

DOI:10.16781/j.0258-879x.2018.07.0711

• 专题报道 •

外泌体糖蛋白的研究进展

曾 韬, 黎 力, 赵云鹏, 王 越*

海军军医大学(第二军医大学)基础医学院组织胚胎学教研室, 上海 200433

[摘要] 外泌体是细胞多泡内体与质膜融合时释放产生的微小囊泡。近些年外泌体的研究逐渐受到重视, 然而大多数研究都集中在外泌体中信使 RNA (mRNA)、微 RNA (microRNA) 和长链基因间非编码 RNA (lincRNA) 等的功能作用上, 而对其所含糖蛋白的研究报道较少。近年研究发现, 许多疾病包括肿瘤在内, 都与外泌体糖蛋白关系密切。本文针对外泌体糖蛋白在肿瘤等疾病中的作用作一综述。

[关键词] 外泌体; 糖蛋白类; 肿瘤; 肝疾病; 阿尔茨海默病

[中图分类号] R 341.32 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2018)07-0711-05

Role of exosome glycoprotein in diseases: recent progress

ZENG Tao, LI Li, ZHAO Yun-peng, WANG Yue*

Department of Histology and Embryology, College of Basic Medical Sciences, Navy Medical University (Second Military Medical University), Shanghai 200433, China

[Abstract] Exosomes are the microvesicles released from cells during fusion of multivesicular endosomes with plasma membrane. In recent years, most studies have focused on the function of some molecules contained in exosomes, such as messenger RNA (mRNA), microRNA and long intergenic non-coding RNA (lincRNA). The studies about glycoproteins contained in exosomes are rarely reported. Recent researches have shown that many diseases, including tumor, are closely associated with glycoproteins contained in exosomes. In this review, we described the role of exosome glycoproteins in tumors and other diseases.

[Key words] exosomes; glycoproteins; neoplasms; liver diseases; Alzheimer disease

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2018, 39(7): 711-715]

外泌体是细胞间通讯的重要介质之一, 很多疾病与外泌体有关, 如慢性感染性疾病、肿瘤、自身免疫病等。目前对外泌体的研究大多集中在信使 RNA (messenger RNA, mRNA)、微 RNA (microRNA, miRNA)、长链基因间非编码 RNA (long intergenic non-coding RNA, lincRNA) 等, 而对其中的蛋白质及其糖基化研究较少。蛋白质是生命物质的基础, 人体所有重要的组成部分都需要有蛋白质的参与。糖蛋白是 mRNA 经过翻译生成蛋白质后进一步加工修饰(糖基化修饰)的产物, 参与细胞信号的转导, 细胞增殖、分化和凋亡的调控, 以及生物体的发育等重要生命过程。绝大部分蛋白质需要经过糖基化修饰后才能起作用。因此, 外泌体中的糖蛋白可能在包括肿

瘤在内的多种疾病的发生、发展过程中发挥着重要作用, 本文就其在肿瘤等疾病中的作用作一综述。

1 外泌体

1.1 外泌体起源及其生物学作用 外泌体是细胞多泡内体与质膜融合时释放产生的微小囊泡, 其直径约为 30~100 nm。在正常生理情况下, 细胞与细胞之间可以通过外泌体运输各种生物活性物质, 如 DNA、蛋白质、mRNA 和 lincRNA 等, 由此完成细胞间物质与信息传递^[1]。当机体发生病理改变(如感染、肿瘤等)时, 细胞分泌的外泌体也会发生一些变化, 其内容物的成分、含量、性质等都可能发生改变。外泌体含有的蛋白质具有

[收稿日期] 2017-11-13 **[接受日期]** 2017-12-31

[基金项目] 国家自然科学基金(81670565)。Supported by National Natural Science Foundation of China (81670565)。

[作者简介] 曾 韬, 硕士生。E-mail: smmuzt@163.com

*通信作者(Corresponding author)。Tel: 021-81870964, E-mail: wangyuesmmu@163.com

一定的细胞组织特异性,不同类型细胞分泌的外泌体存在一定差异,比如抗原递呈细胞(antigen presenting cell, APC)分泌的外泌体其表面携带 CD86 分子^[2],而来源于树突状细胞的外泌体含有组织相容性复合体(major histocompatibility complex, MHC) I 类和 MHC II 类分子^[3]。

1.2 外泌体分离与鉴定技术 随着对外泌体研究的深入,外泌体的分离纯化技术也不断增多和优化。目前最常用的外泌体分离方法是差速离心法,其主要针对细胞培养上清液和生物体液中的外泌体进行分离纯化。通过离心可以将悬液中不同密度、大小和形状 of 细胞或细胞碎片等成分去除,通常密度大或者粒径大的最先被沉淀下来,最后留下纳米级小囊泡,即外泌体^[4]。为了提高纯度,更精确地分离出外泌体,还可以使用蔗糖密度梯度超速离心法,得到的外泌体主要聚集在密度为 1.10~1.21 g/mL 的区域^[5]。蔗糖密度梯度超速离心法对仪器设备的要求不高,一般实验室都能满足,并且操作简便,提取效率较高。另外,还有依据粒径大小的分离提取法,该方法有的是通过特殊结构的过滤网去除大颗粒杂质,有的是采用尺寸排阻色谱法进行分离纯化,还有的是利用化合物吸附法将外泌体从混合液中吸附出来^[6]。此外,还有免疫磁珠分选法,即根据外泌体表面所携带的特异性标志物如 CD63 跨膜蛋白,先将磁珠上包被抗 CD63 抗体,然后将带有抗体的磁珠与样品共孵育数分钟,再利用磁力架将外泌体吸附并分离出来^[7]。透射电子显微镜技术是外泌体表征鉴定的金标准,外泌体经过固定、脱水等步骤后,在电子显微镜下可清晰看出外泌体的形态学外观。由于外泌体来源于多泡内体,其表面通常含有 CD9、CD63 和 CD81 等特异性蛋白^[8],因此还可以通过流式细胞术和免疫印迹分析法等对其进行鉴定。

2 外泌体中的糖蛋白

2.1 外泌体糖蛋白分类 目前对外泌体中 miRNA、lincRNA 等的作用和功能研究报道较多,而对于生命物质基础的蛋白质少有报道。糖蛋白作为蛋白质翻译后修饰的产物,其功能作用值得研究。糖蛋白是蛋白质通过糖基化与寡糖链共价相连构成的分子。糖基化是一种常见的蛋白质翻译后修饰形式,分为 4 类: N-糖基化、O-糖基化、糖

基磷脂酰肌醇(glycophosphatidylinositol, GPI)锚定糖基化和 C-糖基化,其中 N-糖基化和 O-糖基化是最常见的两种^[9]。在 N-糖基化中,寡糖链通过氮原子与蛋白质的天冬酰胺侧链共价结合。通常,与天冬酰胺残基相连的糖是 N-乙酰氨基葡萄糖。N-糖基化起始于内质网中,在此过程中寡糖前体转移至新生多肽链中的共有受体序列 NXS/T 上,即天冬酰胺-任意氨基酸-丝氨酸/苏氨酸组成的序列。寡糖前体在内质网中经糖苷酶和糖基转移酶的作用后再经高尔基体进一步加工形成糖蛋白,后者被运送至质膜、溶酶体或胞外环境中,从而发挥各种生物学功能。根据结构进一步分类, N-糖链通常可以分为 3 类:高甘露糖型、复合型和混合型,但三者都有一个共同的五糖核心结构(Man₃GlcNAc₂)连接着蛋白质的天冬酰胺残基^[10]。对于 O-糖基化,糖链通过氧原子结合到蛋白质多肽链的丝氨酸、苏氨酸、羟赖氨酸或羟脯氨酸残基的侧链。主要的一类 O-连接糖蛋白是黏蛋白,其中与丝氨酸或苏氨酸残基相连的糖是 N-乙酰半乳糖胺。在高尔基体中,黏蛋白的 O-糖基化会通过糖基转移酶的催化依次加入单糖残基。黏蛋白通常会被高度糖基化,并且它们可以附着在细胞膜上或被分泌到细胞外。

2.2 糖蛋白分析技术 糖蛋白分子结构复杂,在一条糖链上可以形成很多分支结构,并且可能存在不同类型的糖苷键,在端基异构碳原子处的连接可以是 α 或 β 连接。蛋白质糖基化作为最重要的翻译后修饰形式之一,与蛋白质的多种生物学功能密切相关,如蛋白质的表达、定位和降解等^[11]。目前针对糖蛋白的研究主要从以下几方面开展:(1)糖蛋白与聚糖(或糖肽)的分离富集。通常可以利用凝集素印迹、凝集素芯片或凝集素亲和纯化等^[12]方法进行糖蛋白与聚糖(或糖肽)的分离富集。抗体是一类比凝集素特异性更强、结合力更高的免疫球蛋白,特定糖表位的抗聚糖抗体可用于对糖蛋白进行识别富集^[13]。此外,还可通过胍解反应获得 N-聚糖^[14]。(2)对糖链结构和糖基化位点分析。以 N-糖链结构为例,通常糖蛋白在糖苷内切酶肽 N-糖苷酶 F(PNGase F)的作用下释放得到 N-聚糖,内切酶可以从糖蛋白上完整地切下糖链,同时将蛋白质上原糖基化位点的天冬酰胺水解变成天冬氨酸,然后利用质谱鉴

定确定 *N*-糖基化位点的位置。(3) 聚糖的鉴定与分析。对聚糖的鉴定通常会利用液体层析和质谱技术, 包括高/超高效液相色谱 (high-/ultra-high-performance liquid chromatography, H/UPLC)、高效阴离子交换液相色谱结合脉冲安培检测 (high-performance anion-exchange liquid chromatography with pulse amperometric detection, HPAEC-PAD) 和质谱技术^[15]。为了确定连接类型, 还可以使用串联质谱、内切酶和外切糖苷酶消化以及甲基化分析等技术^[16]。糖蛋白表面的聚糖异质性和多变性使得聚糖构象研究十分困难, 在某些情况下, 会利用 X 射线晶体学揭示其构象。由于糖蛋白分子糖链结构复杂, 为了阐明糖蛋白的具体结构, 通常情况下会将以上方法结合使用, 从而达到优势互补的目的。

3 外泌体糖蛋白与肿瘤

3.1 外泌体糖蛋白与肿瘤诊断 外泌体的脂质双分子层结构使得其在循环中可以稳定存在而不被降解, 而其内容物如核酸、蛋白质、脂质等也因此有可能作为稳定的肿瘤标志物。Melo 等^[17]利用质谱分析发现, 一种细胞表面蛋白多糖磷脂酰肌醇蛋白聚糖 1 (glypican 1, GPC1) 在肿瘤细胞分泌的外泌体中表达量较高。胰腺癌患者血清外泌体中的 GPC1 表达量与健康对照组相比有明显差异, 并且进一步发现 GPC1 的表达量可以用来鉴别胰腺癌的早期和晚期阶段^[17]; 血清外泌体中的 GPC1 可以作为胰腺癌早期诊断的可靠生物标志物, 并且效果优于糖类抗原 19-9 (carbohydrate antigen 19-9, CA19-9)^[17]。Li 等^[18]研究发现, 结直肠癌患者血清外泌体中的 GPC1 还能作为 III 期结直肠癌复发的监测标志, GPC1 能够通过激活成纤维细胞生长因子—成纤维细胞生长因子受体 (fibroblast growth factor-fibroblast growth factor receptor, FGF-FGFR) 通路, 促进上皮间质转化 (epithelial-mesenchymal transition, EMT), 从而增强肿瘤细胞的侵袭和迁移能力。此外, 还有研究发现, 结直肠癌细胞分泌的外泌体中, 异常 *N*-乙酰葡萄糖胺修饰的 *O*-连接糖蛋白 (*O*-GlcNAc) 可以作为转移性结直肠癌的潜在生物标志物^[19]。通常, 转移性结直肠癌细胞分泌的外泌体中, 异常 *N*-乙酰葡萄糖胺修饰的 *O*-连接糖蛋白表达升高^[20]。

3.2 外泌体糖蛋白与肿瘤发生、发展和转移 肿瘤的发生、发展与外泌体密切相关, 肿瘤细胞分泌的外泌体中糖蛋白的变化会影响肿瘤的生物特性。Roccaro 等^[21]研究发现, 多发性骨髓瘤患者的骨髓间充质基质细胞 (bone marrow-derived mesenchymal stromal cell, BM-MSC) 分泌的外泌体能够促进多发性骨髓瘤细胞的增殖, 并且使得肿瘤更易转移。多发性骨髓瘤 BM-MSC 外泌体中除了富含某些致癌蛋白和细胞因子外, 还含有大量黏附分子——纤连蛋白 (fibronectin, FN)。FN 是一种大分子糖蛋白, 相对分子质量约为 450 000, 具有多种生物活性, 微环境中 FN 的变化能促进多发性骨髓瘤细胞的生长及远处播散。细胞在组织中的运动是一个复杂的过程, 需要多种因素共同作用。肿瘤细胞穿越组织向远处播散也要经历这一过程。Sung 等^[22]在成纤维肉瘤 HT1080 细胞系模型中发现, 肿瘤细胞能通过自分泌外泌体的方式增强细胞的迁移能力。其机制是外泌体内含有的 FN 与细胞整合素形成 FN- $\alpha 5\beta 1$ 复合体, 从而促进细胞的黏附聚集和迁移^[22]。

3.3 外泌体糖蛋白与肿瘤免疫 外泌体不仅与肿瘤发生有关, 还与肿瘤的免疫逃避和抗药性相关。近年研究发现, 肿瘤细胞之间可通过外泌体中的糖蛋白传递耐药性^[23]。对紫杉醇耐药的肿瘤细胞高表达 P-糖蛋白 (P-glycoprotein, P-gp), 其所分泌的外泌体也富含 P-gp^[23]。对紫杉醇敏感的 MCF-7/S 乳腺癌细胞系通过吸收邻近对紫杉醇耐药的 MCF-7/DOC 乳腺癌细胞系分泌的外泌体, 从而获得对紫杉醇的耐药性^[24]。这种通过分泌吸收外泌体中糖蛋白获得耐药性的方式是导致肿瘤细胞耐药的主要机制之一。调节性 T 细胞 (regulatory T cell, Treg) 属于免疫抑制性 T 细胞, 其能分泌具有免疫抑制功能的细胞因子, 抑制机体对病原的免疫应答。当肿瘤发生时, Treg 的出现会抑制机体的抗肿瘤免疫反应。Wieckowski 等^[25]研究发现, 起源于头颈部皮肤的鳞状细胞癌细胞系 PCI-13 分泌的外泌体含有肿瘤相关抗原和可诱导共刺激分子配体 (inducible co-stimulator ligand, ICOSL), 这种糖蛋白可促进 $CD4^+$ T 淋巴细胞向 Treg 分化, 并且能促进 Treg 的增殖, 从而抑制机体对肿瘤的免疫反应。人表皮生长因子受体 2 (epidermal growth factor receptor 2, HER2) 属于一种跨膜的

糖蛋白,同时细胞内存在具有酪氨酸激酶活性的结构域。HER2在多种类型的肿瘤中均过表达,大约20%的乳腺癌存在HER2基因和蛋白质的过表达^[26]。近年研究发现肿瘤细胞来源的外泌体包含的HER2可以激活单核细胞中的丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)通路,从而影响肿瘤相关巨噬细胞的形成,抑制肿瘤免疫^[27]。

4 外泌体糖蛋白与非肿瘤性疾病

外泌体不仅与肿瘤的发生、发展相关,还与很多非肿瘤性疾病相关。正常生理情况下,肝细胞能分泌含有代谢所需酶的外泌体到肝外微环境,如谷胱甘肽S-转移酶(glutathione S-transferase, GST),由肝细胞分泌的外泌体对于机体维持内环境的稳定和物质代谢至关重要^[28]。Li等^[29]发现,在小鼠四氯化碳(CCl₄)肝损伤模型中,利用人脐带间充质干细胞(human umbilical cord mesenchymal stem cell, hucMSC)来源的外泌体能减轻肝损伤和促进修复。hucMSC来源的外泌体可能通过其表面黏附分子(属于糖蛋白)抑制CCl₄激活的TGF- β -Smad通路,从而抑制肝细胞纤维化时的EMT,并减缓了CCl₄导致的肝纤维化进展。还有文献报道,外泌体糖蛋白与阿尔茨海默病(Alzheimer disease, AD)有关。Hamlett等^[30]研究发现,从唐氏综合征(Down's syndrome, DS)患者血清样本中提取的神经元细胞来源的外泌体,其含有的 β -淀粉样蛋白多肽和磷酸化的tau蛋白水平的升高能够帮助判断DS患者是否合并AD,有利于临床上对DS合并AD的早期诊断,从而也有助于对AD的早期预防和早期治疗。

5 小结

随着人们对外泌体的研究越来越火热,外泌体的功能逐渐受到研究者重视,其内容物如核酸、蛋白质、脂类的作用也逐渐被人们所挖掘。近年的研究大部分集中在外泌体中mRNA、miRNA和lincRNA上,而对其中的糖蛋白功能作用研究较少,因此本文针对外泌体中糖蛋白在肿瘤等疾病中的作用作了简要综述。外泌体因其脂质双分子层膜结构的稳定性,使得其在循环和组织液中能被检测到,而其中的糖蛋白的异质性让外泌体应用于肿瘤的诊断成为可能。外泌体中糖蛋白还与肿瘤的发生、发展及肿瘤免疫相关,使得外泌体还有可能

应用于肿瘤的治疗。此外,在一些非肿瘤性疾病中,外泌体中糖蛋白也能发挥一定的治疗作用,但具体机制仍需进一步研究。总之,外泌体中糖蛋白在许多疾病中被发现且具有不容忽视的生物学作用,其功能作用和应用价值值得深入探索和研究。

[参考文献]

- [1] MASYUK A I, MASYUK T V, LARUSSO N F. Exosomes in the pathogenesis, diagnostics and therapeutics of liver diseases[J]. *J Hepatol*, 2013, 59: 621-625.
- [2] WUBBOLTS R, LECKIE R S, VEENHUIZEN P T, SCHWARZMANN G, MÖBIUS W, HOERNSCHEMEYER J, 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: 10963-10972.
- [3] BU N, WU H Q, ZHANG G L, ZHAN S Q, ZHANG R, FAN Q Y, et al. Immature dendritic cell exosomes suppress experimental autoimmune myasthenia gravis[J]. *J Neuroimmunol*, 2015, 285: 71-75.
- [4] LI P, KASLAN M, LEE S H, YAO J, GAO Z. Progress in exosome isolation techniques[J]. *Theranostics*, 2017, 7: 789-804.
- [5] MIRANDA K C, BOND D T, LEVIN J Z, ADICONIS X, SIVACHENKO A, RUSS C, et al. Massively parallel sequencing of human urinary exosome/microvesicle RNA reveals a predominance of non-coding RNA[J/OL]. *PLoS One*, 2014, 9: e96094. doi: 10.1371/journal.pone.0096094.
- [6] COUCHMAN J R, MULTHAUPT H, SANDERSON R D. Recent insights into cell surface heparan sulphate proteoglycans and cancer[J/OL]. *F1000Res*, 2016, 5. pii: F1000 Faculty Rev-1541. doi: 10.12688/f1000research.8543.1.
- [7] AHMED M, CHEUNG N K. Engineering anti-GD2 monoclonal antibodies for cancer immunotherapy[J]. *FEBS Lett*, 2014, 588: 288-297.
- [8] SINHA A, PRINCIPE S, ALFARO J, IGNATCHENKO A, IGNATCHENKO V, KISLINGER T. Proteomic profiling of secreted proteins, exosomes, and microvesicles in cell culture conditioned media[J]. *Methods Mol Biol*, 2018, 1722: 91-102.
- [9] FUSTER M M, ESKO J D. The sweet and sour of cancer: glycans as novel therapeutic targets[J]. *Nat Rev Cancer*, 2005, 5: 526-542.
- [10] FAIRBANKS A J. The ENGases: versatile biocatalysts for the production of homogeneous N-linked glycopeptides and glycoproteins[J]. *Chem Soc Rev*, 2017,

- 46: 5128-5146.
- [11] SCHÄFFER C, MESSNER P. Emerging facets of prokaryotic glycosylation[J]. *FEMS Microbiol Rev*, 2017, 41: 49-91.
- [12] THAYSENANDERSEN M, PACKER N H, SCHULZ B L. Maturing glycoproteomics technologies provide unique structural insights into the *N*-glycoproteome and its regulation in health and disease[J]. *Mol Cell Proteomics*, 2016, 15: 1773-1790.
- [13] MACHADO E, KANDZIA S, CARILHO R, ALTEVOGT P, CONRADT H S, COSTA J. *N*-Glycosylation of total cellular glycoproteins from the human ovarian carcinoma SKOV3 cell line and of recombinantly expressed human erythropoietin[J]. *Glycobiology*, 2011, 21: 376-386.
- [14] GOMES J, GOMES-ALVES P, CARVALHO S B, PEIXOTO C, ALVES P M, ALTEVOGT P, et al. Extracellular vesicles from ovarian carcinoma cells display specific glycosignatures[J]. *Biomolecules*, 2015, 5: 1741-1761.
- [15] STOWELL S R, JU T, CUMMINGS R D. Protein glycosylation in cancer[J]. *Annu Rev Pathol*, 2015, 10: 473-510.
- [16] KUDELKA M R, ANTONOPOULOS A, WANG Y, DUONG D M, SONG X, SEYFRIED N T, et al. Cellular *O*-glycome reporter/amplification to explore *O*-glycans of living cells[J]. *Nat Methods*, 2016, 13: 81-86.
- [17] MELO S A, LUECKE L B, KAHLERT C, FERNANDEZ A F, GAMMON S T, KAYE J, et al. Glypican-1 identifies cancer exosomes and detects early pancreatic cancer[J]. *Nature*, 2015, 523: 177-182.
- [18] LI J, LI B, REN C, CHEN Y, GUO X, ZHOU L, et al. The clinical significance of circulating GPC1 positive exosomes and its regulative miRNAs in colon cancer patients[J]. *Oncotarget*, 2017, 8: 101189-101202.
- [19] KOBATA A. Exo- and endoglycosidases revisited[J]. *Pro Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci*, 2013, 89: 97-117.
- [20] CHAIYAWAT P, WEERAPHAN C, NETSIRISAWAN P, CHOKCHAICHAMNANKIT D, SRISOMSAP C, SVASTI J, et al. Elevated *O*-glcnaacylation of extracellular vesicle proteins derived from metastatic colorectal cancer cells[J]. *Cancer Genomics Proteomics*, 2016, 13: 387-398.
- [21] ROCCARO A M, SACCO A, MAISO P, AZAB A K, TAI Y T, REAGAN M, et al. BM mesenchymal stromal cell-derived exosomes facilitate multiple myeloma progression[J]. *J Clin Invest*, 2013, 123: 1542-1555.
- [22] SUNG B H, KETOVA T, HOSHINO D, ZIJLSTRA A, WEAVER A M. Directional cell movement through tissues is controlled by exosome secretion[J/OL]. *Nat Commun*, 2015, 6: 7164. doi: 10.1038/ncomms8164.
- [23] LÜ M M, ZHU X Y, CHEN W X, ZHONG S L, HU Q, MA T F, et al. Exosomes mediate drug resistance transfer in MCF-7 breast cancer cells and a probable mechanism is delivery of P-glycoprotein[J]. *Tumor Biol*, 2014, 35: 10773-10779.
- [24] SAFAEI R, LARSON B J, CHENG T C, GIBSON M A, OTANI S, NAERDEMANN W, et al. Abnormal lysosomal trafficking and enhanced exosomal export of cisplatin in drug-resistant human ovarian carcinoma cells[J]. *Mol Cancer Ther*, 2005, 4: 1595-1604.
- [25] WIECKOWSKI E U, VISUS C, SZAJNIK M, SZCZEPANSKI M J, STORKUS W J, WHITESIDE T L. Tumor-derived microvesicles promote regulatory T cell expansion and induce apoptosis in tumor-reactive activated CD8⁺ T lymphocytes[J]. *J Immunol*, 2009, 183: 3720-3730.
- [26] KRISHNAMURTI U, SILVERMAN J F. HER2 in breast cancer: a review and update[J]. *Adv Anat Pathol*, 2014, 21: 100-107.
- [27] SONG X, DING Y, LIU G, YANG X, ZHAO R, ZHANG Y, et al. Cancer cell-derived exosomes induce mitogen-activated protein kinase-dependent monocyte survival by transport of functional receptor tyrosine kinases[J]. *J Biol Chem*, 2016, 291: 8453-8464.
- [28] CONDE-VANCELLS J, GONZALEZ E, LU S C, MATO J M, FALCON-PEREZ J M. Overview of extracellular microvesicles in drug metabolism[J]. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*, 2010, 6: 543-554.
- [29] LI T, YAN Y, WANG B, QIAN H, ZHANG X, SHEN L, et al. Exosomes derived from human umbilical cord mesenchymal stem cells alleviate liver fibrosis[J]. *Stem Cells Dev*, 2013, 22: 845-854.
- [30] HAMLETT E D, GOETZL E J, LEDREUX A, VASILEVKO V, BOGER H A, LAROSA A, et al. Neuronal exosomes reveal Alzheimer's disease biomarkers in Down syndrome[J]. *Alzheimers Dement*, 2017, 13: 541-549.