

DOI: 10.13376/j.cblls/2021081

文章编号: 1004-0374(2021)06-0759-07

外泌体源性microRNAs在肺癌转移及 早期诊断中的研究进展

冉晶晶, 李彤, 缪治永, 金珂*

(四川大学华西医院人类疾病和免疫治疗实验室, 成都 610041)

摘要: 肺癌转移是导致肺癌高死亡率的最重要原因。外泌体是由多种活细胞释放到胞外的直径为 30~150 nm 的微囊泡。其中, 肿瘤细胞, 尤其是肺癌细胞分泌的外泌体通过向临近和远端的受体细胞传递 microRNAs (miRNAs), 从而调控转移细胞的远端定植及血管新生等过程。此外, 肺癌细胞来源的外泌体 miRNAs 可以表征肿瘤细胞的病理和生理状态, 因此, 在肺癌的早期诊断、预测和生存预后中具有重要的应用价值。该综述主要对外泌体 miRNAs 在肺癌转移过程中的调控作用及其作为早期诊断标志物的潜在应用价值进行介绍。

关键词: 外泌体 miRNAs; 肺癌转移; 早期诊断标志物

中图分类号: R734.2 文献标志码: A

Research progress of exosomal microRNAs in lung cancer metastasis and their roles in early diagnosis

RAN Jing-Jing, LI Tong, MIAO Zhi-Yong, JIN Ke*

(Laboratory of Human Diseases and Immunotherapies, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, China)

Abstract: Metastasis is the most leading cause of high mortality of lung cancer. Exosomes, small extracellular microvesicles whose diameters range from 30 to 150 nm, are released by various living cells. Exosomes derived from tumour cells, especially lung cancer cells, can regulate distant colonization and angiogenesis of metastatic lung cancer cells by transferring microRNAs (miRNAs) to the neighboring and distant recipient cells. Moreover, exosomal miRNAs originated from lung cancer cells can represent the pathological and physiological states of tumour cells, thus possessing a predominant application value in the early diagnosis, prediction and survival prognosis of lung cancer. In this review, we will focus on discussing the roles of exosomal miRNAs in lung cancer metastasis and their potential application value as biomarkers for the early diagnosis of lung cancer.

Key words: exosomal miRNAs; lung cancer metastasis; early diagnostic biomarker

肺癌是全球最常见且致命性最强的癌症, 分别占全部癌症新发病例和死亡病例的 11.6% 和 18.4%^[1]。原发肺癌病例的 85% 为非小细胞肺癌, 包括腺癌、鳞癌和大细胞癌^[2]。近年来, 除了常规的放化疗手段和手术切除外, 临床上用于治疗肺癌的新方法主要分为两类: 其一为肺癌典型标志物的靶向药物, 如针对表皮生长因子受体 (epidermal growth factor receptor, EGFR)、间变性淋巴瘤激酶 (anaplastic lymphoma kinase, ALK) 和原癌基因 BRAF (proto-onco-

genic B-raf) 突变而研发的小分子靶向抑制剂; 其二为拮抗免疫检查点分子的免疫疗法, 如针对细胞程序性死亡受体 1 (programmed death receptor 1, PD-1) 及其配体 (programmed death ligand 1, PD-L1) 研发的单克隆抗体治疗^[3-5]。尽管以上治疗手段已取得

收稿日期: 2020-12-14; 修回日期: 2021-03-02

基金项目: 国家自然科学基金青年项目(81902947)

*通信作者: E-mail: jinke@wchscu.cn

了显著的进展,但肺癌的五年生存率仍较低,约为15%^[6]。早期诊断标志物的缺乏是导致肺癌患者不良预后的主要原因,患者确诊时往往已发生癌细胞的远端扩散,导致治疗失败。因此,找到代表肺癌早期发生发展的标志物并开发相应的检测手段迫在眉睫。

研究证实,相较于 tRNA-derived small RNAs (tsRNA) 和 Piwi-interacting RNA (piRNA),成熟的 microRNAs (miRNAs) 是长度为 19~25 nt 的单链 RNA,其属于非编码小 RNA 的一种。到目前为止,miRNAs 在多种肿瘤中的作用机制已被研究得比较清楚。多数 miRNAs 在 RNA 聚合酶 II 的作用下形成具有发夹结构的初级 miRNAs (pri-miRNAs),pri-miRNAs 被 Drosha-DGCR8 复合体识别后剪切成大小约 60 nt 的 pre-miRNAs,并通过 Exportin 5 和 Ran-GTP 复合体转运至胞质。胞质中的 Dicer 酶可将其剪切成双链的 miRNAs,其中一条引导链被剪切成 22 nt 的成熟 miRNAs,并与 Argonaute (AGO) 蛋白装载形成 RNA 诱导沉默复合体 (RNA-induced silencing complex, RISC),最终发挥其生物学功能^[7]。miRNAs 可选择性地通过两种方式抑制靶基因的表达,其一:miRNAs 导向的剪切模式,即 miRNAs 与 AGO 蛋白形成的 RISC 复合体具有 5' 端核酸内切酶的活性,因此 miRNAs-RISC 复合体可直接通过降解 mRNA 的 5' 端片段从而抑制蛋白的表达;其二:如果 miRNAs 的种子序列 (2~7 nt) 与靶 mRNA 的 3' UTR (untranslated region) 区碱基形成 Watson-Crick 配对,则 miRNAs 靶向抑制 mRNA 的转录后翻译,进而抑制靶蛋白的表达^[8]。既然 miRNAs 可选择性地通过其潜在的机制抑制靶蛋白的表达,那么 miRNAs 在肿瘤细胞增殖、迁移和转移等多种生物学过程中发挥的作用值得被广泛地研究^[9-10]。

肿瘤转移是一个极其复杂的渐进式发展过程,可分为多个阶段,包括原发肿瘤细胞增殖、血管新生、侵袭基底膜、侵入循环系统、靶器官定植,并最终形成远端转移灶;该过程实质上是一小部分原发肿瘤细胞在局部微环境的生存压力(如低氧、代谢应激和氧化应激等)下被动形成的一种适应性行为^[11]。大量研究表明,肿瘤细胞释放的外泌体源性的 miRNAs 广泛参与调控肿瘤细胞的这种适应性行为,并在一定程度上反映了肿瘤转移不同阶段的特征^[12-14]。因此,发现并论证高可靠性、高灵敏度、高特异性的新型肺癌外泌体来源的 miRNAs,对肺癌早期诊断及靶向控制肺癌后期转移具有重要意义。

1985 年, Pan 等^[15]在观察绵羊网织红细胞表面转铁蛋白受体成熟的过程中,首次发现多囊泡体 (multivesicular bodies, MVBs) 与细胞质膜融合后外排释放出直径大约 50 nm 的微囊泡小体的现象,该小体被称为外泌体。外泌体是由多种活细胞释放到胞外的直径为 30~150 nm 的微囊泡,其具有磷脂双分子层膜结构^[16]。外泌体中包裹有多种供体细胞来源的活性物质,如蛋白质、脂质、各类代谢产物、DNA 和非编码 RNA 等,其中非编码 RNA 包括 miRNAs、长链非编码 RNA (long non-coding RNAs, lncRNAs) 和环状 RNA (circular RNAs, circRNAs)^[17]。外泌体通常包含多种特征性的蛋白,如热休克蛋白 70 (heat shock protein, HSP70)、HSP90、CD9、CD63、CD81 和肿瘤易感基因 101 蛋白 (tumour susceptibility gene 101, TSG101) 等,因此检测以上标志物的蛋白表达水平可在一定程度上鉴定分离所获外泌体的丰度^[18-20]。目前的研究表明,肿瘤细胞来源的外泌体作为细胞间信息通讯和物质交换的信使,在肿瘤发生发展及其转移过程中发挥重要的作用,而肿瘤细胞来源的外泌体 miRNAs 更是因其在体液中的稳定存在性和独特的转录后调控功能成为控制肿瘤转移的优良靶点^[21]。已有多项研究证实,肺癌细胞通过释放外泌体 miRNAs 调控癌细胞的增殖和血管新生等过程,最终促进转移发生^[22]。此外,肺癌细胞来源的外泌体 miRNAs 还能在一定程度上表征供体肺癌细胞的独特表型,因而具备作为临床肺癌早期诊断标志物的可能。

本综述将主要阐述外泌体 miRNAs 在肺癌转移过程中的作用及其在早期诊断中的应用价值。

1 外泌体 miRNAs 在肺癌转移过程中的作用

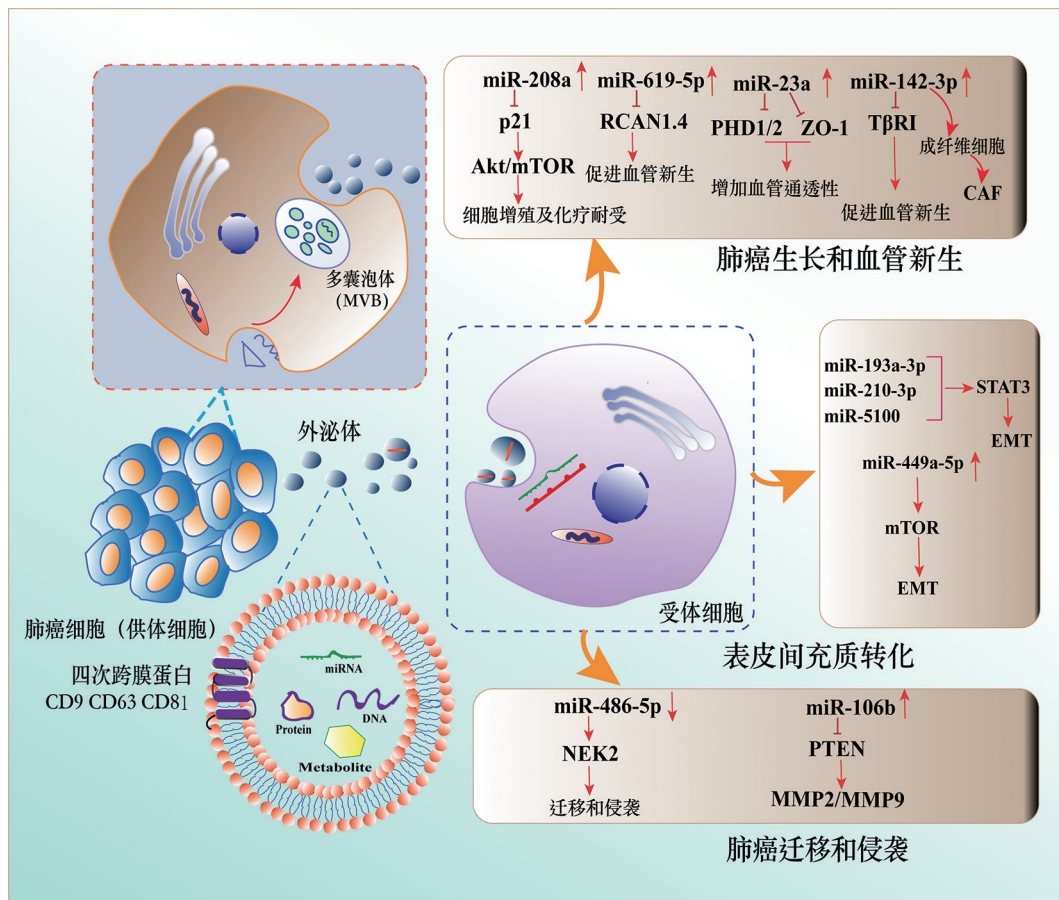
1.1 外泌体 miRNAs 参与调控肿瘤生长和血管新生

Tang 等^[23]证实,肺癌患者经过化疗后,其血清外泌体中高表达 miR-208a,其靶向抑制由 p53 诱导的靶蛋白 p21 的表达,同时通过激活 Akt/mTOR 信号通路促进肺癌细胞的增殖,抑制细胞凋亡,使肺癌患者化疗耐受。同样地,Wei 等^[24]的研究也证实了外泌体 miR-222-3p 可促进肿瘤细胞增殖,其机制为耐药株 gemcitabine-resistant (GR) -A549 细胞通过外泌体向受体细胞 A549-P 传递大量 miR-222-3p,该 miRNA 通过靶向 SOCS3 (suppressor of cytokine signaling 3) 蛋白促进肿瘤细胞的增殖、迁移和侵袭,并产生对吉西他滨的耐药性。外泌体 miRNAs 参与调控肿瘤生长,不仅存在正向调控,而且存在

负向调控模式。例如, 研究人员证实人脐静脉内皮细胞 (human umbilical vein endothelial cells, HUVECs) 释放的外泌体 miR-126 被非小细胞肺癌细胞摄取后能抑制细胞增殖, 该过程通过 miR-126 靶向胰岛素受体底物 -1 (insulin receptor substrate-1, IRS1) 和血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) 从而发挥作用^[25]。

血管新生对肿瘤的转移具有驱动作用, 而低氧条件被认为是肿瘤血管新生的重要内因。Kim 等^[26]研究证实, 相较于常氧条件, 低氧可显著促进肺癌细胞 A549 分泌更多的外泌体, 该外泌体中富含 miR-619-5p, HUVECs 可通过摄取这些外泌体进而促进其迁移和血管生成能力; 进一步的研究证实, miR-619-5p 通过靶向抑制人钙调神经磷酸酶 1 调节因子 (human regulator of calcineurin 1, RCAN1.4) 的表达, 从而促进肿瘤血管生成和转移。Hsu 等^[27]证实, 低氧还可诱导肺癌细胞外泌体中 miR-23a 显著上调, 其通过靶向抑制脯氨酰羟化酶 1 (prolyl hydroxylase 1,

PHD1)、PHD2 和紧密连接蛋白 ZO-1 (zonula occludens-1) 的表达, 增加血管通透性, 从而促进肺癌细胞跨内皮细胞迁移, 最终形成转移。以上研究均证明低氧环境可诱导特定外泌体 miRNAs 的表达, 从而调控靶基因的功能, 最终促进肺癌转移, 但其侧重阐明的机制各不相同。Kim 等^[26]侧重于阐明肺癌外泌体 miRNAs 的促血管生成作用, 而 Hsu 等^[27]则侧重于阐明 miRNAs 可改变血管通透性, 从而促进癌细胞转移。此外, 另有研究表明, 肺腺癌细胞分泌的外泌体高度富集 miR-142-3p, 该 miRNA 一方面通过靶向抑制转化生长因子- β I 型受体 (transforming growth factor- β receptor I, T β RI) 的表达从而促进血管生成, 另一方面通过促进基质成纤维细胞转变成肿瘤相关成纤维细胞 (cancer associated fibrocyte, CAF) 从而支持肺癌细胞转移^[28]。以上研究表明, 肺癌细胞可通过分泌外泌体向靶细胞传递 miRNAs, 影响靶细胞关键基因的表达或诱导其表型发生改变, 加速血管新生, 进而促进肺癌转移 (如图 1A)。



A: 外泌体miRNAs参与调控肿瘤生长和血管新生; B: 外泌体miRNAs促进EMT; C: 外泌体miRNAs介导肺癌细胞迁移和侵袭。

图1 肺癌细胞分泌的外泌体miRNAs在肺癌转移过程中的作用

1.2 外泌体miRNAs促进上皮-间充质转化

上皮-间充质转化 (epithelial-to-mesenchymal transition, EMT) 在肿瘤转移过程中发挥主导作用^[29]。Zhang 等^[30]的研究表明, 低氧条件下培养的骨髓间充质干细胞 (bone marrow mesenchymal stem cells, BMSCs) 通过释放外泌体向肺癌细胞传递 miR-193a-3p、miR-210-3p 和 miR-5100, 显著上调肺癌细胞信号转导与转录激活蛋白 3 (signal transducer and activator of transcription 3, STAT3) 的表达并诱导其发生 EMT, 进而促进肺癌转移。此外, 高转移潜能的肺癌细胞分泌的外泌体中包含高丰度的 miR-449a-5p, 该 miRNA 通过激活 mTOR 信号通路并促进 EMT, 从而增强肺腺癌细胞增殖、迁移和转移能力^[31] (图 1B)。研究证实, 与上皮样 A549 细胞相比, 间充质样 A549 细胞分泌的外泌体包含 miR-23a, 该 miRNA 可通过靶向 E-Cadherin 蛋白来介导转化生长因子- β (transforming growth factor β , TGF- β) 诱导的 EMT 过程, 进而促进肺癌转移^[32]。

1.3 外泌体miRNAs介导肺癌细胞迁移和侵袭

Hu 等^[33]研究发现, 相较于正常人群血清来源的外泌体, miR-486-5p 在肺腺癌患者血清来源的外泌体中呈显著低表达; 进一步研究发现, 该 miRNA 通过靶向上调 NIMA 相关激酶 2 (NIMA associated kinase 2, NEK2) 的表达; 促进肺癌细胞 A549 和 H1-650 的增殖、迁移和侵袭, 从而促进肺癌转移。Sun 等^[34]发现, 肺癌外泌体 miR-106b 的高表达可通过靶向抑制磷酸酶和张力蛋白同源物 (phosphatase and tensin homolog, PTEN) 的表达, 同时上调基质金属蛋白酶 2 (matrix metalloproteinase 2, MMP2) 和 MMP9 的表达, 最终促进肺癌转移 (图 1C)。另外一项研究表明, 肺癌细胞可分泌包含 miR-21 和 miR-29 的外泌体, 以上 miRNAs 可作为配体, 激活免疫细胞受体 TLR8 和 TLR7 (toll-like receptor 7/8, TLR7/8), 激活下游 NF- κ B (nuclear factor κ B) 信号通路, 从而诱导免疫细胞在转移前远端微环境中分泌炎症因子 IL-6 (interleukin-6) 和 TNF- α (tumor necrosis factor α), 进而促进肿瘤增殖和转移^[35]。

2 外泌体miRNAs在肺癌诊断中的应用价值

2.1 外泌体miRNAs可作为肺癌早期诊断标志物

血液中的外泌体具有获取便捷且侵入性小的优势, 因此, 肺癌患者血清来源的外泌体 miRNAs 具有应用于肺癌早期诊断的潜在价值^[36]。Wu 等^[37]的研究表明, 外泌体 miR-96 与肺癌侵袭密切相关,

提示此 miRNA 有望成为非小细胞肺癌的早期诊断标志物。此外, 研究人员还发现, 肺腺癌患者胸腔积液来源的外泌体中高表达 miR-182 和 miR-210, 以上两种 miRNAs 有望成为鉴别良性胸腔积液和肺腺癌伴恶性胸腔积液的早期诊断标志物^[38]。另有研究表明, 联合 miR-193a-3p、miR-210-3p 和 miR-5100 可有效鉴别肺癌转移和非转移患者^[30]。再如, 研究者通过二代测序技术分析 46 名 I 期非小细胞肺癌患者和 42 名健康人血清来源的外泌体 miRNA 样本, 分别发现并论证了肺腺癌和鳞癌的特征性 miRNAs, 其中 miR-181-5p、miR-30a-3p、miR-30e-3p 和 miR-361-5p 可特异性表征肺腺癌, 而 miR-10b-5p、miR-15b-5p 和 miR-320b 则特异性表征肺鳞癌^[39]。Zhang 等^[40]发现, 与健康群体相比, 非小细胞肺癌患者血清来源的外泌体 miR-17-5p 表达水平更高, 提示其具有作为早期诊断标志物的潜能, 研究者可将其与传统标志物联合使用, 以提高肺癌早期诊断的敏感性和特异性。

2.2 外泌体miRNAs可作为肺癌预后及化疗疗效的标志物

肺癌患者血清来源的外泌体 miRNAs 还能间接反映患者的预后情况。例如, 研究者通过收集、分离、提取并检测 100 例晚期非小细胞肺癌患者血清外泌体中 miR-146a-5p 的表达水平, 发现晚期非小细胞肺癌患者血清外泌体低表达 miR-146a-5p 与患者的高复发率呈正相关^[41]。而在尘肺患者血液来源的外泌体中, let-7a-5p 的低表达预示着肺腺癌的发生以及较低的生存率^[42]。Liu 等^[43]研究发现, 早期非小细胞肺癌患者血清来源的外泌体 miR-216b 表达水平上调, 而在中晚期患者血清中其表达水平显著降低且患者好发淋巴结转移, 提示外泌体 miR-216b 可作为非小细胞肺癌患者不良预后的标志物。另外, 血清外泌体 miR-222-3p 的表达水平与非小细胞肺癌患者的预后呈负相关^[24]。在基于微阵列分析非小细胞肺癌患者血清外泌体 miRNA 的研究中, 研究人员发现 miR-21 和 miR-4257 表达水平的显著上调与肺癌的复发呈正相关^[44]。

除此之外, 非小细胞肺癌患者血浆来源的外泌体 miRNAs 还与铂类化合物化疗疗效密切相关。研究证实, 非小细胞肺癌患者血浆来源的外泌体 miRNA-32 可作为预测非小细胞肺癌铂类化疗药物疗效及预后情况的标志物^[45]。此外, Yuwen 等^[46]证实, 外泌体 miR-425-3p 在非小细胞肺癌中也可作为指征铂类化合物化疗疗效的生物标志物。

以上研究表明, 外泌体 miRNAs 在肺癌早期诊断、预测化疗疗效和预后中发挥不可或缺的作用。

3 外泌体miRNAs在预测肺癌耐药性方面的应用

由于非小细胞肺癌患者的肿瘤驱动基因容易产生多种高频突变, 这使得肿瘤细胞的异质性大大增加, 这类患者在靶向药物治疗一段时间后通常会出现明显的耐药现象, 这给肿瘤靶向治疗带来了巨大挑战^[47]。目前, 肿瘤细胞主要通过原发性和获得性两种方式获得耐药性, 而后者是指肿瘤细胞中一群先前对药物敏感的细胞在其他因素的影响下转变为耐药细胞的过程^[48]。多项研究已证实, 肿瘤细胞释放的外泌体 miRNAs 是影响获得性耐药形成的一个重要因素, 在诱导肺癌细胞产生耐药性方面具有很重要的研究价值^[49-51]。例如, 肺癌细胞对 EGFR 的酪氨酸激酶抑制剂 (tyrosine kinase inhibitor, TKI) 产生耐药是治疗 EGFR 突变型肺癌的最大障碍。研究者通过体内外实验发现, 对吉非替尼耐药的 PC-9 细胞释放的外泌体 miR-214 可被对吉非替尼敏感的 PC-9 细胞摄取并将其转变成耐药细胞, 从而抑制肿瘤细胞凋亡且促进肿瘤生长^[52]。再如, 顺铂是临床上采用的一种基于金属铂的一线肺癌化疗药物, 尽管顺铂对 20%~40% 发生转移的肺癌患者具有一定的治疗作用, 但是大部分患者的肿瘤细胞会对顺铂产生耐药。Wu 等^[37]的研究表明, H1299 细胞来源的外泌体中富含 miR-96, 将分别转染 anti-miR-96 和 anti-NC (阴性对照) 的 A549 细胞与 H1299 细胞来源的外泌体共培养后发现: 与对照相比, 转染 anti-miR-96 组 A549 细胞对顺铂的耐药性明显降低, 表现为凋亡细胞增多。该研究提示, 研究者可将肺癌患者血清外泌体中的 miR-96 作为预测顺铂耐药的标志物, 从而为肺癌患者提供更精准的治疗方案。此外, 研究人员也可合成 miR-96 的靶向抑制剂, 从而改善肺癌细胞对顺铂的耐药。另外一项关于顺铂耐药的研究也证实, 骨髓间充质干细胞释放的外泌体包含高丰度的 miR-193a, 此 miRNA 能促进肿瘤细胞发生凋亡。因此, 对顺铂耐药的 A549 细胞可通过摄取这种外泌体来源的 miR-193a 改善其对顺铂的耐药, 提高化疗疗效^[53]。

4 展望

研究者在外泌体 miRNAs 介导的多条重要信号通路中发现并证实了调控肺癌转移的多个潜在靶点。一方面, 可利用外泌体 miRNAs 检出快速及侵

入性低的特征, 对潜在肺癌患者进行早期诊断; 另一方面, 可根据这些潜在靶点设计新的小分子化合物, 提高肺癌患者的生存率, 监测预后。国际外泌体协会 (International Society for Extracellular Vesicles, ISEV) 为了使外泌体能更好地应用于临床, 规范了外泌体命名、分离技术和功能分析的指南^[54-55]。目前, 外泌体研究领域存在的挑战是, 分离所得的外泌体包含杂蛋白和其他亚细胞器, 从而导致在应用外泌体 miRNAs 进行疾病诊断时, 以上杂质可能对诊断产生干扰。尽管目前存在多种分离纯化外泌体的技术, 但所获外泌体纯度仍然达不到临床应用要求且费时费力, 因此临床上急需建立能够快速且高纯度提取外泌体的全自动系统。此外, 外泌体 miRNAs 在体液中能够稳定存在且可作为细胞间通讯的媒介, 这些特征使外泌体可能成为肿瘤靶向药物的载体。研究者可针对调控肺癌转移的关键性 miRNAs 设计其拟似物或者抑制剂, 并通过外泌体的包裹, 将其靶向传输到受体细胞, 从而提高肺癌治疗药物的疗效, 改善肺癌患者的生存率。

综上所述, 肺癌细胞源性 miRNAs 在肺癌早期诊断和预后中具有巨大的潜在应用价值, 而证实外泌体源性 miRNAs 作为肺癌早期诊断标志物的可靠性并真正应用于临床则需要更加深入的研究。

[参 考 文 献]

- [1] Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin*, 2018, 68: 394-424
- [2] Arbour KC, Riely GJ. Systemic therapy for locally advanced and metastatic non-small cell lung cancer: a review. *JAMA*, 2019, 322: 764-74
- [3] Duma N, Santana-Davila R, Molina JR. Non-small cell lung cancer: epidemiology, screening, diagnosis, and treatment. *Mayo Clin Proc*, 2019, 94: 1623-40
- [4] Davar D, Kirkwood JM. PD-1 immune checkpoint inhibitors and immune-related adverse events: understanding the upside of the downside of checkpoint blockade. *JAMA Oncol*, 2019, 5: 942-3
- [5] Hu C, Meiners S, Lukas C, et al. Role of exosomal microRNAs in lung cancer biology and clinical applications. *Cell Prolif*, 2020, 53: e12828
- [6] Murakami S. Durvalumab for the treatment of non-small cell lung cancer. *Expert Rev Anticancer Ther*, 2019, 19: 1009-16
- [7] Slack FJ, Chinnaiyan AM. The role of non-coding RNAs in oncology. *Cell*, 2019, 179: 1033-55
- [8] Bartel DP. Metazoan microRNAs. *Cell*, 2018, 173: 20-51
- [9] Solé C, Lawrie CH. MicroRNAs and metastasis. *Cancers*

- (Basel), 2019, 12: 96
- [10] Khan AQ, Ahmed EI, Elareer NR, et al. Role of miRNA-regulated cancer stem cells in the pathogenesis of human malignancies. *Cells*, 2019, 8: 840
- [11] Jin K, Li T, van Dam H, et al. Molecular insights into tumour metastasis: tracing the dominant events. *J Pathol*, 2017, 241: 567-77
- [12] Zeng Z, Li Y, Pan Y, et al. Cancer-derived exosomal miR-25-3p promotes pre-metastatic niche formation by inducing vascular permeability and angiogenesis. *Nat Commun*, 2018, 9: 5395
- [13] Wang X, Luo G, Zhang K, et al. Hypoxic tumor-derived exosomal miR-301a mediates M2 macrophage polarization via PTEN/PI3K γ to promote pancreatic cancer metastasis. *Cancer Res*, 2018, 78: 4586-98
- [14] Fang T, Lv H, Lv G, et al. Tumor-derived exosomal miR-1247-3p induces cancer-associated fibroblast activation to foster lung metastasis of liver cancer. *Nat Commun*, 2018, 9: 191
- [15] Pan BT, Teng K, Wu C, et al. Electron microscopic evidence for externalization of the transferrin receptor in vesicular form in sheep reticulocytes. *J Cell Biol*, 1985, 101: 942-8
- [16] Wortzel I, Dror S, Kenific CM, et al. Exosome-mediated metastasis: communication from a distance. *Dev Cell*, 2019, 49: 347-60
- [17] Li S, Li Y, Chen B, et al. exoRBase: a database of circRNA, lncRNA and mRNA in human blood exosomes. *Nucleic Acids Res*, 2018, 46: D106-12
- [18] Kalluri R, LeBleu VS. The biology, function, and biomedical applications of exosomes. *Science*, 2020, 367: eaau6977
- [19] Jeppesen DK, Fenix AM, Franklin JL, et al. Reassessment of exosome composition. *Cell*, 2019, 177: 428-45.e18
- [20] Li LM, Liu ZX, Cheng QY. Exosome plays an important role in the development of hepatocellular carcinoma. *Pathol Res Pract*, 2019, 215: 152468
- [21] Tian X, Shen H, Li Z, et al. Tumor-derived exosomes, myeloid-derived suppressor cells, and tumor microenvironment. *J Hematol Oncol*, 2019, 12: 84
- [22] Zhang W, Ni M, Su Y, et al. MicroRNAs in serum exosomes as potential biomarkers in clear-cell renal cell carcinoma. *Eur Urol Focus*, 2018, 4: 412-9
- [23] Tang Y, Cui Y, Li Z, et al. Radiation-induced miR-208a increases the proliferation and radioresistance by targeting p21 in human lung cancer cells. *J Exp Clin Cancer Res*, 2016, 35: 7
- [24] Wei F, Ma C, Zhou T, et al. Exosomes derived from gemcitabine-resistant cells transfer malignant phenotypic traits via delivery of miRNA-222-3p. *Mol Cancer*, 2017, 16: 132
- [25] Li Y, Yin Z, Fan J, et al. The roles of exosomal miRNAs and lncRNAs in lung diseases. *Signal Transduct Target Ther*, 2019, 4: 47
- [26] Kim DH, Park S, Kim H, et al. Tumor-derived exosomal miR-619-5p promotes tumor angiogenesis and metastasis through the inhibition of RCAN1.4. *Cancer Lett*, 2020, 475: 2-13
- [27] Hsu YL, Hung JY, Chang WA, et al. Hypoxic lung cancer-secreted exosomal miR-23a increased angiogenesis and vascular permeability by targeting prolyl hydroxylase and tight junction protein ZO-1. *Oncogene*, 2017, 36: 4929-42
- [28] Lawson J, Dickman C, Towle R, et al. Extracellular vesicle secretion of miR-142-3p from lung adenocarcinoma cells induces tumor promoting changes in the stroma through cell-cell communication. *Mol Carcinog*, 2019, 58: 376-87
- [29] Shang BQ, Li ML, Quan HY, et al. Functional roles of circular RNAs during epithelial-to-mesenchymal transition. *Mol Cancer*, 2019, 18: 138
- [30] Zhang X, Sai B, Wang F, et al. Hypoxic BMSC-derived exosomal miRNAs promote metastasis of lung cancer cells via STAT3-induced EMT. *Mol Cancer*, 2019, 18: 40
- [31] He S, Li Z, Yu Y, et al. Exosomal miR-499a-5p promotes cell proliferation, migration and EMT via mTOR signaling pathway in lung adenocarcinoma. *Exp Cell Res*, 2019, 379: 203-13
- [32] Alipoor SD, Mortaz E, Varahram M, et al. The potential biomarkers and immunological effects of tumor-derived exosomes in lung cancer. *Front Immunol*, 2018, 9: 819
- [33] Hu H, Xu H, Lu F, et al. Exosome-derived miR-486-5p regulates cell cycle, proliferation and metastasis in lung adenocarcinoma via targeting NEK2. *Front Bioeng Biotechnol*, 2020, 8: 259
- [34] Sun S, Chen H, Xu C, et al. Exosomal miR-106b serves as a novel marker for lung cancer and promotes cancer metastasis via targeting PTEN. *Life Sci*, 2020, 244: 117297
- [35] Fabbri M, Paone A, Calore F, et al. MicroRNAs bind to Toll-like receptors to induce prometastatic inflammatory response. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2012, 109: E2110-6
- [36] Masaoutis C, Mihailidou C, Tsourouffis G, et al. Exosomes in lung cancer diagnosis and treatment. From the translating research into future clinical practice. *Biochimie*, 2018, 151: 27-36
- [37] Wu H, Zhou J, Mei S, et al. Circulating exosomal microRNA-96 promotes cell proliferation, migration and drug resistance by targeting LMO7. *J Cell Mol Med*, 2017, 21: 1228-36
- [38] Tamiya H, Mitani A, Saito A, et al. Exosomal microRNA expression profiling in patients with lung adenocarcinoma-associated malignant pleural effusion. *Anticancer Res*, 2018, 38: 6707-14
- [39] Jin X, Chen Y, Chen H, et al. Evaluation of tumor-derived exosomal miRNA as potential diagnostic biomarkers for early-stage non-small cell lung cancer using next-generation sequencing. *Clin Cancer Res*, 2017, 23: 5311-9
- [40] Zhang Y, Zhang Y, Yin Y, et al. Detection of circulating exosomal miR-17-5p serves as a novel non-invasive diagnostic marker for non-small cell lung cancer patients. *Pathol Res Pract*, 2019, 215: 152466
- [41] Yuwen DL, Sheng BB, Liu J, et al. MiR-146a-5p level in serum exosomes predicts therapeutic effect of cisplatin in non-small cell lung cancer. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2017, 21: 2650-8

- [42] Zhang L, Hao C, Zhai R, et al. Downregulation of exosomal let-7a-5p in dust exposed-workers contributes to lung cancer development. *Respir Res*, 2018, 19: 235
- [43] Liu W, Liu J, Zhang Q, et al. Downregulation of serum exosomal miR-216b predicts unfavorable prognosis in patients with non-small cell lung cancer. *Cancer Biomark*, 2020, 27: 113-20
- [44] Dejima H, Iinuma H, Kanaoka R, et al. Exosomal microRNA in plasma as a non-invasive biomarker for the recurrence of non-small cell lung cancer. *Oncol Lett*, 2017, 13: 1256-63
- [45] Xu S, Li J, Chen L, et al. Plasma miR-32 levels in non-small cell lung cancer patients receiving platinum-based chemotherapy can predict the effectiveness and prognosis of chemotherapy. *Medicine (Baltimore)*, 2019, 98: e17335
- [46] Yuwen D, Ma Y, Wang D, et al. Prognostic role of circulating exosomal miR-425-3p for the response of NSCLC to platinum-based chemotherapy. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2019, 28: 163-73
- [47] Liu WJ, Du Y, Wen R, et al. Drug resistance to targeted therapeutic strategies in non-small cell lung cancer. *Pharmacol Ther*, 2020, 206: 107438
- [48] Santos P, Almeida F. Role of exosomal miRNAs and the tumor microenvironment in drug resistance. *Cells*, 2020, 9: 1450
- [49] Liu T, Zhang X, Du L, et al. Exosome-transmitted miR-128-3p increase chemosensitivity of oxaliplatin-resistant colorectal cancer. *Mol Cancer*, 2019, 18: 43
- [50] Zheng P, Chen L, Yuan X, et al. Exosomal transfer of tumor-associated macrophage-derived miR-21 confers cisplatin resistance in gastric cancer cells. *J Exp Clin Cancer Res*, 2017, 36: 53
- [51] Santos JC, da Silva Lima N, Sarian LO, et al. Exosome-mediated breast cancer chemoresistance via miR-155 transfer. *Sci Rep*, 2018, 8: 829
- [52] Zhang Y, Li M, Hu C. Exosomal transfer of miR-214 mediates gefitinib resistance in non-small cell lung cancer. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 507: 457-64
- [53] Wu H, Mu X, Liu L, et al. Bone marrow mesenchymal stem cells-derived exosomal microRNA-193a reduces cisplatin resistance of non-small cell lung cancer cells via targeting LRRC1. *Cell Death Dis*, 2020, 11: 801
- [54] Nazarenko I. Extracellular vesicles: recent developments in technology and perspectives for cancer liquid biopsy. *Recent Results Cancer Res*, 2020, 215: 319-44
- [55] Russell AE, Sneider A, Witwer KW, et al. Biological membranes in EV biogenesis, stability, uptake, and cargo transfer: an ISEV position paper arising from the ISEV membranes and EVs workshop. *J Extracell Vesicles*, 2019, 8: 1684862