

DOI: 10.13376/j.cbbls/20250123

文章编号: 1004-0374(2025)10-1279-13

小细胞外囊泡在肝脏疾病中的作用及应用前景

钟琼慧, 章 蕾*

(南昌大学第二附属医院, 免疫与炎症江西省重点实验室, 江西省检验医学重点实验室, 南昌 330006)

摘要: 小细胞外囊泡 (small extracellular vesicles, sEVs) 是细胞分泌的脂质双层囊泡, 广泛存在于脊椎动物的体液中, 携带多种生物活性分子 (如蛋白质、核酸和脂质), 在细胞间通讯、免疫调节及疾病进展中发挥关键作用。肝脏是人体最大的代谢器官, 其病变伴随着复杂的代谢重编程, 而 sEVs 通过传递功能性分子参与肝脏疾病的起始与进展。本文系统综述了 sEVs 在病毒性肝炎、非酒精性脂肪性肝病、肝硬化及肝癌等多种肝脏疾病中的病理生理学机制, 重点探讨了 sEVs 作为新型生物标志物在疾病早期诊断中的潜在价值及其在靶向治疗策略开发中的应用前景。

关键词: 小细胞外囊泡; 病毒性肝炎; 非酒精性脂肪性肝病; 肝硬化; 肝癌

中图分类号: [Q291]; R575 **文献标志码:** A

Roles and therapeutic prospects of small extracellular vesicles in liver diseases

ZHONG Qiong-Hui, ZHANG Lei*

(Jiangxi Province Key Laboratory of Immunology and Inflammation, Jiangxi Provincial Clinical Research Center for Laboratory Medicine, The Second Affiliated Hospital, Jiangxi Medical College, Nanchang University, Nanchang 330006, China)

Abstracts: Small extracellular vesicles (sEVs) are lipid bilayer-enclosed nanoscale vesicles actively secreted by cells and ubiquitously present in the biological fluids of vertebrates. These vesicles carry a diverse cargo of bioactive molecules, including proteins, nucleic acids, and lipids, and serve as critical mediators of intercellular communication, immune modulation, and pathological processes. As the largest metabolic organ in the human body, the liver undergoes extensive metabolic reprogramming in response to lesions. Emerging evidence indicates that sEVs contribute to the pathogenesis and progression of liver diseases through the horizontal transfer of functional biomolecules. This review elucidates the mechanistic roles of sEVs in various liver disorders, including viral hepatitis, nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD), cirrhosis, and hepatic cancer. Additionally, we explore the potential utility of sEVs as novel diagnostic biomarkers for early disease detection and discuss their promising applications in the development of precision therapeutics.

Key words: small extracellular vesicles; viral hepatitis; non-alcoholic fatty liver disease; cirrhosis; hepatic cancer

国际细胞外囊泡学会 (International Society for Extracellular Vesicles, ISEV) 2023 年发布的最新指南根据囊泡直径大小和生物来源将细胞外囊泡 (extracellular vesicles, EVs) 分为三类: 小细胞外囊泡 (small extracellular vesicles, sEVs) (直径 30~150 nm)、微囊泡 (直径 100~1 000 nm) 和凋亡小体 (直径 500~3 000 nm)^[1]。sEVs 在长距离细胞间通讯中起着重要作用。它们的低免疫原性和细胞毒性使得 sEVs

成为设计靶向递送载体的最有吸引力的工具^[2]。

肝脏是人体最大的代谢器官, 其功能紊乱与疾病进展往往伴随着复杂的代谢重编程及生物分子网络的动态变化。早在 20 世纪 20 年代, 德国学者首

收稿日期: 2025-01-09; 修回日期: 2025-05-18

基金项目: 江西省卫健委科技计划项目(202210042)

*通信作者: E-mail: 1107375031@qq.com

次提出 Warburg 效应, 揭示了包含肝癌在内的恶性肿瘤细胞独特的代谢模式^[3]。2011 年, 瑞士学者进一步将代谢异常纳入肿瘤的十大生物学特征之一, 凸显了代谢调控在疾病发生发展中的核心地位^[4]。在肝脏疾病中, 代谢微环境的改变可能通过影响细胞间通讯, 尤其是 sEVs 的分泌及其携带的核酸、蛋白质和脂质等活性分子的变化, 进而调控疾病的起始与进展。因此, 深入探究 sEVs 在肝病代谢调控中的作用, 可能为揭示其发病机制及开发新型诊疗策略提供关键突破口 (图 1)。

1 sEVs

1.1 sEVs的生物学特性

sEVs 是一类由细胞分泌的膜状囊泡, 直径通常小于 200 nm (通常在 30~150 nm 之间), 在一些文献中, sEVs 也被称为外泌体^[5]。sEVs 起源于多泡体 (multivesicular bodies, MVBs), 由细胞内多泡体与细胞膜融合后释放到细胞外环境中, sEVs 能够携带多种蛋白质与核酸分子, 因此在细胞间通讯中起着重要作用^[6]。sEVs 可通过五种途径实现其生

物学功能: (1) sEVs 作为信号分子直接刺激受体细胞, 充当配体直接与受体细胞表面的受体结合^[7,8]; (2) sEVs 运输多种蛋白质与核酸分子, 间接调控细胞功能^[9]; (3) sEVs 运输细胞损伤产生的废物, 维持细胞环境的稳定性^[10]; (4) sEVs 促进新的细胞运动路径的产生, 如促进细胞迁移和侵袭, 影响疾病的进展与恶化^[11]; (5) 细胞分泌的 sEVs 含有与自身受体结合的因子, 如转化生长因子 $\beta 1$ (transforming growth factor- β , TGF- β), 通过促进肿瘤细胞的生长, 推动肿瘤进展^[12]。

综上所述, sEVs 作为细胞间通讯的关键介质, 其多功能特性不仅为阐明疾病发生发展机制提供了新的视角, 更为开发创新诊疗策略开辟了重要途径。值得注意的是, sEVs 在人体体液中往往与其他细胞外囊泡亚型共存, 并与各类细胞及亚细胞结构形成复杂的相互作用网络。然而, 由于 sEVs 的纳米级尺寸和异质性特征, 其高纯度分离和精准表征始终是制约该领域研究进展的主要技术瓶颈, 攻克这一难题, 对于推动 sEVs 的基础研究和临床转化应用具有重要意义。

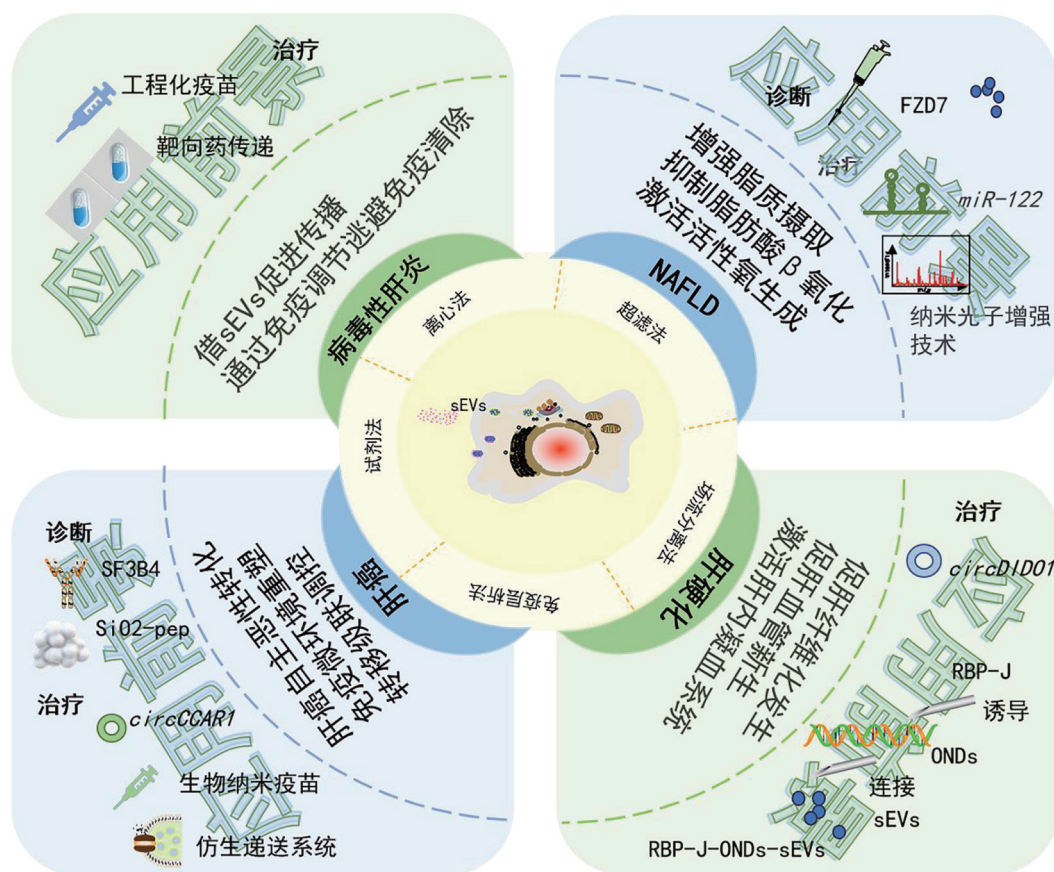


图1 sEVs在肝脏疾病中的作用及应用前景

1.2 sEVs的提取方法

sEVs 常与其他细胞外囊泡同时存在于人体体液中, 并与细胞和各种细胞器共存且难以分离。在小细胞外囊泡的研究中, 其分离提取一直是困扰研究人员的一大难题。法国学者 Clotilde Théry 提出了一种两步超高速离心法, 成功分离出 sEVs, 解决了分离提取这一大难题。多年来, 超高速离心法一直被视为 sEVs 提取的“金标准”, 并在 2014 年被收录进国际细胞外囊泡学会编辑的指南中^[13]。然而, 随着研究的深入, 超高速离心法因操作时间长且设备昂贵, 逐渐无法满足大多数研究者的需求。因此, 近年来, 研究者们一直在探索更加高效、简便的提取方法, 以满足 sEVs 研究的需要。新方法需要考虑到研究的成本, 方法的可靠性、快速性, 以及提取的纯度与完整性。目前主流的 sEVs 分离技术可分为五大类: 基于离心力差异的离心法、基于分子量截留的超滤法、基于物理特性的场流分离法、基于抗原抗体反应的免疫层析法以及基于化学沉淀的试剂法^[13-27]。这些方法各具特色(表 1), 研究者可根据具体实验需求灵活选择: 例如, 在需要大量 sEVs 样本的基础研究中, 可优先考虑聚合物沉淀法或商业化试剂盒法; 而在对纯度要求较高的功能学研究或临床应用开发中, 则推荐采用密度梯度离心法或场流分离法等更精密的分离技术。

我们课题组也致力于优化 sEVs 的分离纯化技术, 以解决现有方法在操作效率与提取质量方面存在的关键问题。我们对多种 sEVs 提取方案进行了

比较, 从纯度与产量两个关键指标综合分析了不同方法的优缺点^[14], 在此基础上我们提出了一种改良试剂法^[15], 该方法结合了传统试剂法的快速性, 同时最大程度地提高了纯度, 减少了杂质的存在^[16]。

2 sEVs在肝脏疾病中的作用

肝炎及非酒精性脂肪性肝病 (non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD) 向肝癌的进展是一个多阶段、多机制参与的病理过程^[28-34]。在肝炎病毒感染中, 病毒抗原通过激活 TGF- β 信号通路诱导肝细胞间充质转化, 同时促进肿瘤细胞分泌 sEVs 来介导免疫逃逸并加速肝癌发生^[28]。而 NAFLD 的进展则始于肝细胞脂质沉积引发的脂肪变性、胰岛素抵抗和氧化应激驱动非酒精性脂肪性肝炎 (non-alcoholic steatohepatitis, NASH), 伴随巨噬细胞激活及慢性炎症, 进一步通过 TGF- β /Wnt 等通路激活肝星状细胞 (hepatic stellate cells, HSCs), 加速纤维化进程^[29]。在肝纤维化微环境中, 基因突变与表观遗传调控, 慢性炎症与免疫微环境失衡, 代谢重编程与能量适应等方面的改变最终导致肝细胞恶性转化^[30, 31]。在此进程中, sEVs 可能通过传递长链非编码 RNA 或微小 RNA 调控免疫微环境及纤维化通路, 从而在肝癌发生中发挥关键作用^[32-34]。

2.1 sEVs在病毒性肝炎中的作用

肝炎病毒是肝癌发生的重要高危因素之一^[35]。慢性乙型肝炎病毒和丙型肝炎病毒感染是肝癌发生的最主要原因。据估计, 全球约有 2.57 亿人患有慢

表1 sEVs的分离方法

提取方法	原理	优点	缺点	参考文献
超高速离心法	利用高速离心力分离不同密度的颗粒	纯度高、回收率较好	操作复杂、产量低、耗时长、设备成本高	[13]
密度梯度离心法	利用颗粒的密度与沉降率不同	纯度高、完整性好	操作复杂、耗时长、回收率低	[17]
超滤分离法	利用颗粒的分子量的不同	时间短、分离率高	纯度低	[18, 19]
微流控芯片分离法	利用芯片的纳米孔径富集与纯化提取	简单快捷、产量高	成本高、缺乏验证方法	[20]
场流分离法	利用外部力场和自身的布朗运动扩散的作用力分离速度不同的颗粒	纯度高、快速、重现性高	回收率低、操作复杂	[21]
聚合物沉淀法	利用聚乙二醇特殊的亲和力	操作简便、成本低、产量高	纯度低、含大量杂蛋白	[22]
反向富集法	利用外泌体和蛋白质杂质的尺寸差异	回收率高	缺乏临床数据及验证方法	[23]
免疫亲和层析法	利用特异性抗体或配体进行吸附	纯度高、完整性高	产量低、成本高、储存条件苛刻	[24]
体积排阻层析法	利用粒径差异, 通过粒径排除色谱洗脱	完整性较高、成本较低	产量低、耗时长	[25, 26]
试剂盒法	利用化合物沉淀	方便快捷	纯度低	[27]
改良试剂法	试剂法结合超滤管, 通过差速离心法获取	产量高、完整性较高	缺乏临床数据及验证方法	[15, 16]

性乙型肝炎^[36]。因此,针对病毒性肝炎的研究与防治显得尤为迫切。

2.1.1 sEVs在病毒性肝炎发展中的作用

许多研究认为 sEVs 可携带多种活性分子,在病毒性肝炎发生中发挥重要作用^[36-41]。肝脏特异性 miR-122 作为 sEVs 的重要功能组分,通过多种途径参与肝炎进程的调控^[37]。在乙型肝炎中, sEVs 中的 miR-122 随着乙型肝炎病毒 (hepatitis B virus, HBV) 病毒载量的增加而增加,可作为一种肝损伤的标志物^[38];其增加与细胞程序性死亡、细胞膜通透性的增加、线粒体诱导的凋亡和氧化应激密切相关^[39]。机制研究表明, miR-122 可能通过靶向层黏连蛋白 B2 (laminin-B2, LMNB2) 和解整合素和金属蛋白酶家族 10 及 17 (ADAM10、ADAM17) 来调节细胞迁移,并抑制上皮-间充质转化;这也可能是乙型肝炎恶化为肝癌的基础条件^[40,41]。而在丙型肝炎中,丙型肝炎病毒 (hepatitis C virus, HCV) 感染通过激活 caspase3-Panx1-P2X4 信号轴,选择性诱导 sEVs 中 miR-122 和 miR-146a 的富集,而 miR-122 作为 HCV 复制的关键辅助因子,可通过稳定病毒基因组二级结构来促进其翻译进程^[32]。miR-122 作为 HCV 感染的一个重要宿主因子,它通过展开核糖体内部进入位点与 HCV 基因组结合,从而诱导 HCV-RNA 的翻译^[41]。值得关注的是, sEVs 的免疫调节功能在自身免疫性肝炎中同样显著,其可通过逆转线粒体损伤途径增强髓源性抑制细胞的免疫抑制活性^[42]。综合现有研究,肝炎病毒可能通过以下途径利用 sEVs:一方面利用 sEVs 生物发生机制促进病毒传播,另一方面通过 sEVs 介导的免疫调节逃避免疫清除,导致肝脏持续处于炎症状态,最终促进肝纤维化和肝癌的发生发展。

2.1.2 sEVs在病毒性肝炎治疗与预后中的应用前景

在肝炎的治疗领域中, sEVs 因其独特的生物学特性已成为新型药物递送系统的重要研究对象。研究证实,未经工程化改造的 sEVs 可作为抗 HBV 疫苗的免疫佐剂,这为基于 sEVs 的疫苗开发提供了理论依据^[43]。在临床转化方面,宿主靶向抗病毒药物的研发取得重要进展: Miravisen 作为 miR-122 反义抑制剂,不仅是首个进入 II 期临床试验的 miRNA 靶向药物,其针对 HCV 感染的治疗效果和安全性已在临床研究中得到验证。该药物通过特异性阻断肝脏富集的 miR-122 与 HCV RNA 的相互作用,实现病毒血症的持续抑制,展现出良好的临床应用前景^[44]。基于现有研究, sEVs 递送系统与宿

主靶向药物的联合应用可能成为未来肝炎治疗的重要策略。

在肝炎预后机制研究方面,多项证据表明 sEVs 通过调控关键信号通路参与疾病进程^[32,45]。最新研究发现, HCV 感染可特异性激活肝细胞 caspase-3/Panx1/P2X4 信号轴,促进病理性 sEVs 的异常分泌^[32]。靶向抑制 Panx1 通道不仅能有效阻断该信号通路的级联反应,还能显著减弱 HCV 相关 sEVs 介导的肝损伤进展,这为开发新型预后干预策略提供了新靶点^[32]。关于干扰素 (interferon, IFN) 治疗应答的机制方面也取得重要突破。慢性乙型肝炎患者中 IFN 信号通路负向调控因子呈现异常高表达,这可能是导致 IFN α 治疗应答率低下的关键因素^[46,47]。其中, IFN 诱导跨膜蛋白 2 (interferon induced transmembrane protein 2, IFITM2) 被发现是关键负向调控因子,影响 IFN 抗病毒疗效。其可直接抑制内源性 IFN α 的生物合成,负向调控 I 型 IFN 信号通路;也可通过肝细胞源性 sEVs 向树突状细胞转运,放大对 IFN α 合成的抑制作用^[45]。基于上述发现,研究人员提出两种创新性潜在治疗方案:应用 CRISPR-Cas9 等基因编辑技术特异性下调 IFITM2 表达;使用棕榈酰化抑制剂靶向阻断 IFITM2 功能活性,这两种方法有望恢复宿主对 IFN α 的治疗敏感性,提高临床疗效^[45]。

2.2 sEVs在NAFLD中的作用

NAFLD 是一种以肝脏脂质代谢紊乱为核心发病机制的慢性代谢性疾病,其主要病理特征为肝细胞脂肪变性超过 5%,且病因不涉及酒精及其他明确导致肝脂肪变性的因素^[48]。根据病理进展程度, NAFLD 可分为两个主要临床亚型,非酒精性脂肪肝 (non-alcoholic fatty liver, NAFL) 和 NASH,约 20%~30% 的 NAFL 可以进展为 NASH,并进一步发展为严重的肝纤维化,这一过程与肝硬化和肝癌的发生密切相关^[49]。

2.2.1 sEVs在NAFLD进展中的作用

sEVs 在 NAFLD 进展中呈现动态的双向调控作用。肝细胞来源 sEVs 携带 miR-34a 可通过三重机制促进 NAFL 的形成——增强脂质摄取与合成相关通路活性、抑制脂肪酸 β 氧化,以及激活 Kupffer 细胞 (Kupffer cells, KCs) 的活性氧生成,进而驱动炎症的级联反应和肝细胞凋亡,最终加速 NAFL 向 NASH 的转化^[50]。值得注意的是, sEVs 同时具备肝保护功能,其作用机制存在细胞类型特异性。例如:巨噬细胞来源 sEVs 携带的 miR-223

能够通过抑制肝细胞中的 PDZ 结合基序,显著降低肝纤维化的发生^[51]。其作用机制涉及 IL-6 刺激下 sEVs 介导的促纤维化基因 (*Taz*、*Nlrp3*、*Cxcl10*、*Igf1r*) 表达下调及炎症趋化因子的分泌抑制^[51]。此外,脂肪组织来源的间充质干细胞 (mesenchymal stem cell, MSC) 分泌的 sEVs 可能通过增加抗炎巨噬细胞的数量,减轻肝脏的炎症反应,从而减缓 NAFLD 的肝脏纤维化进程^[34]。这些发现揭示, sEVs 在 NAFLD 进程中具有动态平衡功能——既可通过促炎途径加速疾病恶化,又能通过抗纤维化机制实现组织修复,其作用方向取决于来源细胞的类型及其携带的功能分子。

KCs 细胞来源的 sEVs 在 NAFLD 病理调控中可能发挥枢纽作用。KCs 特异性分泌的 miR-690 可通过 sEVs 介导的细胞间通讯,实现多重保护效应:(1)抑制 HSCs 中 *Colla1*、*Acta2* 等直接与纤维化相关的基因表达;(2)维持抗炎微环境,下调 *Arg1*、*Ccl2* 等促炎因子水平;(3)阻断肝细胞新生脂肪生成通路^[33]。进一步研究发现,miR-690 的下游靶标 *NADK* mRNA 在脂代谢调控中起关键作用:*NADK* 基因敲除通过降低 NADPH 水平抑制脂肪酸合成酶活性,从而显著改善高脂饮食诱导的小鼠肝脏脂肪变性^[52]。基于上述发现,我们提出“miR-690-NADK 调控轴”可能构成 NAFLD 向肝硬化发展的关键分子开关:通过增强 KCs 来源 sEVs 中 miR-690 的表达水平,有望实现对脂质蓄积与纤维化过程的协同抑制,这为开发基于 sEVs 的靶向治疗策略提供了新方向。

2.2.2 sEVs在NAFLD诊断和治疗中的应用前景

在 NAFLD 的诊断领域, sEVs 展现出多层面的临床应用价值。研究表明, sEVs 携带的 FZD7 可作为 NAFLD 诊断和预后评估的新型生物标志物^[53],其诊断潜力源于 Wnt/ β -catenin 信号通路的激活特性^[53, 54]。进一步分析显示, NAFLD 患者肝脏脂肪变性程度与 sEVs 中 FZD7 mRNA 表达水平呈显著正相关,这一发现为基于 sEVs 的早期无创诊断技术开发提供了分子依据^[53]。此外,基于 sEVs 中富集的神氨酸代谢通路相关分子(如鞘氨醇、二氢神经酰胺 (20:0)) 联合 BMI 等指标构建的诊断模型,可实现对 NAFLD 的高精度识别 (AUC = 0.801),为早期 NAFLD 筛查提供新策略^[55]。

在 NAFLD 的治疗领域, sEVs 的肝脏靶向特性与功能调控能力展现出独特优势。研究发现 sEVs 内包裹的 miR-122 可通过调节脂质代谢关键靶点抑

制肝脏脂肪沉积,但其临床转化仍需解决递送效率低及长期安全性问题^[56]。值得一提的是,已有研究尝试采用纳米光子增强散射技术对肝细胞来源 sEVs 进行检测,用以实时评估 NAFLD 治疗效果,表现出良好的应用前景^[55]。这些进展共同表明, sEVs 作为“液体活检”工具与治疗载体,在 NAFLD 的精准诊疗体系中具有双重应用潜力。

2.3 sEVs在肝硬化中的作用

肝硬化或肝纤维化被认为是肝癌的主要癌前病变,其多由慢性肝炎,尤其是慢性乙型病毒性肝炎所引发。其发病机制主要涉及 HSCs 的活化、增殖和迁移,这些过程共同促使细胞外基质异常沉积,进而引发持续性肝组织损伤和重塑^[57, 58]。在分子机制层面,肝纤维化的进展受到多条信号通路的协同调控,其中以 TGF- β /SMAD 通路和 Wnt/ β -catenin 通路最为关键。一方面, TGF- β 通过与 SMAD2 和 SMAD3 结合形成活性复合物,并转位至细胞核内,调控纤维化标志物的表达;另一方面, Wnt/ β -catenin 通路的激活可显著促进 α -SMA 和胶原的过度表达,进一步加速肝脏纤维化进程^[29]。

2.3.1 sEVs介导肝硬化进展的分子机制

肝硬化的进展是一个多因素协同驱动的复杂过程,主要涉及肝纤维化、肝血管新生以及肝内凝血系统的激活^[59]。在 HBV 相关肝纤维化进程中, sEVs 携带的 miR-506-3p 在该过程中具有关键调控作用^[60]。HBV 感染的肝细胞分泌的 sEVs 中 miR-506-3p 表达水平显著下调,且其表达量与肝纤维化程度呈负相关;这可能与 miR-506-3p 能靶向调节 Nur77 转录因子有关^[60-62]。Nur77 是肝炎病毒蛋白作用的靶分子之一,参与调控肝脏细胞周期^[60]、促进炎症反应^[61]和调节糖代谢^[62]等过程。除 miR-506-3p 外, sEVs 中携带的其他 miRNA 也在乙肝相关肝纤维化中发挥重要作用, sEVs 携带的 miR-222 可能通过抑制细胞铁死亡并激活 HSCs,进而促进肝纤维化^[63]。miR-214 亦是影响肝硬化的一个关键分子,多项研究已报道其可影响肝硬化的进展与预后^[64-66]。sEVs 携带的 miR-214 能够通过直接靶向结缔组织生长因子 (connective tissue growth factor, CCN2) 的 3'-UTR 区域,抑制 CCN2 的表达,并通过 sEVs 在 HSCs 与邻近细胞之间传递,从而调节纤维化水平,影响肝硬化的发生和演进^[67]。此外,胆管细胞来源 sEVs 递送的 LncRNA-H19 通过促进 HSCs 的 G₁/S 期转换增强其增殖活性,其分子机制涉及对上游 miR-17、miR-196a 和 miR-148a 的“海

绵化”作用,该调控网络在肝、肾、肺等多器官纤维化进程中具有高度保守性^[68-72]。

肝内血管生成促进肝硬化发展,血管分泌信号转导在此过程中至关重要^[73]。研究表明,肝细胞在暴露于过量饱和游离脂肪酸后可分泌含有血管非炎症分子1 (vascular non-inflammatory molecule 1, VNN1) 的 sEVs,在肝损伤小鼠模型中,VNN1 介导内皮细胞内化 sEVs,从而促进其迁移并增强体内血管生成能力^[74]。该机制提示,脂质代谢紊乱通过 sEVs 介导的血管信号转导,可能在肝纤维化和肝硬化形成中发挥关键作用^[74]。凝血系统的异常激活同样是肝硬化相关组织损伤中的重要生理反应^[75]。组织因子 (tissue factor, TF) 作为外源性凝血途径的关键启动因子,广泛参与多种疾病状态下的血栓形成^[76, 77]。在肝硬化患者中, sEVs 中 TF 的活性明显升高。动物模型研究进一步证实肝细胞损伤可诱导 TF 依赖性凝血通路激活,且其活性水平与肝硬化严重程度呈正相关^[77]。尽管上述研究提供了初步证据支持 sEVs 在凝血相关肝硬化进展中的作用,但相关机制尚未得到系统性验证。

2.3.2 sEVs在肝硬化治疗中的应用前景

在肝硬化的预防与治疗中,针对肝纤维化的两条经典信号通路, MSC 来源的 sEVs 在 TGF- β /SMAD 和 Wnt/ β -catenin 通路中均发挥重要作用^[78, 79]。这些 sEVs 不仅能够促进靶细胞的自噬活性,还可通过抑制巨噬细胞中 NLRP3 炎症小体的激活,增强自然杀伤 T 细胞的抗炎反应,形成抑制 HSCs 活化的三维调控网络^[80]。进一步机制解析显示, sEVs 递送的 *circDIDO1* 通过 miR-141-3p/PTEN/AKT 信号轴显著抑制 HSCs 增殖,同步下调 α -SMA 与 I 型胶原表达,并诱导细胞周期停滞与凋亡进程,这一发现为肝纤维化靶向干预提供了新策略^[81]。在临床转化层面, MSC 来源的 sEVs 可通过抑制 PI3K/Akt/mTOR 信号转导并重塑磷脂/胆碱代谢网络,有效逆转已建立的肝纤维化病理结构^[82]。综上所述, MSC 来源的 sEVs 在肝纤维化的防治中具有广阔的前景,有望成为未来 sEVs 靶向疗法的重要基础。

基于 sEVs 的工程化改造为实现精准治疗提供了全新的研究范式。最新技术突破显示,搭载 RBP-J 诱导的寡脱氧核苷酸 (oligodeoxynucleotides, ODNs) 的新型 sEVs 递送系统可特异性地阻断巨噬细胞 Notch 信号转导,从而调控其炎症和纤维化^[83]。在小鼠肝纤维化模型中,该策略显示出多维度治疗优势,包括:(1)降低 IL1 β 、TNF α 等炎症因子水平;

(2)抑制血小板源性生长因子 B 和 TGF- β 等促纤维化因子分泌;(3)通过下调 α -SMA 的表达来阻断 HSCs 活化^[83]。此外,研究表明,活化的 HSCs 可释放 sEVs,显著降低 Twist 家族相关蛋白 1 (twist-related protein 1) 和 miR-214 的水平,从而诱导受体 HSCs 中的 CCN2 的表达和活化^[66, 84]。该信号通路构成一种促纤维化的正反馈机制,进而加剧肝纤维化进程。而 Twist1 抑制剂 harmine 能够有效阻断该病理反馈环,从而中断 HSCs 之间通过 sEVs 介导的纤维化信号转导^[66, 84]。

上述研究结果凸显了多靶点协同干预在肝纤维化治疗中的重要意义。一方面, sEVs 本身具备多通路调控特性;另一方面,工程化 sEVs 载药系统与转录因子抑制剂的联合应用可产生协同抗纤维化效应。未来研究可能着重解决以下关键问题:(1)不同作用机制间的时空协同规律;(2)sEVs 载药系统的靶向递送效率优化;(3)跨物种转化研究的药效学验证策略。这些探索将推动基于 sEVs 的肝纤维化治疗从机制研究向临床转化迈进。

2.4 sEVs在肝癌中的作用

原发性肝癌包括肝细胞癌 (hepatocellular carcinoma, HCC) 和肝内胆管癌,其发病率与死亡率持续上升,传统诊疗手段已逐渐无法满足临床需求。在此背景下, EVs (尤其是 sEVs) 引起了广泛关注。近年来研究发现,肝癌细胞比其他癌细胞分泌更多的 sEVs,这些 sEVs 通过携带功能性核酸、蛋白质和脂质等多种活性成分,在肝癌发生发展的各个环节中都发挥重要作用,包括肿瘤的发生和发展、肿瘤微环境 (tumor microenvironment, TME) 的重塑、细胞凋亡调控、血管生成、转移扩散、免疫逃避和治疗耐药的形成^[85]。更为重要的是, sEVs 因其高度稳定性、组织来源特异性以及携带生物信息的完整性,已被视为具有潜力的肝癌诊断生物标志物以及新型靶向治疗载体。

2.4.1 sEVs在驱动肝癌进展中的机制

2.4.1.1 肿瘤自主恶性转化

日益增多的证据表明, sEVs 在 HCC 的生长与转移过程中发挥着关键作用。研究显示, HCC 细胞分泌的 sEVs 中的聚合免疫球蛋白受体 (polymeric immunoglobulin receptor, pIgR) 可激活 PDK1/Akt/GSK3 β / β -catenin 信号级联,增强肿瘤细胞的干性和侵袭性,从而促进 HCC 的生长与进展^[86]。此外,利用中和抗体阻断 sEVs-pIgR 被认为是 HCC 的一种潜在治疗策略^[86]。HCC 细胞分泌的 sEVs 还富含血管

性血友病因子,能上调血管内皮生长因子 A (von willebrand factor A, vWF-A) 和成纤维细胞生长因子 2 (fibroblast growth factor 2, FGF2) 的表达,进而促进肿瘤血管生成、肿瘤内皮黏附以及向远处转移。此外,FGF2 还可通过与成纤维细胞生长因子受体 4 (FGFR4) 结合,激活 ERK 信号通路,进一步促进 HCC 的生长与转移^[5]。

2.4.1.2 免疫微环境重塑

在多种肿瘤中,sEVs 可通过重塑支持性 TME 及转移性微环境,促进肿瘤细胞的定植、生长与扩散^[85]。在 HCC 中,HCC 细胞分泌的 sEVs 以胞外 PKM2 依赖机制,诱导单核细胞分化为肿瘤浸润巨噬细胞,ARRDC1 介导的胞外 PKM2 分泌可通过激活 CCL1-CCR8 轴,增强巨噬细胞分泌炎症因子,从而重塑 TME 促进 HCC 发展^[87]。此外,TME 中的巨噬细胞可分泌携带 miR-92a-2-5p 的 sEVs,通过靶向雄激素受体 (androgen receptor, AR) mRNA 的 3'UTR,抑制其翻译过程并激活 PHLPP/p-AKT/ β -catenin 信号级联,从而显著增强 HCC 细胞的侵袭和转移能力^[88]。在代谢编程方面,巨噬细胞分泌的 sEVs 中的 lncMMPA 通过吸附 miR-548s 上调 ALDH1A3 表达,诱导 M2 型极化巨噬细胞的有氧糖酵解增强,进而促进 HCC 细胞增殖,提示靶向 lncMMPA 可能成为代谢干预新策略^[89]。在免疫调控层面,HCC 来源 sEVs 递送的 miR-500a-3p 通过 SOCS2/JAK3/STAT5 信号轴激活 HSCs,不仅促进肿瘤增殖侵袭,还可通过上调 HSCs 中 PD-L1 及外周血单核细胞中 PD-1 表达,诱导调节性 T 细胞分化,为破解免疫抑制微环境提供理论依据^[90]。在中性粒细胞方面,HCC 细胞来源的 sEVs 可上调 miR-362-5p 的表达,并通过靶向抑癌基因 CYLD,激活 NF- κ B 信号通路,促进中性粒细胞的存活和募集,导致中性粒细胞浸润和 T 细胞耗竭,从而推动肿瘤进展,因此,miR-362-5p 可能成为基于中性粒细胞重编程的 HCC 治疗的新靶点^[91]。研究还发现 HCC 细胞来源的 sEVs 富含 S100A10,可激活表皮生长因子受体、AKT 和 ERK 信号通路,促进上皮-间质转化;还可与整合素受体结合,提高 sEVs 中 MMP2、EGF 和纤连蛋白的水平,进一步促进 HCC 进展。该研究揭示了 S100A10 可能是 HCC 进展的潜在治疗靶点^[92]。

2.4.1.3 转移级联调控

sEVs 在肝癌转移过程中也发挥重要的作用。高转移性 HCC 细胞分泌的 sEVs 中富含 S100A4,

显著增强了低转移性 HCC 细胞的体外侵袭能力和体内转移潜能,可促进 STAT3 磷酸化并上调骨桥蛋白表达,是 HCC 转移的关键增强剂^[93]。另有研究表明抑制素 1 和蛋氨酸腺苷转移酶 1A 可通过抑制 MAFG-FOSB 复合物,负向调控 AP-1 位点,从而抑制 MMP-7 启动子活性。同时伴随 sEVs 中的 MMP-7 表达和释放的增加,从而促进 HCC 的生长和转移^[94]。

2.4.2 sEVs在肝癌诊断中的应用前景

在 HCC 的诊断中,传统生物标志物甲胎蛋白 (alpha fetoprotein, AFP) 因敏感性和特异性有限,难以满足早期精准筛查和诊断的临床需求。而 sEVs 因携带功能性核酸、蛋白质和脂质的独特优势,可动态反映来源细胞的基因组与转录组特征,逐渐成为液体活检的新型分析模式^[95]。研究表明 HCC 患者血清中 sEVs 所携带的剪接因子 3b 亚基 4 (splicing factor 3b subunit 4, SF3B4) 在不同 HCC 阶段均具有最佳的诊断性能,灵敏度高达 96%,尤其是在低 AFP (<20 ng/mL) 的情况下,SF3B4 表达可能与 HCC 中的肿瘤免疫浸润有关,凸显其作为高灵敏度无创诊断标志物的转化潜力^[96]。在诊断模型构建方面,联合分析 sEVs 来源的 miR-140-3p、miR-3200-3p 与 AFP、HBsAg 及年龄参数,可建立特异度 90.1%、敏感度 87.8% 的预测模型,该模型在极早期 HCC 筛查中表现尤为突出^[97]。多项研究致力于优化 sEVs 的分选与富集方法,以提升其在 HCC 早期诊断与鉴别诊断中的实用价值^[107-109]。最新技术突破包括:基于磷脂酰丝氨酸亲和肽修饰的二氧化硅微球 (silica microspheres, SiO₂-pep) 可实现 sEVs 高效捕获,其蛋白质组学分析成功筛选出 HCC 特异性差异蛋白谱^[98];三维分层多孔 SiO₂ 芯片通过优化 sEVs 捕获效率,使 LUCAT-1 和 EGFR-AS-1 的诊断性能超越传统 AFP/DCP 指标^[99];多糖壳聚糖磁珠技术分离的 sEVs 囊泡蛋白组 (KNG1、F11 等) 在早期诊断及鉴别诊断中的效能显著优于 AFP^[100]。此外,我们课题组也开展了相关研究,发现 HCC 患者尿液中 sEVs 的磷脂组组成与健康人群存在显著差异。基于此,我们设计了一种诊断模型,包含 2 种神经鞘磷脂、4 种磷脂酰胆碱及 1 种磷脂酰甘油,其联合诊断的效能可高达 98%^[15],并成功开发了相关的诊断试剂盒^[16],为无创性肝癌检测提供了新的可能。

2.4.3 sEVs在肝癌治疗中的转化前景

在 HCC 的治疗领域,sEVs 同样展现出广阔的应用前景。最新研究显示,通过将树突状细胞来源

表2 sEVs在肝脏疾病中的作用

sEVs内容物	肝病类型	表达水平	机制	参考文献
miR-122	乙型肝炎	上调	通过 <i>LMNB2</i> 、 <i>ADAM10</i> 、 <i>ADAM17</i> 来调节细胞迁移，并抑制上皮-间充质转化与细胞程序性死亡、细胞膜通透性的增加、线粒体诱导的凋亡和氧化应激有关	[37-41]
miR-122、miR-146a	丙型肝炎	上调	诱导丙型肝炎病毒的RNA翻译	[32, 38]
miR-34a	NAFLD	上调	激活肝细胞caspase-3/Panx1/P2X4信号轴，引发钙离子内流	[50]
miR-223	NAFLD	上调	诱导脂质吸收和合成以及抑制脂肪酸氧化，促进NAFLD的发展	[51]
FZD7	NAFLD	上调	抑制肝细胞中的PDZ结合基序及促纤维化基因，发挥抑制肝纤维化作用	[53, 54]
miR-690	NAFLD	上调	激活Wnt/ β -catenin信号通路，促进NAFLD进展	[33]
			抑制肝星状细胞纤维化相关基因表达	
			维持抗炎微环境，下调促炎因子生成	
			阻断肝细胞新生脂肪生成通路	
			通过miR-690-NADK调控轴影响脂肪酸合成酶活性	
miR-506-3p	肝硬化/肝纤维化	下调	上调 Nur77水平，通过miR-506-3p/Nur77通路激活HSCs	[60-62]
miR-222	肝硬化/肝纤维化	上调	抑制转铁蛋白受体诱导的铁死亡来促进肝星状细胞活化	[63]
miR-214	肝硬化/肝纤维化	上调	靶向及调节CCN2的表达，并通过sEVs从肝星状细胞转移到邻近细胞，以此促进肝脏纤维化	[64-66]
LncRNA-H19	肝硬化/肝纤维化	上调	增加 G _i /S 细胞周期转换，促进肝星状细胞的增殖和激活	[68-72]
VNN1	肝硬化/肝纤维化	上调	沉默上游的miR-17、miR-196a和miR-148a	[74]
			介导内皮细胞内化sEVs	
TF	肝硬化/肝纤维化	上调	促进内皮细胞迁移和体内血管生成	[76, 77]
circDIDO1	肝硬化/肝纤维化	下调	激活外源性凝血途径	[81]
ODNs	肝硬化/肝纤维化	下调	参与miR-141-3p/PTEN/AKT通路，诱导肝星状细胞凋亡和细胞周期停滞	
			减少炎症因子和纤维化因子的表达	
			阻断肝星状细胞的激活	[83]
pIgR	肝癌	上调	激活 PDK1/Akt/GSK-3 β / β -catenin 信号通路，促进肝癌生长	[86]
vWF-A	肝癌	上调	提高VEGF-A、AFGF2水平，促进肿瘤血管生成、肿瘤内皮黏附、肺部定植和转移	[5]
			激活ERK信号进一步刺激肝细胞癌生长和转移	
PKM2	肝癌	上调	诱导单核细胞分化为肿瘤浸润巨噬细胞	[87]
			通过 CCL1-CCR8轴分泌炎症因子，促进肝癌生长	
miR-92a-2-5p	肝癌	上调	靶向AR的mRNA 的 3'UTR，抑制 AR 翻译	[90]
			改变 PHLPP/p-AKT/ β -catenin 信号转导，增加肝癌细胞侵袭性	
lncMMPA	肝癌	上调	诱导M2巨噬细胞极化，增强有氧糖酵解途径并加速肝癌细胞增殖	[89]
			与miR-548 s相互作用，靶向 ALDH1A3来调节细胞葡萄糖代谢	
miR-500a-3p	肝癌	上调	通过SOCS2/JAK3/STAT5A/STAT5B 通路活化肝星状细胞	[90]
			促进CD4 ⁺ T细胞消耗来增强免疫抑制微环境	
miR-362-5p	肝癌	上调	激活NF- κ B信号通路，诱导中性粒细胞浸润和消耗T细胞，促进肝癌进展	[91]

表2 sEVs在肝脏疾病中的作用(续表)

sEVs内容物	肝病类型	表达水平	机制	参考文献
S100A10	肝癌	上调	上调EGFR的表达, 促进AKT和ERK信号转导来促进上皮-间质转化与整合素受体结合, 提高纤维蛋白的水平来促进肝细胞癌进展	[92]
S100A4	肝癌	上调	促进STAT3磷酸化, 上调骨桥蛋白表达来促进肝细胞癌转移	[93]
SF3B4	肝癌	上调	与髓源性抑制细胞相关, 促进肝细胞癌中的肿瘤免疫浸润	[96]
miR-140-3p、miR-3200-3p	肝癌	下调	抑癌基因, miR-3200-3p结合NF-κB介导炎症过程	[97]
circCCAR1	肝癌	上调	通过circCCAR1/miR-127-5p/WTAP轴的反馈调控引起CD8 ⁺ T细胞功能障碍, 对抗PD1免疫疗法	[102]
circUHRF1	肝癌	—	通过降解miR-449c-5p上调TIM-3的表达来抑制NK细胞功能, 促进免疫抑制	[103]
CFH	肝癌	上调	保护肝癌细胞免受补体介导的细胞裂解, 促进肝癌细胞生长	[104]

的 sEVs 与 HCC 特异性肽段 (P47-P)、甲胎蛋白表位 (AFP212-A2) 以及高迁移率族核小体结合蛋白 1 的功能域相结合, 可制备具有抗原递呈功能的生物纳米疫苗, 从而激活针对 HCC 的个体化肿瘤特异性免疫反应, 这一策略为 HCC 的个性化免疫治疗提供了具有可行性的研究基础^[101]。机制研究显示, HCC 细胞分泌的 sEVs 中富集 circCCAR1, 形成 circCCAR1/miR-127-5p/WTAP 轴的反馈调控通路, 其通过稳定 PD-1 蛋白表达, 诱导 CD8⁺ T 细胞功能障碍, 从而导致对抗 PD-1 免疫疗法的耐受性, 为克服免疫治疗抵抗提供了新的潜在干预靶点^[102]。此外, HCC 细胞分泌的 sEVs 中的 circUHRF1 通过降解 miR-449c-5p, 上调 TIM-3 表达, 抑制 NK 细胞功能, 进一步营造免疫抑制微环境, 为 HCC 患者提供潜在的治疗靶标^[103]。在肿瘤免疫逃逸机制方面, 转移性 HCC 细胞 sEVs 中富含补体蛋白因子 H (complement factor H, CFH), 通过抑制补体介导的细胞裂解反应形成免疫保护屏障, 而抗 CFH 抗体干预可显著延缓肿瘤生长与转移进程, 凸显其作为治疗靶点的临床转化价值^[104]。在精准递送领域, 技术突破显示, 通过提取 HCC 中肿瘤来源 sEVs (tumour-derived extracellular vesicles, TDEV) 膜成分构建的混合纳米囊泡, 可利用硫酸肝素蛋白聚糖介导的特异性识别机制实现 siRNA 高效靶向递送, 这种仿生递送系统为 HCC 基因治疗开辟了新范式^[105]。这些进展系统阐释了 sEVs 在免疫调控 - 靶向递送双重维度的治疗潜能, 为开发基于 sEVs 功能可编程性的精准治疗体系提供理论支撑。

3 总结与展望

综上所述, sEVs 中携带的基因、转录因子及蛋白质在多种肝病的发生和进展中发挥重要作用 (表 2)。我们课题组的研究进一步发现, 尿液 sEVs 中富含的磷脂分子在肝病的无创诊断中展现出独特的潜力^[16]。这些磷脂分子不仅可有效区分正常人群与肝病患者 (包括乙型肝炎、肝硬化和肝癌), 而且不同肝病类型呈现出特异性的磷脂分子表达谱。此外, 基于 sEVs 磷脂组学特征构建的诊断模型在 HCC 识别中的准确率高达 98%, 为 sEVs 在液体活检中的临床肝病诊疗提供了有力支持^[16]。然而, sEVs 在肝病发病机制中的研究和临床转化中的应用还面临诸多挑战。首先, sEVs 携带多种复杂的生物活性分子, 其作用机制尚未完全阐明。不同细胞类型在不同病理或生理状态下所释放的 sEVs 成

分存在显著差异, 这为明确特定分子在肝病发生发展中的功能带来了不小的难度。其次, 作为药物递送工具, 虽然 sEVs 具有一定的靶向能力, 但其在肝脏和脾脏中的蓄积有限, 且体内半衰期较短, 限制了其治疗效果的持续性和稳定性。尽管面临上述挑战, sEVs 在肝病诊断与治疗中的潜力仍不容忽视。随着对其生物学功能和分子机制认识的不断深入, 以及 sEVs 提取、修饰和递送等关键技术的持续优化, 未来 sEVs 有望在肝病的早期诊断及精准治疗中发挥更加重要的作用。

[参 考 文 献]

- [1] Welsh JA, Goberdhan DC, O'Driscoll L, et al. MISEV2023: an updated guide to EV research and applications. *J Extracell Vesicles*, 2024, 13: e12416
- [2] van Niel G, Carter DRF, Clayton A, et al. Challenges and directions in studying cell-cell communication by extracellular vesicles. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2022, 23: 369-82
- [3] Stine ZE, Schug ZT, Salvino JM, et al. Targeting cancer metabolism in the era of precision oncology. *Nat Rev Drug Discov*, 2022, 21: 141-62
- [4] Taha EA, Ono K, Eguchi T. Roles of extracellular HSPs as biomarkers in immune surveillance and immune evasion. *Int J Mol Sci*, 2019, 20: 4588
- [5] Wong SWK, Tey SK, Mao X, et al. Small extracellular vesicle-derived vWF induces a positive feedback loop between tumor and endothelial cells to promote angiogenesis and metastasis in hepatocellular carcinoma. *Adv Sci (Weinh)*, 2023, 10: e2302677
- [6] Whiteside TL, Diergaarde B, Hong C. Tumor-derived exosomes (TEX) and their role in immuno-oncology. *Int J Mol Sci*, 2021, 22: 6234
- [7] Chen X, Zhao Z, Zhao R, et al. STC1 encapsulated in small extracellular vesicles from laryngeal squamous cell carcinoma cells induces CD8(+) T cell dysfunction by reprogramming tumor-associated macrophages into M2-like macrophages. *Cancer Immunol Immunother*, 2025, 74: 64
- [8] Li C, Liu C, Ma H, et al. Lymphocytes-associated extracellular vesicles activate natural killer cells in HNSCC. *Cancer Sci*, 2025, 116: 633-42
- [9] Sun Y, He X, Han J, et al. Activated hepatic stellate cell-derived small extracellular vesicles facilitate M2 macrophage polarization and hepatoma progression via miR-27a-3p. *Front Immunol*, 2024, 15: 1489679
- [10] Harding C, Heuser J, Stahl P. Receptor-mediated endocytosis of transferrin and recycling of the transferrin receptor in rat reticulocytes. *J Cell Biol*, 1983, 97: 329-39
- [11] Kalluri R, Lebleu VS. The biology, function, and biomedical applications of exosomes. *Science*, 2020, 367: eaau6977
- [12] Zhang L, Yu D. Exosomes in cancer development, metastasis, and immunity. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer*, 2019, 1871: 455-68
- [13] Thery C, Witwer KW, Aikawa E, et al. Minimal information for studies of extracellular vesicles 2018 (MISEV2018): a position statement of the International Society for Extracellular Vesicles and update of the MISEV2014 guidelines. *J Extracell Vesicles*, 2018, 7: 1535750
- [14] Chen Q, Chen L, Zhong Q, et al. Optimization of urinary small extracellular vesicle isolation protocols: implications in early diagnosis, stratification, treatment and prognosis of diseases in the era of personalized medicine. *Am J Transl Res*, 2020, 12: 6302-13
- [15] 钟琼慧. 肝细胞癌患者尿液外泌体中差异性磷脂的筛选及鉴定[D]. 南昌: 南昌大学, 2020
- [16] 王小中, 钟琼慧, 刘静, 等. 用于肝癌筛查的尿液外泌体磷脂标志物及其试剂盒: 中国, 201910221864.9[P]. 2020-02-04
- [17] Byts N, Makieieva O, Zhyvolozhnyi A, et al. Purification of bacterial-enriched extracellular vesicle samples from feces by density gradient ultracentrifugation. *Methods Mol Biol*, 2023, 2668: 211-26
- [18] Yu L, Zhu J, Liu J, et al. A comparison of traditional and novel methods for the separation of exosomes from human samples. *Biomed Res Int*, 2018, 2018: 3634563
- [19] Xu W, Li A, Chen J, et al. Research development on exosome separation technology. *J Membr Biol*, 2023, 256: 25-34
- [20] Chen W, Gan Z, Qin J. [Microfluidic strategies for separation and analysis of circulating exosomes]. *Se Pu*, 2021, 39: 968-80
- [21] Hu L, Zheng X, Zhou M, et al. Optimized AF4 combined with density cushion ultracentrifugation enables profiling of high-purity human blood extracellular vesicles. *J Extracell Vesicles*, 2024, 13: e12470
- [22] Verma N, Tamang R, Mehata AK, et al. Exosomes fused liposomes: formulation, stability studies and theranostic evaluation for breast cancer applications. *Int J Pharm*, 2025, 682: 125907
- [23] Li Y, Yang K, Yuan H, et al. Surface nanosieving polyether sulfone particles with graphene oxide encapsulation for the negative isolation toward extracellular vesicles. *Anal Chem*, 2021, 93: 16835-44
- [24] Wang W, Sun H, Duan H, et al. Isolation and usage of exosomes in central nervous system diseases. *CNS Neurosci Ther*, 2024, 30: e14677
- [25] Thomas S, Kaur J, Kamboj R, et al. Investigate the efficacy of size exclusion chromatography for the isolation of extracellular vesicles from *C. elegans*. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2024, 1233: 123982
- [26] Kangas P, Nyman TA, Metsahonkala L, et al. Towards optimised extracellular vesicle proteomics from cerebrospinal fluid. *Sci Rep*, 2023, 13: 9564
- [27] Yuan Y, Mei Z, Qu Z, et al. Exosomes secreted from cardiomyocytes suppress the sensitivity of tumor ferroptosis in ischemic heart failure. *Signal Transduct Target Ther*, 2023, 8: 121

- [28] Gao Y, Zhang Z, Huang X, et al. HBV-associated hepatocellular carcinomas inhibit antitumor CD8(+) T cell via the long noncoding RNA HDAC2-AS2. *Nat Commun*, 2025, 16: 2055
- [29] Nazarie Ignat S, Gharbia S, Hermenean A, et al. Regenerative potential of mesenchymal stem cells' (MSCs) secretome for liver fibrosis therapies. *Int J Mol Sci*, 2021, 22: 13292
- [30] Feng H, Cheng ASL, Tsang DP, et al. Cell cycle-related kinase is a direct androgen receptor-regulated gene that drives β -catenin/T cell factor-dependent hepatocarcinogenesis. *J Clin Invest*, 2011, 121: 3159-75
- [31] Bard-Chapeau EA, Li S, Ding J, et al. Ptpn11/Shp2 acts as a tumor suppressor in hepatocellular carcinogenesis. *Cancer Cell*, 2011, 19: 629-39
- [32] Kim O, Nam D, Hahn YS. The pannexin 1/purinergic receptor P2X4 pathway controls the secretion of microRNA-containing exosomes by HCV-infected hepatocytes. *Hepatology*, 2021, 74: 3409-26
- [33] Gao H, Jin Z, Bandyopadhyay G, et al. MiR-690 treatment causes decreased fibrosis and steatosis and restores specific Kupffer cell functions in NASH. *Cell Metab*, 2022, 34: 978-90
- [34] Watanabe T, Tsuchiya A, Takeuchi S, et al. Development of a non-alcoholic steatohepatitis model with rapid accumulation of fibrosis, and its treatment using mesenchymal stem cells and their small extracellular vesicles. *Regen Ther*, 2020, 14: 252-61
- [35] Younossi ZM, Wong G, Anstee QM, et al. The global burden of liver disease. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 2023, 21: 1978-91
- [36] Yang JD, Hainaut P, Gores GJ, et al. A global view of hepatocellular carcinoma: trends, risk, prevention and management. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2019, 16: 589-604
- [37] Hsu S, Wang B, Kota J, et al. Essential metabolic, anti-inflammatory, and anti-tumorigenic functions of miR-122 in liver. *J Clin Invest*, 2012, 122: 2871-83
- [38] 刘娇, 刘青, 王大明, 等. 慢性乙型肝炎患者血清外泌体 miR-122、miR-146a 表达与 HBV-DNA 载量的相关性. *疑难病杂志*, 2020, 19: 976-9
- [39] Mosedale M, Eaddy JS, Trask OJJ, et al. miR-122 release in exosomes precedes overt tol-vaptan-induced necrosis in a primary human hepatocyte micropatterned coculture model. *Toxicol Sci*, 2018, 161: 149-58
- [40] Li X, Yang H, Yang T. miR-122 inhibits hepatocarcinoma cell progression by targeting LMNB2. *Oncol Res*, 2020, 28: 41-9
- [41] Colaianni F, Zelli V, Compagnoni C, et al. Role of circulating microRNAs in liver disease and HCC: focus on miR-122. *Genes (Basel)*, 2024, 15: 1313
- [42] Shen M, Fan X, Shen Y, et al. Myeloid-derived suppressor cells ameliorate liver mitochondrial damage to protect against autoimmune hepatitis by releasing small extracellular vesicles. *Int Immunopharmacol*, 2023, 114: 109540
- [43] Jesus S, Soares E, Cruz MT, et al. Exosomes as adjuvants for the recombinant hepatitis B antigen: first report. *Eur J Pharm Biopharm*, 2018, 133: 1-11
- [44] Lindow M, Kauppinen S. Discovering the first microRNA-targeted drug. *J Cell Biol*, 2012, 199: 407-12
- [45] Shi Y, Du L, Lv D, et al. Exosomal interferon-induced transmembrane protein 2 transmitted to dendritic cells inhibits interferon α pathway activation and blocks anti-hepatitis B virus efficacy of exogenous interferon α . *Hepatology*, 2019, 69: 2396-413
- [46] Kim V, Abreu RM, Nakagawa DM, et al. Pegylated interferon alfa for chronic hepatitis B: systematic review and meta-analysis. *J Viral Hepat*, 2016, 23: 154-69
- [47] Ghany MG. Current treatment guidelines of chronic hepatitis B: the role of nucleos(t)ide analogues and peginterferon. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*, 2017, 31: 299-309
- [48] Mcpherson S, Armstrong MJ, Cobbold JF, et al. Quality standards for the management of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD): consensus recommendations from the British Association for the Study of the Liver and British Society of Gastroenterology NAFLD Special Interest Group. *Lancet Gastroenterol Hepatol*, 2022, 7: 755-69
- [49] De A, Duseja A. Natural history of simple steatosis or nonalcoholic fatty liver. *J Clin Exp Hepatol*, 2020, 10: 255-62
- [50] Xu Y, Zhu Y, Hu S, et al. Hepatocyte miR-34a is a key regulator in the development and progression of non-alcoholic fatty liver disease. *Mol Metab*, 2021, 51: 101244
- [51] Hou X, Yin S, Ren R, et al. Myeloid-cell-specific IL-6 signaling promotes microRNA-223-enriched exosome production to attenuate NAFLD-associated fibrosis. *Hepatology*, 2021, 74: 116-32
- [52] Tilg H, Adolph TE, Dudek M, et al. Non-alcoholic fatty liver disease: the interplay between metabolism, microbes and immunity. *Nat Metab*, 2021, 3: 1596-607
- [53] Scavo MP, Depalo N, Rizzi F, et al. Exosomal FZD-7 expression is modulated by different lifestyle interventions in patients with NAFLD. *Nutrients*, 2022, 14: 1133
- [54] Chan KK, Lo RC. Deregulation of frizzled receptors in hepatocellular carcinoma. *Int J Mol Sci*, 2018, 19: 313
- [55] Nakao Y, Amrollahi P, Parthasarathy G, et al. Circulating extracellular vesicles are a biomarker for NAFLD resolution and response to weight loss surgery. *Nanomedicine*, 2021, 36: 102430
- [56] Baranova A, Maltseva D, Tonevitsky A. Adipose may actively delay progression of NAFLD by releasing tumor-suppressing, anti-fibrotic miR-122 into circulation. *Obes Rev*, 2019, 20: 108-18
- [57] Sultana M, Islam MA, Khairnar R, et al. A guide to pathophysiology, signaling pathways, and preclinical models of liver fibrosis. *Mol Cell Endocrinol*, 2025, 598: 112448
- [58] Wang L, Qu J, Li J, et al. Si-Wu-Tang improves liver fibrosis by restoring liver sinusoidal endothelial cell functionality and reducing communication with hepatic stellate cells. *Chin Med*, 2024, 19: 179
- [59] Kostallari E, Valainathan S, Biquard L, et al. Role of

- extracellular vesicles in liver diseases and their therapeutic potential. *Adv Drug Deliv Rev*, 2021, 175: 113816
- [60] Yin M, Ding X, Yin S, et al. Exosomes from hepatitis B virus-infected hepatocytes activate hepatic stellate cells and aggravate liver fibrosis through the miR-506-3p/Nur77 pathway. *J Biochem Mol Toxicol*, 2023, 37: e23432
- [61] Sheng M, Weng Y, Cao Y, et al. Caspase 6/NR4A1/SOX9 signaling axis regulates hepatic inflammation and pyroptosis in ischemia-stressed fatty liver. *Cell Death Discov*, 2023, 9: 106
- [62] Miao L, Yang Y, Liu Y, et al. Glycerol kinase interacts with nuclear receptor NR4A1 and regulates glucose metabolism in the liver. *FASEB J*, 2019, 33: 6736-47
- [63] Zhang Q, Qu Y, Zhang Q, et al. Exosomes derived from hepatitis B virus-infected hepatocytes promote liver fibrosis via miR-222/TFRC axis. *Cell Biol Toxicol*, 2023, 39: 467-81
- [64] Aghajanzadeh T, Talkhabi M, Zali MR, et al. Diagnostic potential and pathogenic performance of circulating miR-146b, miR-194, and miR-214 in liver fibrosis. *Noncoding RNA Res*, 2023, 8: 471-80
- [65] Messner CJ, Schmidt S, Ozkul D, et al. Identification of miR-199a-5p, miR-214-3p and miR-99b-5p as fibrosis-specific extracellular biomarkers and promoters of HSC activation. *Int J Mol Sci*, 2021, 22: 9799
- [66] Chen L, Chen R, Kemper S, et al. Suppression of fibrogenic signaling in hepatic stellate cells by Twist1-dependent microRNA-214 expression: role of exosomes in horizontal transfer of Twist1. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2015, 309: G491-9
- [67] Chen L, Charrier A, Zhou Y, et al. Epigenetic regulation of connective tissue growth factor by microRNA-214 delivery in exosomes from mouse or human hepatic stellate cells. *Hepatology*, 2014, 59: 1118-29
- [68] Liu R, Li X, Zhu W, et al. Cholangiocyte-derived exosomal long noncoding RNA H19 promotes hepatic stellate cell activation and cholestatic liver fibrosis. *Hepatology*, 2019, 70: 1317-35
- [69] Zhu J, Luo Z, Pan Y, et al. H19/miR-148a/USP4 axis facilitates liver fibrosis by enhancing TGF- β signaling in both hepatic stellate cells and hepatocytes. *J Cell Physiol*, 2019, 234: 9698-710
- [70] Lu Q, Guo Z, Xie W, et al. The lncRNA H19 mediates pulmonary fibrosis by regulating the miR-196a/COL1A1 axis. *Inflammation*, 2018, 41: 896-903
- [71] Xie H, Xue J, Chao F, et al. Long non-coding RNA-H19 antagonism protects against renal fibrosis. *Oncotarget*, 2016, 7: 51473-81
- [72] Fang Y, Fullwood MJ. Roles, functions, and mechanisms of long non-coding RNAs in cancer. *Genomics Proteomics Bioinformatics*, 2016, 14: 42-54
- [73] Gao J, Wei B, Liu M, et al. Endothelial p300 promotes portal hypertension and hepatic fibrosis through C-C motif chemokine ligand 2-mediated angiocrine signaling. *Hepatology*, 2021, 73: 2468-83
- [74] Greuter T, Shah VH. Hepatic sinusoids in liver injury, inflammation, and fibrosis: new pathophysiological insights. *J Gastroenterol*, 2016, 51: 511-9
- [75] Bitto N, Liguori E, La Mura V. Coagulation, microenvironment and liver fibrosis. *Cells*, 2018, 7: 85
- [76] Owens APR, Passam FH, Antoniak S, et al. Monocyte tissue factor-dependent activation of coagulation in hypercholesterolemic mice and monkeys is inhibited by simvastatin. *J Clin Invest*, 2012, 122: 558-68
- [77] Rautou P, Tatsumi K, Antoniak S, et al. Hepatocyte tissue factor contributes to the hypercoagulable state in a mouse model of chronic liver injury. *J Hepatol*, 2016, 64: 53-9
- [78] Fabregat I, Moreno-Caceres J, Sanchez A, et al. TGF- β signalling and liver disease. *FEBS J*, 2016, 283: 2219-32
- [79] Nishikawa K, Osawa Y, Kimura K. Wnt/ β -catenin signaling as a potential target for the treatment of liver cirrhosis using antifibrotic drugs. *Int J Mol Sci*, 2018, 19: 3103
- [80] Fan B, Xie H, Tan Q, et al. Role of exosomal modulation of macrophages in liver fibrosis. *J Clin Transl Hepatol*, 2024, 12: 201-9
- [81] Ma L, Wei J, Zeng Y, et al. Mesenchymal stem cell-originated exosomal circDIDO1 suppresses hepatic stellate cell activation by miR-141-3p/PTEN/AKT pathway in human liver fibrosis. *Drug Deliv*, 2022, 29: 440-53
- [82] Zhang Z, Shang J, Yang Q, et al. Exosomes derived from human adipose mesenchymal stem cells ameliorate hepatic fibrosis by inhibiting PI3K/Akt/mTOR pathway and remodeling choline metabolism. *J Nanobiotechnology*, 2023, 21: 29
- [83] He F, Li W, Li X, et al. Exosome-mediated delivery of RBP-J decoy oligodeoxynucleotides ameliorates hepatic fibrosis in mice. *Theranostics*, 2022, 12: 1816-28
- [84] Yochum ZA, Cades J, Mazzacurati L, et al. A first-in-class TWIST1 inhibitor with activity in oncogene-driven lung cancer. *Mol Cancer Res*, 2017, 15: 1764-76
- [85] Kumar MA, Baba SK, Sadida HQ, et al. Extracellular vesicles as tools and targets in therapy for diseases. *Signal Transduct Target Ther*, 2024, 9: 27
- [86] Tey SK, Wong SWK, Chan JYT, et al. Patient pIgR-enriched extracellular vesicles drive cancer stemness, tumorigenesis and metastasis in hepatocellular carcinoma. *J Hepatol*, 2022, 76: 883-95
- [87] Hou P, Luo L, Chen H, et al. Ectosomal PKM2 promotes HCC by inducing macrophage differentiation and remodeling the tumor microenvironment. *Mol Cell*, 2020, 78: 1192-206
- [88] Liu G, Ouyang X, Sun Y, et al. The miR-92a-2-5p in exosomes from macrophages increases liver cancer cells invasion via altering the AR/PHLPP/p-AKT/ β -catenin signaling. *Cell Death Differ*, 2020, 27: 3258-72
- [89] Xu M, Zhou C, Weng J, et al. Tumor associated macrophages-derived exosomes facilitate hepatocellular carcinoma malignance by transferring lncMMPA to tumor cells and activating glycolysis pathway. *J Exp Clin Cancer Res*, 2022, 41: 253
- [90] Zhang Y, Li X, Chen H, et al. Cancer cell-derived exosomal miR-500a-3p modulates hepatic stellate cell

- activation and the immunosuppressive microenvironment. *Adv Sci (Weinh)*, 2025, 12: e2404089
- [91] Bi W, Li X, Jiang Y, et al. Tumor-derived exosomes induce neutrophil infiltration and reprogramming to promote T-cell exhaustion in hepatocellular carcinoma. *Theranostics*, 2025, 15: 2852-69
- [92] Wang X, Huang H, Sze KM, et al. S100A10 promotes HCC development and progression via transfer in extracellular vesicles and regulating their protein cargos. *Gut*, 2023, 72: 1370-84
- [93] Sun H, Wang C, Hu B, et al. Exosomal S100A4 derived from highly metastatic hepatocellular carcinoma cells promotes metastasis by activating STAT3. *Signal Transduct Target Ther*, 2021, 6: 187
- [94] Fan W, Cao D, Yang B, et al. Hepatic prohibitin 1 and methionine adenosyltransferase $\alpha 1$ defend against primary and secondary liver cancer metastasis. *J Hepatol*, 2024, 80: 443-53
- [95] Lehrich BM, Zhang J, Monga SP, et al. Battle of the biopsies: role of tissue and liquid biopsy in hepatocellular carcinoma. *J Hepatol*, 2024, 80: 515-30
- [96] Son JA, Weon JH, Baek GO, et al. Circulating small extracellular vesicle-derived splicing factor 3b subunit 4 as a non-invasive diagnostic biomarker of early hepatocellular carcinoma. *J Exp Clin Cancer Res*, 2023, 42: 288
- [97] Luo X, Jiao L, Guo Q, et al. Diagnostic model for hepatocellular carcinoma using small extracellular vesicle-propagated miRNA signatures. *Front Mol Biosci*, 2024, 11: 1419093
- [98] Yang K, Jia M, Cheddah S, et al. Peptide ligand-SiO(2) microspheres with specific affinity for phosphatidylserine as a new strategy to isolate exosomes and application in proteomics to differentiate hepatic cancer. *Bioact Mater*, 2022, 15: 343-54
- [99] Yi K, Wang Y, Rong Y, et al. Transcriptomic signature of 3D hierarchical porous chip enriched exosomes for early detection and progression monitoring of hepatocellular carcinoma. *Adv Sci (Weinh)*, 2024, 11: e2305204
- [100] Cao L, Zhou Y, Lin S, et al. The trajectory of vesicular proteomic signatures from HBV-HCC by chitosan-magnetic bead-based separation and DIA-proteomic analysis. *J Extracell Vesicles*, 2024, 13: e12499
- [101] Zuo B, Zhang Y, Zhao K, et al. Universal immunotherapeutic strategy for hepatocellular carcinoma with exosome vaccines that engage adaptive and innate immune responses. *J Hematol Oncol*, 2022, 15: 46
- [102] Hu Z, Chen G, Zhao Y, et al. Exosome-derived circCCAR1 promotes CD8⁺ T-cell dysfunction and anti-PD1 resistance in hepatocellular carcinoma. *Mol Cancer*, 2023, 22: 55
- [103] Zhang P, Gao C, Huang X, et al. Cancer cell-derived exosomal circUHRF1 induces natural killer cell exhaustion and may cause resistance to anti-PD1 therapy in hepatocellular carcinoma. *Mol Cancer*, 2020, 19: 110
- [104] Mao X, Zhou L, Tey SK, et al. Tumour extracellular vesicle-derived complement factor H promotes tumorigenesis and metastasis by inhibiting complement-dependent cytotoxicity of tumour cells. *J Extracell Vesicles*, 2020, 10: e12031
- [105] Zhou X, Miao Y, Wang Y, et al. Tumour-derived extracellular vesicle membrane hybrid lipid nanovesicles enhance siRNA delivery by tumour-homing and intracellular freeway transportation. *J Extracell Vesicles*, 2022, 11: e12198