封闭结构,直径为30~150 nm,呈杯形或球形。外泌体广泛存在于人体的血浆、唾液、尿液等各种体液中,并且携带 miRNA、环状 RNA (circular RNA, circRNA) 及蛋白质、脂质等,是细胞间信息物质交流的重要载体^[5]。外泌体具备稳定性高、细胞毒性低、免疫原性低和膜通透性高等特征。肿瘤细胞由于缺氧、炎症等应激条件的存在而主动产生与分泌外泌体,在肿瘤患者中,特别是进行性或转移性肿瘤患者,其血浆中外泌体数量明显超过正常人群^[6]。

2 外泌体参与甲状腺癌发生、发展的机制

随着外泌体生物学与肿瘤关系研究的逐渐深入,外泌体被认为以多种方式参与肿瘤的发生和发展过程,包括肿瘤微环境(tumor microenvironment, TME)的重塑、上皮间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)、促进血管生成、参与转移和侵袭及调节肿瘤细胞免疫逃逸等^[7]。随着研究的进展,外泌体在甲状腺癌形成和转移中的重要作用正逐渐被揭示。Wu等^[8-9]研究发现PTC患者的血清外泌体 circ_0006156 (circFNDC3B) 和 circ_0059354 (circRASSF2) 表达上调,并通过激活 miRNA-1178/Toll样受体4 (Toll-like receptor 4, TLR4) 通路调节PTC进展,在PTC发生中发挥致癌作用。癌症相关成纤维细胞(cancer-associated fibroblast, CAF)是TME中的主要基质细胞,在肿瘤生物学进程中起着至关重要的作用,从CAF释放的外泌体通过向肿瘤细胞转移物质来促进肿瘤进展和转移,并且肿瘤细胞分

泌的外泌体可以促进CAF转化^[10]。

EMT在肿瘤转移早期出现,主要通过减少黏附和增加运动性来介导侵袭性和肿瘤表型的发展。Hardin等^[11]证明肿瘤干细胞(cancer stem cell, CSC)来源的外泌体可以通过lncRNA重编程调节因子的转移和表达使正常的非癌性甲状腺细胞发生EMT。PTC-CSC还可以将外泌体lncRNA DOCK9-AS2传递给PTC,并通过激活Wnt/ β -连环素途径加速PTC进展^[12]。Boufraquech等^[13]发现,miRNA-145在人甲状腺乳头状癌细胞系TPC-1中减少了神经钙黏素的表达和血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)的分泌,从而抑制了肿瘤的EMT和血管生成,然而肿瘤通过外泌体将miRNA-145主动排泄到血液中以减少其在肿瘤组织中的表达,促进甲状腺癌的生长和转移。对不确定的细针穿刺样本的分析表明,miRNA-145在区分良恶性甲状腺结节方面具有92%的阴性预测值,外泌体miRNA-145可作为甲状腺癌诊断的辅助生物标志物^[13]。

恶性肿瘤的生长和转移还取决于血管的形成与扩张,肿瘤来源的外泌体已被证明在促进血管生成中起着重要作用,但外泌体驱动血管生成的确切机制尚不清楚,来自不同肿瘤细胞的外泌体血管生成机制差异很大^[14]。由于肿瘤细胞的增殖会过量消耗氧气,加上肿瘤血管系统紊乱,使得缺氧成为恶性肿瘤最典型和最重要的特征,在缺氧或酸中毒等情况下,分泌到体液中的外泌体大大增多^[15]。Wu等^[16]揭示了低氧PTC细胞分泌的外泌体miRNA-21-5p增强了人脐静脉内皮细胞体外和体内的血管生成活性,低氧PTC细胞通过外泌体miRNA-21-5p/转化生长因子 β 诱导蛋白(transforming growth factor β -induced protein, TGFB1)和miRNA-21-5p/IV型胶原蛋白 α 1(collagen IV α 1, COL4A1)途径促进肿瘤血管生成。Wang等^[17]发现低氧PTC细胞分泌的外泌体miRNA-181a通过下调 β -连环素抑制基因2(dishevelled-binding antagonist of β -catenin 2, DACT2)、混合型白血病蛋白3(mixed-lineage leukemia 3, MLL3)及激活YAP-VEGF信号通路促进肿瘤血管生成和生长。

免疫系统对肿瘤的免疫监视被认为是一个重要的宿主保护过程,具有维持细胞内稳态和抑癌作用,肿瘤来源的外泌体与甲状腺癌的发生、侵袭和转移密切相关^[18]。甲状腺癌被认为是最具

免疫原性的肿瘤之一^[19]。程序性死亡受体配体 1 (programmed cell death-ligand 1, PD-L1) 与程序性死亡受体 1 (programmed death-1, PD1) 的相互作用抑制 T 细胞反应, 阻断这种相互作用已被证明是黑色素瘤、乳腺癌等恶性肿瘤的有效免疫疗法。PD-L1 可以在肿瘤细胞、免疫细胞和 TME 中的其他细胞表面表达, 但也以细胞外形式存在, 并且已有研究表明表达 PD-L1 的外泌体可以抑制抗肿瘤免疫应答。在黑色素瘤患者中, 外泌体 PD-L1 也是 PD1 阻断抗体开始治疗后早期免疫激活的标志物, 可预测对 PD1 阻断的临床反应^[20]。自然杀伤细胞 (natural killer cell, NK 细胞) 是先天免疫淋巴细胞的关键子集, 具有抗肿瘤活性, 可用于肿瘤免疫治疗。Zhu 等^[21] 研究发现, 含有 IL-15 的培养基可使 NK 细胞来源外泌体的分泌速度加快, 并明显增强对甲状腺癌的杀伤作用, IL-15 可能提高 NK 细胞来源外泌体的免疫治疗效果。Caruso Bavisotto 等^[22] 研究发现, PTC 患者癌组织和循环外泌体中热休克蛋白 (heat shock protein, Hsp) 27、Hsp60 和 Hsp90 水平高于正常甲状腺组织和良性甲状腺肿, 手术前 PTC 患者循环外泌体中的 Hsp27、Hsp60 和 Hsp90 水平显著高于手术后患者和良性甲状腺肿患者循环外泌体中的水平。

3 外泌体对甲状腺癌的诊断及检测潜力

3.1 外泌体 miRNA 与甲状腺癌 研究表明, 外泌体 miRNA 是甲状腺癌合适且有前景的诊断标志物, miRNA 在诊断中的优点是它们高度稳定、受双层膜保护并包含与肿瘤生物反应有关的关键信息。外泌体 miRNA 对 RNA 酶的蛋白水解活性具有更强的抗性, 比体液中游离 miRNA 更加稳定^[23]。Toraih 等^[24] 对 12 篇文献 (包括 1 164 例亚洲甲状腺癌患者和 540 例对照) 进行 meta 分析发现, 外泌体中具有高灵敏度的单项最佳生物标志物有 miRNA-16-2-3p (94%)、miRNA-223-5p (91%)、miRNA-130a-3p (90%) 和 miRNA-182-5p (94%)。以上 4 种标志物还显示出高特异度 (分别为 87%、84%、90% 和 81%)。6 组 2~4 个外泌体 miRNA 的组合显示出更高的诊断价值, 其中 miRNA-146b-5p+miRNA-223-5p+miRNA-182-5p 具备区分甲状腺癌和非癌个体的最佳辨别能力 (AUC=0.981, 灵敏度为 93.8%, 特异度为 92.9%)。Liang 等^[25] 通过分析不同患者的血浆外泌体 miRNA, 也发现与单

个外泌体 miRNA 标志物相比, 组合的 miRNA 表现出更高的诊断灵敏度和特异度, 能够更加有效地鉴别 PTC 和良性甲状腺结节。Samsonov 等^[26] 研究发现 miRNA-21-5p 和 miRNA-221-3p 在 FTC 来源的外泌体中上调, 而 miRNA-181a 在 PTC 来源的外泌体中上调, miRNA-21-5p/miRNA-181a 比值在鉴别 FPC 和 PTC 时表现出很高的灵敏度, miRNA-21-5p/miRNA-181a 比值和 miRNA-221-3p/miRNA-181a 比值的组合提高了 PTC 与 FTC 鉴别的特异度。这些结果表明, miRNA-21-5p、miRNA-221-3p 和 miRNA-181a 的表达在 DTC 鉴别诊断中具有重要作用, 外泌体 miRNA 分析有助于 PTC 与 FTC 的鉴别^[26]。Dai 等^[27] 研究发现, 外泌体 miRNA-485-3p 的高表达与肿瘤直径 ≥ 1 cm、临床分期晚、甲状腺外侵犯、丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶 B-raf 突变和淋巴结转移有关, 可指导评估 PTC 复发风险及临床分期。Chen 等^[28] 研究发现血浆外泌体 miRNA-6774-3p 和 miRNA-6879-5p 对诊断 PTC 淋巴结转移具有良好的灵敏度和特异度, 通过比较选定的外泌体 miRNA 和血浆总 miRNA 的 AUC 值, 出现血浆外泌体 miRNA 比直接从血浆中分离的总 miRNA 具有更高的诊断价值, 这在既往的类似研究中很少报道。Jiang 等^[29] 研究发现, 外泌体 miRNA-146b-5p 和 miRNA-222-3p 的外源性过表达可以促进 PTC 细胞的迁移和侵袭, 外泌体 miRNA-146b-5p 和 miRNA-222-3p 可以独立预测 PTC 淋巴结转移, 可作为 PTC 淋巴结转移的潜在生物标志物。

3.2 外泌体 circRNA 与甲状腺癌 circRNA 是一种非编码 RNA, 其在外泌体中具有高度富集和稳定性^[30]。最近的研究表明, circRNA 通过充当 miRNA “海绵”、蛋白质支架或蛋白质翻译模板来调节细胞死亡、代谢和免疫反应从而参与肿瘤进展^[30]。值得注意的是, 从成人获得的组织中, 外分泌腺和内分泌腺中观察到的 circRNA 数量最多, 在甲状腺中发现了 3 777 个 circRNA, 其中绝大多数具有组织特异性^[31]。迄今为止, 关于甲状腺癌患者外泌体 circRNA 的研究还很少。Wu 等^[9] 的研究证明 circ_0006156 (circFNDC3B) 在 PTC 患者的血清外泌体中上调, 其通过 miRNA-1178/TLR4 途径调节 PTC 进展, 说明 circFNDC3B 可能作为 PTC 患者的诊断、治疗靶点。Yang 等^[32] 通过高通量测序鉴定了 PTC 患者血清外泌体中 circRNA 表达的变化, circ_007293、circ_031752 和 circ_020135 被

证明在PTC患者血浆中表达。Lin等^[33]发现外泌体 circ_007293 通过 miRNA-653-5p/ 配对盒基因 6 轴诱导 EMT 促进 PTC 细胞 EMT、侵袭和迁移,其可能作为检测 PTC 进展的生物标志物。

3.3 外泌体蛋白质与甲状腺癌 与甲状腺癌来源的外泌体相关核酸研究相比,蛋白质的研究非常有限。对甲状腺癌患者血清外泌体进行蛋白质组学分析发现多种蛋白质上调,其中涉及整合素信号通路的蛋白质过度表达^[34]。Surman等^[35]对正常人甲状腺滤泡上皮 Nthy-ori 3-1 细胞和人未分化甲状腺癌 8305C 细胞体外释放的外泌体蛋白质含量进行了分析和比较,结果显示 568 种蛋白质独特存在于 8305C 细胞衍生的外泌体中,而且 8305C 细胞衍生的外泌体能够增加受体细胞的增殖和运动速率,表明它们在甲状腺癌诊断和检测中具有应用潜力。Huang等^[36]对比分析了甲状腺癌患者术前、术后 (¹³¹I 治疗后)尿外泌体蛋白质量,包括甲状腺球蛋白和半乳糖凝集素 3, 5 例患者未检测到血清甲状腺球蛋白,而尿外泌体甲状腺球蛋白仍呈上升趋势,这可能暗示了甲状腺癌复发,首次评估尿外泌体甲状腺球蛋白也许可以替代血清甲状腺球蛋白用于诊断和监测甲状腺癌。Wise等^[37]探究了太空环境下微重力对甲状腺癌细胞外泌体释放的影响,初步结果表明甲状腺癌细胞分泌的外泌体数量及不同亚群膜蛋白表达存在差异,尤其是关于四跨膜蛋白表达的改变,这是进入微重力研究新领域有希望的一步,并有可能发现新的生物标志物。

4 外泌体治疗甲状腺癌的新策略研究

外泌体在体内分布广泛、稳定性高、细胞毒性低、免疫原性低、膜通透性高、载药量大、生物相容性好等特性使其成为肿瘤精准治疗领域的研究热点。Zhu等^[38]通过体内外实验比较了NK细胞的新型外泌体模拟物(NK-EM)和传统的NK细胞释放的外泌体(NK-Exo)对肿瘤细胞的杀伤作用,其中体外实验评估了NK-EM对4种肿瘤细胞[(胶质母细胞瘤、乳腺癌、甲状腺未分化癌(anaplastic thyroid carcinoma, ATC)和肝癌)]的细胞毒性,在体内实验中建立了异种移植胶质母细胞瘤小鼠模型。结果显示,与NK-Exo组相比,NK-EM组肿瘤的生物发光成像信号强度、大小和质量显著下降(均 $P < 0.001$),证实了NK-EM的抗肿瘤活性。所有这些结果表明NK-EM对肿瘤细胞的杀伤作用较

NK-Exo更强,并且能够在体内靶向肿瘤细胞。NK-EM可能是一种有前途的治疗癌症的免疫药物^[38]。

外泌体作为药物递送载体具有组织特异、安全、稳定和能够穿过生物屏障等独特优势,它们可以将药物穿过靶细胞的质膜输送到靶细胞中发挥功能。外泌体作为药物输送载体另一个极具吸引力的特征是能够归巢靶组织^[39]。Gangadaran等^[40]从培养的ATC CAL62细胞中分离出含有海肾萤光素酶的外泌体,在ATC小鼠模型中测试肿瘤来源的外泌体对其亲本肿瘤的靶向能力,发现注射到ATC模型小鼠中的外泌体直接内化到CAL62肿瘤中,并在注射后30 min积聚在肿瘤区域,通过光学成像成功检测了肿瘤细胞来源外泌体的肿瘤靶向能力,进一步证明肿瘤细胞来源外泌体是肿瘤治疗药物递送的高效天然载体。

Li等^[41]开发了一种新型混合纳米平台 miRNA-497/TP-HENPs,它由来自卵巢癌细胞的外泌体、靶标环状精氨酸-甘氨酸-天门冬氨酸(cyclic arginine-glycine-aspartate acid, cRGD)肽修饰的脂质体、化疗药物雷公藤甲素及吸附在纳米颗粒表面的miRNA-497组成。这些混合纳米颗粒通过肿瘤来源的外泌体和合成的cRGD肽靶向肿瘤细胞,有效地富集在肿瘤区域并发挥显著的抗癌作用。在TME中,纳米颗粒释放miRNA-497和雷公藤甲素,协同抑制PI3K/Akt/mTOR信号通路并消耗谷胱甘肽以提高细胞内活性氧水平,并上调巨噬细胞从M2型向M1型极化^[41],最终导致肿瘤细胞死亡并克服耐药性,这可能为其他肿瘤耐药提供了潜在的解决方案^[41-42]。文献报道了利用肿瘤来源的外泌体进行靶向miRNA递送的另一种方法。Yamayoshi等^[43]试图开发一种新型药物递送系统,使用抗外泌体抗体-抗miRNA寡核苷酸复合物(ExomiR-Tracker)来劫持外泌体,ExomiR-Tracker与外泌体结合后将复合物引入受体细胞中,引入受体细胞的抗miRNA寡核苷酸可以对外泌体miRNA功能表现出抑制作用。

5 结 语

外泌体是分泌到细胞外环境中的纳米级细胞外囊泡,几乎所有类型的细胞均可分泌,体内分布广泛,具有稳定性高、细胞毒性低、免疫原性低和膜通透性高等特征。近年来的研究使外泌体在甲状腺癌诊断、检测、给药、治疗和预后评估等领域取

得实质性突破。虽然近年来外泌体相关研究不断深化和丰富,但对外泌体在甲状腺癌发生、发展、转移、复发、耐药的机制认识仍不够清楚,相关临床应用的研究较为缺乏。现有实验研究普遍存在样本量偏小的问题影响筛选相关外泌体的准确性。甲状腺癌外泌体的相关研究大多集中在 miRNA、circRNA 等核酸物质上,外泌体蛋白质等的研究相对较少。DTC 微小癌患者是否行预防性中央区淋巴结清扫仍然存在争议,因此,外泌体对 DTC 淋巴结转移的早期诊断和机制研究有巨大的临床意义。就外泌体的研究及临床应用而言,目前的外泌体分离、提纯方法并不完美,除了需要实现高纯度的外泌体分离外,还需要进一步努力达到更集成、高通量、回收率高、生物活性高、用时短的要求。在外泌体准备好应用于临床之前还有很长的路要走,考虑到外泌体的复杂性,还需要更多的研究来加深对外泌体的理解,从而开发甲状腺癌新的诊断和治疗策略,使更多患者受益。

[参 考 文 献]

- [1] DENG Y, LI H, WANG M, et al. Global burden of thyroid cancer from 1990 to 2017 [J]. *JAMA Netw Open*, 2020, 3(6): e208759. DOI: 10.1001/jamanetworkopen.2020.8759.
- [2] SUNG H, FERLAY J, SIEGEL R L, et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries [J]. *CA Cancer J Clin*, 2021, 71(3): 209-249. DOI: 10.3322/caac.21660.
- [3] ROMANO C, MARTORANA F, PENNISI M S, et al. Opportunities and challenges of liquid biopsy in thyroid cancer [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(14): 7707. DOI: 10.3390/ijms22147707.
- [4] REZIG L, SERVADIO A, TORREGROSSA L, et al. Diagnosis of post-surgical fine-needle aspiration biopsies of thyroid lesions with indeterminate cytology using HRMAS NMR-based metabolomics [J]. *Metabolomics*, 2018, 14(10): 141. DOI: 10.1007/s11306-018-1437-6.
- [5] YOUSEFI DEHBIDI M, GOODARZI N, AZHDARI M H, et al. Mesenchymal stem cells and their derived exosomes to combat COVID-19 [J]. *Rev Med Virol*, 2022, 32(2): e2281. DOI: 10.1002/rmv.2281.
- [6] KING H W, MICHAEL M Z, GLEADLE J M. Hypoxic enhancement of exosome release by breast cancer cells [J]. *BMC Cancer*, 2012, 12: 421. DOI: 10.1186/1471-2407-12-421.
- [7] LIU Y, SHI K, CHEN Y, et al. Exosomes and their role in cancer progression [J]. *Front Oncol*, 2021, 11: 639159. DOI: 10.3389/fonc.2021.639159.
- [8] WU G, ZHOU W, LIN X, et al. circRASSF2 acts as ceRNA and promotes papillary thyroid carcinoma progression through miR-1178/TLR4 signaling pathway [J]. *Mol Ther Nucleic Acids*, 2020, 19: 1153-1163. DOI: 10.1016/j.omtn.2019.11.037.
- [9] WU G, ZHOU W, PAN X, et al. Circular RNA profiling reveals exosomal circ_0006156 as a novel biomarker in papillary thyroid cancer [J]. *Mol Ther Nucleic Acids*, 2020, 19: 1134-1144. DOI: 10.1016/j.omtn.2019.12.025.
- [10] KALLURI R, LEBLEU V S. The biology, function, and biomedical applications of exosomes [J]. *Science*, 2020, 367(6478): eaau6977. DOI: 10.1126/science.aau6977.
- [11] HARDIN H, HELEIN H, MEYER K, et al. Thyroid cancer stem-like cell exosomes: regulation of EMT via transfer of lncRNAs [J]. *Lab Invest*, 2018, 98: 1133-1142. DOI: 10.1038/s41374-018-0065-0.
- [12] DAI W, JIN X, HAN L, et al. Exosomal lncRNA DOCK9-AS2 derived from cancer stem cell-like cells activated Wnt/ β -catenin pathway to aggravate stemness, proliferation, migration, and invasion in papillary thyroid carcinoma [J]. *Cell Death Dis*, 2020, 11(9): 743. DOI: 10.1038/s41419-020-02827-w.
- [13] BOUFRAQECH M, ZHANG L, JAIN M, et al. MiR-145 suppresses thyroid cancer growth and metastasis and targets *AKT3* [J]. *Endocr Relat Cancer*, 2014, 21(4): 517-531. DOI: 10.1530/ERC-14-0077.
- [14] AHMADI M, REZAIE J. Tumor cells derived-exosomes as angiogenic agents: possible therapeutic implications [J]. *J Transl Med*, 2020, 18(1): 249. DOI: 10.1186/s12967-020-02426-5.
- [15] MASHOURI L, YOUSEFI H, AREF A R, et al. Exosomes: composition, biogenesis, and mechanisms in cancer metastasis and drug resistance [J]. *Mol Cancer*, 2019, 18(1): 75. DOI: 10.1186/s12943-019-0991-5.
- [16] WU F, LI F, LIN X, et al. Exosomes increased angiogenesis in papillary thyroid cancer microenvironment [J]. *Endocr Relat Cancer*, 2019, 26(5): 525-538. DOI: 10.1530/ERC-19-0008.
- [17] WANG Y, CEN A, YANG Y, et al. MiR-181a, delivered by hypoxic PTC-secreted exosomes, inhibits DACT2 by downregulating MLL3, leading to YAP-VEGF-mediated angiogenesis [J]. *Mol Ther Nucleic Acids*, 2021, 24: 610-621. DOI: 10.1016/j.omtn.2021.02.027.
- [18] YIN H, TANG Y, GUO Y, et al. Immune microenvironment of thyroid cancer [J]. *J Cancer*, 2020, 11(16): 4884-4896. DOI: 10.7150/jca.44506.
- [19] CHAKLADAR J, LI W T, BOUVET M, et al. Papillary thyroid carcinoma variants are characterized by co-dysregulation of immune and cancer associated genes [J]. *Cancers*, 2019, 11(8): 1179. DOI: 10.3390/cancers11081179.
- [20] DAASSI D, MAHONEY K M, FREEMAN G J. The importance of exosomal PDL1 in tumour immune evasion [J]. *Nat Rev Immunol*, 2020, 20: 209-215. DOI: 10.1038/s41577-019-0264-y.
- [21] ZHU L, KALIMUTHU S, OH J M, et al. Enhancement

- of antitumor potency of extracellular vesicles derived from natural killer cells by IL-15 priming[J]. *Biomaterials*, 2019, 190/191: 38-50. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2018.10.034.
- [22] CARUSO BAVISOTTO C, CIPOLLA C, GRACEFFA G, et al. Immunomorphological pattern of molecular chaperones in normal and pathological thyroid tissues and circulating exosomes: potential use in clinics[J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(18): E4496. DOI: 10.3390/ijms20184496.
- [23] LIU Y, GENG H, LIU X, et al. A meta-analysis of circulating microRNAs in the diagnosis of papillary thyroid carcinoma[J]. *PLoS One*, 2021, 16(5): e0251676. DOI: 10.1371/journal.pone.0251676.
- [24] TORAIH E A, ELSHAZLI R M, TRINH L N, et al. Diagnostic and prognostic performance of liquid biopsy-derived exosomal microRNAs in thyroid cancer patients: a systematic review and meta-analysis[J]. *Cancers*, 2021, 13(17): 4295. DOI: 10.3390/cancers13174295.
- [25] LIANG M, YU S, TANG S, et al. A panel of plasma exosomal miRNAs as potential biomarkers for differential diagnosis of thyroid nodules[J]. *Front Genet*, 2020, 11: 449. DOI: 10.3389/fgene.2020.00449.
- [26] SAMSONOV R, BURDAKOV V, SHTAM T, et al. Plasma exosomal miR-21 and miR-181a differentiates follicular from papillary thyroid cancer[J]. *Tumour Biol*, 2016, 37(9): 12011-12021. DOI: 10.1007/s13277-016-5065-3.
- [27] DAI D, TAN Y, GUO L, et al. Identification of exosomal miRNA biomarkers for diagnosis of papillary thyroid cancer by small RNA sequencing[J]. *Eur J Endocrinol*, 2020, 182(1): 111-121. DOI: 10.1530/EJE-19-0524.
- [28] CHEN W, LI G, LI Z, et al. Evaluation of plasma exosomal miRNAs as potential diagnostic biomarkers of lymph node metastasis in papillary thyroid carcinoma[J]. *Endocrine*, 2022, 75(3): 846-855. DOI: 10.1007/s12020-021-02949-x.
- [29] JIANG K, LI G, CHEN W, et al. Plasma exosomal miR-146b-5p and miR-222-3p are potential biomarkers for lymph node metastasis in papillary thyroid carcinomas[J]. *Onco Targets Ther*, 2020, 13: 1311-1319. DOI: 10.2147/OTT.S231361.
- [30] SEIMIYA T, OTSUKA M, IWATA T, et al. Emerging roles of exosomal circular RNAs in cancer[J]. *Front Cell Dev Biol*, 2020, 8: 568366. DOI: 10.3389/fcell.2020.568366.
- [31] XU T, WU J, HAN P, et al. Circular RNA expression profiles and features in human tissues: a study using RNA-seq data[J]. *BMC Genomics*, 2017, 18(Suppl 6): 680. DOI: 10.1186/s12864-017-4029-3.
- [32] YANG C, WEI Y, YU L, et al. Identification of altered circular RNA expression in serum exosomes from patients with papillary thyroid carcinoma by high-throughput sequencing[J]. *Med Sci Monit*, 2019, 25: 2785-2791. DOI: 10.12659/MSM.915658.
- [33] LIN Q, QI Q, HOU S, et al. Exosomal circular RNA hsa_circ_007293 promotes proliferation, migration, invasion, and epithelial-mesenchymal transition of papillary thyroid carcinoma cells through regulation of the microRNA-653-5p/paired box 6 axis[J]. *Bioengineered*, 2021, 12(2): 10136-10149. DOI: 10.1080/21655979.2021.2000745.
- [34] LUO D, ZHAN S, XIA W, et al. Proteomics study of serum exosomes from papillary thyroid cancer patients[J]. *Endocr Relat Cancer*, 2018, 25(10): 879-891. DOI: 10.1530/ERC-17-0547.
- [35] SURMAN M, KĘDRACKA-KROK S, WILCZAK M, et al. Comparative proteomic profiling of ectosomes derived from thyroid carcinoma and normal thyroid cells uncovers multiple proteins with functional implications in cancer[J]. *Cells*, 2022, 11(7): 1184. DOI: 10.3390/cells11071184.
- [36] HUANG T Y, WANG C Y, CHEN K Y, et al. Urinary exosomal thyroglobulin in thyroid cancer patients with post-ablative therapy: a new biomarker in thyroid cancer[J]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2020, 11: 382. DOI: 10.3389/fendo.2020.00382.
- [37] WISE P M, NEVIANI P, RIWALDT S, et al. Changes in exosome release in thyroid cancer cells after prolonged exposure to real microgravity in space[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(4): 2132. DOI: 10.3390/ijms22042132.
- [38] ZHU L, GANGADARAN P, KALIMUTHU S, et al. Novel alternatives to extracellular vesicle-based immunotherapy—exosome mimetics derived from natural killer cells[J]. *Artif Cells Nanomed Biotechnol*, 2018, 46(sup3): S166-S179. DOI: 10.1080/21691401.2018.1489824.
- [39] MULCAHY L A, PINK R C, CARTER D R F. Routes and mechanisms of extracellular vesicle uptake[J]. *J Extracellular Vesicle*, 2014;3. DOI: 10.3402/jev.v3.24641.
- [40] GANGADARAN P, LI X J, KALIMUTHU S K, et al. New optical imaging reporter-labeled anaplastic thyroid cancer-derived extracellular vesicles as a platform for *in vivo* tumor targeting in a mouse model[J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 13509. DOI: 10.1038/s41598-018-31998-y.
- [41] LI L, HE D, GUO Q, et al. Exosome-liposome hybrid nanoparticle codelivery of TP and miR497 conspicuously overcomes chemoresistant ovarian cancer[J]. *J Nanobiotechnology*, 2022, 20(1): 50. DOI: 10.1186/s12951-022-01264-5.
- [42] SYED S N, BRÜNE B. Exosomal and non-exosomal microRNAs: new kids on the block for cancer therapy[J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(9): 4493. DOI: 10.3390/ijms23094493.
- [43] YAMAYOSHI A, OYAMA S, KISHIMOTO Y, et al. Development of antibody-oligonucleotide complexes for targeting exosomal microRNA[J]. *Pharmaceutics*, 2020, 12(6): 545. DOI: 10.3390/pharmaceutics12060545.