


外泌体来源的miRNA在结直肠癌中的作用

谭畅^{1,2,3}, 温莉¹, 马帅¹, 张强¹, 韦永安¹, 李世刚^{3*}, 李新志^{3*} 

¹三峡大学附属仁和医院, 湖北 宜昌

²三峡大学肿瘤微环境与免疫治疗湖北省重点实验室, 湖北 宜昌

³三峡大学基础医学院, 湖北 宜昌

收稿日期: 2022年12月28日; 录用日期: 2023年1月21日; 发布日期: 2023年1月31日

摘要

外泌体是由原核细胞和真核细胞主动向外释放的脂质双分子层囊泡样结构, 可携带多种特异的生物活性分子如蛋白质、脂质、miRNA和lncRNA等, 进入相应的靶细胞, 参与调控细胞的生理及病理功能。外泌体是将miRNA和其他活性物质运输到周围细胞的容器, 外泌体介导的miRNA可参与结直肠癌的发生、侵袭和转移, 并在结直肠癌诊断、预后和治疗过程中扮演重要角色。本文就外泌体来源的miRNA在结直肠癌发生发展过程中的作用、诊断、预后评估及治疗中的相关研究进展进行综述。

关键词

结直肠癌, 外泌体, miRNA, 肿瘤微环境, 结直肠癌治疗

Role of Exosome-Derived miRNA in Colorectal Cancer

Chang Tan^{1,2,3}, Li Wen¹, Shuai Ma¹, Qiang Zhang¹, Yong'an Wei¹, Shigang Li^{3*}, Xinzhi Li^{3*} 

¹Affiliated Renhe Hospital of China Three Gorges University, Yichang Hubei

²Hubei Key Laboratory of Tumor Microenvironment and Immunotherapy, China Three Gorges University, Yichang Hubei

³College of Basic Medical Science, China Three Gorges University, Yichang Hubei

Received: Dec. 28th, 2022; accepted: Jan. 21st, 2023; published: Jan. 31st, 2023

Abstract

Exosomes are lipid bilayer vesicle-like structures actively released by prokaryotic cells and euka-

*通讯作者 Email: lixpj@163.com, fox201@163.com

文章引用: 谭畅, 温莉, 马帅, 张强, 韦永安, 李世刚, 李新志. 外泌体来源的 miRNA 在结直肠癌中的作用[J]. 临床医学进展, 2023, 13(1): 986-993. DOI: 10.12677/acm.2023.131140

ryotic cells. They can carry a variety of specific biologically active molecules such as proteins, lipids, miRNA, and lncRNA into the corresponding target cells, involved in regulating the physiological and pathological functions of cells. Exosomes are containers that transport miRNA and other active substances to surrounding cells. Exosome-mediated miRNA can be involved in the occurrence, invasion and metastasis of colorectal cancer, and play an important role in the diagnosis, prognosis and treatment of colorectal cancer. This article reviews the related research progress on the role of exosomal miRNA in the occurrence and development of colorectal cancer, diagnosis, prognosis evaluation and treatment.

Keywords

Colorectal Cancer, Exosomes, miRNA, Tumor Microenvironment, Treatment of Colorectal Cancer

Copyright © 2023 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

结直肠癌是最多发的恶性肿瘤之一，全球结直肠癌发病率排第 3 位，死亡率位居第 2 位，严重威胁了上百万人的生命健康[1]。在我国，随着经济发展对人们生活方式的改变及人口老龄化的影响，结直肠癌发病率呈持续增长态势[2]。外泌体是直径范围约为 40~160 nm 的具有磷脂双分子层结构的囊泡样小体，内含母体细胞来源的多种生物活性分子，包括蛋白质、脂质、DNA、RNA、mRNA、lncRNA 及微小 RNA (microRNA, miRNA)，作为近距离和远距离细胞间通讯的媒介参与细胞之间的信号传递，调节细胞的生理和病理功能[3]。miRNA 是长度约为 17~24 nt 的小非编码 RNA，它们广泛参与 mRNA 的转录后调节过程[4]。已知 miRNA 可以靶向大多数 mRNA，使它们能够在各种生理和发育过程中具有重要的调节作用，miRNA 介导的基因表达控制作用在细胞对环境胁迫如饥饿、缺氧、氧化应激和 DNA 损伤的反应中至关重要，从而与结直肠癌等疾病密切相关[5]。近几年研究发现，肿瘤外泌体来源的 miRNA 可以通过细胞间通讯影响结直肠癌的发展，同时可作为生物标志物在癌症诊断和预后以及治疗的应用中产生深远影响，提高诊断的准确性，丰富靶向治疗的手段[6]。越来越多的学者研究证明，外泌体 miRNA 与结直肠癌进展机制直接相关，并取得了重要突破[7]。

2. 外泌体的研究背景

尽管在上世纪 60 年代后期首次描述了哺乳动物组织或体液中细胞周围存在囊泡，“外泌体”一词 1981 年才由 Tram 等[8]提出，但通用术语细胞外囊泡(extracellular vesicles, EVs)直到 2011 年才被提出来，用于定义所有细胞外的脂质双分子层封闭结构。EVs 可以通过细胞质膜的向外出芽或通过细胞内吞运输途径形成，该途径涉及晚期多囊泡体(multivesicular body, MVB)与质膜的融合，融合过程导致 MVB 包裹的腔内小囊泡(intraluminal vesicles, ILVs)向细胞外释放，产生一种与 ILVs 大小相同(直径 < 200 nm)的 EVs 亚型，称为外泌体。外泌体是 EVs 一个重要的亚群，直径普遍在 40~160 nm 左右，几乎被所有已知细胞分泌，广泛存在于各种体液中，包括血清、尿液、脑脊液、唾液和母乳。最初的观点认为，外泌体的分泌过程是细胞消除不必要蛋白质等胞内废物的一种机制[9] [10]。然而，后来的研究结果表明，外泌体可以在细胞间通讯中发挥作用[11] [12]，特别是在免疫反应和癌症中。其中，癌细胞分泌的外泌体至少是正常细胞的 10 倍，外泌体释放的内容物具有特异性反映了分泌细胞的各个方面，具有作为诊断标准物的

潜力,同时肿瘤衍生的外泌体被证明可以通过运输生长因子、趋化因子、特别是通过 miRNA 来促进细胞间的交流,肿瘤细胞来源 miRNA 可通过外泌体与受体细胞膜之间的相互作用实现信号传递影响癌症进展[13]。

3. 外泌体 miRNA 的生物学特征

外泌体携带的 miRNA 属于小非编码单链 RNA,通常不具备编码蛋白质的能力,miRNA 可以通过外泌体包裹使其免受体内核糖核酸酶的影响。miRNA 的生物发生始于细胞核,DNA 被 RNA 聚合酶 II 转录以产生初级 miRNA。这些初级 miRNA 首先被转录为较长分子的一部分,长度可达几千碱基,这些分子在细胞核中被双链 RNA 特异性核糖核酸酶 Drosha 处理成 70~100 nt 的发夹形 RNA 前体,然后通过输出蛋白 5 从细胞核运输到细胞质中,在那里它们被称为 Dicer 的双链特异性核糖核酸酶进行进一步处理,之后双链 miRNA 转化为成熟的单链 miRNA,成熟的 miRNA 通过不同的模式被分选进入外泌体[14]。另外,研究者发现,外泌体 miRNA 的生物发生、释放和摄取过程可能涉及运输所需的内体分选复合体(endosomal sorting complex required for transport, ESCRT)和相关蛋白质的参与[15]。现有研究表明,外泌体内的 miRNA 可以作为癌基因或者癌症中的肿瘤抑制基因,参与调节细胞表型、细胞因子表达和分泌的变化[16],引起炎症和免疫及导致肿瘤恶化[17]。

外泌体运输 miRNA 有三种形式,前两种方式外泌体通过与质膜融合或内吞作用将其携带的 miRNA 转移至受体细胞内,从而在受体细胞内发挥重要的生物学作用。第三种是外泌体携带 miRNA 内化进入受体细胞,之后有两种结局,第一种结局是一些被吞没的外泌体可能合并到核内体中并经历胞吞作用,这将使外泌体 miRNA 穿过受体细胞并释放到邻近细胞中;第二种结局是由吞噬的外泌体融合形成的核内体靶向溶酶体并进行降解[18]。由于外泌体广泛参与 miRNA 等物质的运输,外泌体来源的 miRNA 被认为是不同细胞之间相互作用的重要活性物质。

4. 外泌体 miRNA 在结直肠癌发展中的作用

研究表明,外泌体是细胞主动分泌产生的,在特定信号的调控下外泌体选择性包裹特定 miRNA,这些活性成分在外泌体携带下靶向受体细胞进入细胞质后发挥作用[19]。外泌体 miRNA 通常靶向血管细胞、间充质干细胞、肿瘤相关成纤维细胞、免疫细胞、炎性细胞等,而以上肿瘤相关细胞可与细胞外基质一起共同构成肿瘤微环境(tumor microenvironment, TME)。TME 是围绕肿瘤的交互式细胞环境,其主要功能是建立支持肿瘤发生的细胞通讯途径,外泌体内容为细胞与 TME 之间重要的通讯物质,其中外泌体来源的 miRNA 至关重要。消化系统组织血运丰富,肿瘤易发生远处转移和复发是其愈后不良的主要因素。如结直肠癌易沿门静脉系统转移至肝脏,癌细胞通过血液循环从起源扩散到远处的器官,其转移的过程并不是随机的而是具有一定的靶向性。目前研究认为,癌细胞会在外泌体 miRNA 的指导下优先寻找特定的器官,并在那里的微环境“筑巢”,这种寻找目的地的行为类似“种子”和“土壤”的相互作用,种子在到达土壤之前通过给“土壤”施肥,从而为肿瘤增殖转移做准备,外泌体来源的 miRNA 便是肿瘤微环境土壤的重要“肥料”[20]。

越来越多的证据表明,癌细胞通过外泌体与 TME 的串扰诱导免疫抑制、促进血管生成等机制参与调节结直肠癌增殖侵袭和转移的过程[21]。Zhao 等[22]通过测序分析发现,miR-934 在结直肠癌外泌体中异常过表达,特别是在结直肠癌肝转移过程中,与患者预后不良有关,发现结直肠癌细胞来源的外泌体 miR-934 通过下调 PTEN 蛋白表达和激活 PI3K/AKT 信号通路诱导 M2 巨噬细胞极化,极化的 M2 巨噬细胞可以通过分泌 CXCL13 激活结直肠癌细胞中的 CXCL13/CXCR5/NF κ B/p65/miR-934 正反馈环路,来诱导转移前生态位的形成并促进结直肠癌肝转移,此过程 miR-934 主要包裹在外泌体中,提示外泌体存在

暂未阐明的分选机制。Wang 等[23]发现, 多种直肠癌外泌体来源 miRNA (miR-25-3p、miR-130b-3p、miR-425-5p)通过 CXCL12/CXCR4 轴的激活上调, 靶向到巨噬细胞, 这些外泌体来源的 miRNA 通过激活 PI3K/Akt 信号通路调节 PTEN 蛋白来诱导巨噬细胞的 M2 极化, 增强上皮间充质转化和分泌血管内皮生长因子, 从而改变 TME 促进结直肠癌增殖转移。

Zeng 等[24]同样发现, 结直肠癌细胞分泌的外泌体来源 miR-25-3p 可以作用到血管内皮细胞, 通过靶向 Krüppel 样因子 2 和 Krüppel 样因子 4 来破坏内皮屏障的完整性, 促进血管通透性增加并诱导血管生成, 从而形成转移前生态位, 促进结直肠癌转移。Shang 等[25]发现, 结直肠癌细胞通过过度表达外泌体来源 miR-183-5p 来抑制 FOXO1 从而促进血管内皮细胞的增殖、迁移, 促进血管形成。

值得注意的是, Yan 等[26]发现, 结直肠癌细胞来源的外泌体 miR-548c-5p 通过 miR-548c-5p/HIF1A/CDC42 轴抑制结直肠癌细胞增殖、迁移和侵袭。显然, 外泌体 miRNA 可以发挥双重作用, 它们可能参与肿瘤抑制或促进。综上, 研究外泌体来源的 miRNA 在结直肠癌中的调控过程有助于探究结直肠癌发展的详细机制, 为结直肠癌的探索提供新思路。

5. 外泌体 miRNA 在结直肠癌诊断和预后评估中的价值

癌症具有广泛的异质性和多种亚型, 由于恶性细胞的克隆性进化, 使识别独特的靶点和根除所有肿瘤细胞变得复杂。一个悬而未决的问题是如何提高癌症特异性诊断标志物的效率和准确性。在发现细胞外泌体 miRNA 的作用之后, 特别是在对肿瘤细胞外泌体 miRNA 的深入研究之后, 发现外泌体来源肿瘤细胞特异性 miRNA 具有更好的完整性和检测准确性[27]。外泌体 miRNA 根据其来源细胞的不同具有异质性, 有图谱研究表明, 不同细胞来源的外泌体包含独特的 mRNAs 和 miRNAs 表达谱, 实验发现, 结直肠癌患者血液中分离的部分外泌体 miRNA 与健康对照组之间相比有明显差异, 其中显著差异表达的外泌体来源 miRNA 是临床诊断的潜在标志物[28]。

Karimi 等[29]研究发现, 与正常对照组相比, 结直肠癌患者血清样本中外泌体来源的 miR-23a 和 miR-301a 的表达量较高。数据分析表明, 通过检查外泌体 miR-301a 和 miR-23a 的含量能够将结直肠癌患者与正常受试者区分开来, 研究结果为外泌体来源的 miR-301a 和 miR-23a 在结直肠癌发展中可作为早期检测的非侵入性生物诊断标志物提供了证据。Sun 等[30]进一步研究发现, 血清 miR-122 在结直肠癌患者的组织中明显过表达, 升高的血清 miR-122 主要是外泌体来源由肿瘤细胞衍生的。数据分析发现, 血清外泌体 miR-122 的表达量可以区分结直肠癌肝脏转移患者与健康对照组和无肝转移患者, 通过单因素和多因素 Logistic 回归结果显示, 循环外泌体 miR-122 表达较高的结直肠癌患者预后不良, 证明了外周血中外泌体 miR-122 可以预测结直肠癌患者的预后。Shi 等[31]在另一项研究中鉴定了结直肠癌患者血清中的多种外泌体 miRNA, 发现循环外泌体来源的 miR-126、miR-1290、miR-23a 和 miR-940 具有较高的诊断价值, 可在早期将结直肠癌患者与健康对照组区分开, 首次证明了无论细胞内 miRNA 表达如何, 结直肠癌细胞都可以相对稳定地分泌外泌体 miRNA 到细胞外环境中。因此, 与血清游离 miRNA 相比, 血清外泌体来源 miRNA 更适合诊断结直肠癌和评估患者的预后。

目前为止, 结直肠癌传统检查手段通常通过结肠镜检查、测量癌胚抗原(carcinoembryonic antigen, CEA)水平、乙状结肠镜检查、粪便 DNA 检测和 septin9 基因甲基化血液检测。CEA 是一种已公认的结直肠癌生物标志物, 然而, 它在敏感性和特异性方面仍然有限; 内镜检查是结直肠癌筛查的金标准, 但内镜筛查的依从性低舒适性差, 对患者来说属于侵入性检查, 因此迫切需要研究新的结直肠癌诊断标志物[32]。上述结果表明, 外泌体 miRNA 可作为癌症诊断、筛查和治疗监测的前瞻性生物标志物[33], 通过血液外泌体 miRNA 诊断及评估预后的方法又被称为“液体活检”的新概念[34]。与组织活检相比, 液体活检技术可以更好地克服肿瘤异质性, 便于重复检测, 研究基于外泌体来源 miRNA 的液体活检可以提高

结直肠癌诊断的准确性，满足患者肿瘤筛查无创高效的临床需求。

6. 外泌体 miRNA 在结直肠癌治疗中的应用

外泌体 miRNA 除了具有诊断潜力外，还具有成为癌症新治疗方法选择的潜在特性。癌细胞需要调节其微环境，以促进生长和进一步转化，这种调节可能包括癌症相关细胞和刺激因子的募集。这些相互作用已被证明是由外泌体 miRNA 介导的。因此，靶向基于外泌体来源 miRNA 的信息沟通机制可以作为一种新的治疗策略。

6.1. 抑制外泌体 miRNA 释放

根据上述的研究，肿瘤细胞比正常细胞分泌更多的外泌体 miRNA，外泌体能够携带致癌或促瘤性 miRNA 并在细胞之间转移，且被证实异常表达的外泌体 miRNA 和肿瘤进展相关。因此，将高水平的循环外泌体及其携带的 miRNA 修饰到正常水平，是一种可行的治疗方法[35]。如 Kosaka 等[36]研究发现，GW4869 是一种有效的、细胞渗透的、特异性的、非竞争性的中性鞘磷脂酶的抑制剂，外泌体的分泌过程受中性鞘磷脂酶调节并被 GW4869 抑制，GW4869 可以减少外泌体 miRNA 的分泌。同时 Wang 等[37]实验证明，基于 GW4869 的靶向治疗有效地降低了小鼠体内肿瘤转移的发生，通过研究结直肠癌细胞衍生的外泌体，发现 GW4869 处理组结直肠癌细胞生长被明显抑制。证明了抑制外泌体 miRNA 分泌的治疗方案具有高的研究价值。

Kosgodage 等[38]发现，大麻二酚是一种来自大麻苜蓿的植物大麻素，是一种具有抗炎抗氧化和抗肿瘤增殖活性的抗焦虑剂。研究证明，大麻二酚可以通过抑制多种癌细胞的外泌体 miRNA 释放来抑制癌细胞增殖，并使癌细胞对化疗敏感。另有研究发现，靶向 ESCRT 复合体的药物也可用于抑制肿瘤外泌体的分泌以减少外泌体来源致病性 miRNA 的释放，但需要靶向 ESCRT 复合体的多种组分及其辅助蛋白才能发挥作用[39]。因此，研究靶向药物以调节外泌体来源 miRNA 释放可作为结直肠癌治疗的新选择。

6.2. 外泌体 miRNA 的免疫疗法

目前，外泌体 miRNA 因其调节免疫功能的能力引起了人们的兴趣，特别是其与树突状细胞(dendritic cell, DC)的相互作用最受关注。基于 DC 的免疫疗法是癌症免疫疗法中使用最广泛的方法之一，人们认为，各种策略可以使 DC 具有肿瘤抗原触发免疫反应，肿瘤细胞来源的外泌体 miRNA 可能是实现这一目的的有效策略。Asadirad 等[40]指出，发现外泌体 miR-155 在 DC 成熟和白细胞介素-12 生产中起着重要作用，研究提示利用丰富的肿瘤外泌体来源的 miR-155 诱导的 DC 对 CT26 细胞系的结直肠肿瘤小鼠模型具有调节抗肿瘤作用。因此，这种类型的癌症免疫疗法可以作为控制肿瘤生长和提高结直肠癌动物存活率的有效方法之一，但其在人类的临床应用有待研究。另外，Guo 等[41]研究发现，热休克蛋白(heat shock protein, HSP)同样是外泌体的重要成分，作为应激诱导的分子伴侣，可以通过调节白细胞介素来刺激免疫功能，来自热应激肿瘤细胞的外泌体含有丰富的 HSP，推测可与部分外泌体 miRNA 协同诱导抗肿瘤免疫反应。可见，外泌体来源的 miRNA 在抗肿瘤免疫方面发挥至关重要的作用，因此外泌体 miRNA 可以被认为是纳米级新型癌症疫苗，有广泛的开发潜力。

7. 问题与展望

外泌体 miRNA 是一个相对较新的研究领域，基于它们在肿瘤生物学中的多方面作用，以及它们作为癌症诊断工具的观点，外泌体 miRNA 已经引起了人们的广泛兴趣。外泌体 miRNA 具有通过在不同体液中循环来影响邻近肿瘤细胞以及远处肿瘤和正常细胞的能力。结直肠癌外泌体 miRNA 通过和 TME 的相互作用，参与了结直肠癌增殖迁移等重要过程，促进了肿瘤血管生存，为肿瘤转移提供了有利条件，有

效调节了肿瘤免疫应答。除了肿瘤促进作用外,外泌体 miRNA 的高稳定性还被发现可作为潜在的诊断预后生物标志物,成为肿瘤治疗的新研究方向。预计这些方法将改善未来的癌症护理并促成更好的治疗结果。

尽管迄今为止进行的几项研究已经成功地将外泌体 miRNA 用于癌症诊断和治疗,但仍然面对大量挑战,首当其冲是外泌体分离的纯度问题。目前,分离外泌体的金标准依然是差速离心法,但其分离产物实际是外泌体及微囊泡的混合物,尤其是血液中的外泌体,同时不同的实验室正在使用各种不同技术来分离外泌体,因此它们的功效和敏感性可能会有所不同,并影响最终实验结果,这可能会导致使用外泌体货物作为诊断工具的方法出现问题。为此可以联合传统检测手段如 CEA 检测,可采用多组学分析同时检测多种外泌体生物标志物如 lncRNA、外泌体蛋白等作为 CEA 检测的潜在补充方法,提高检测敏感性,但需要进行更多具有更大样本量的比较实验来进一步解释这一问题。外泌体 miRNA 在癌症治疗中也有一些不尽如人意的表现:天然外泌体 miRNA 会因为被阻挡在一些主要器官如肝脏或脾脏而作用减弱,来自肿瘤细胞或免疫细胞的由天然外泌体 miRNA 引起的抗癌免疫反应不够强等问题仍需要进一步的临床研究。

综上所述,外泌体 miRNA 的应用充满机遇和挑战,结直肠癌外泌体来源 miRNA 为阐明结直肠癌调控机制提供了新的蓝图,外泌体 miRNA 作为新型的结直肠癌诊断标志物在医药领域有巨大的价值和潜力。血清中外泌体 miRNA 的检测有望推进结直肠癌早期液体活检的新诊断方向,研究外泌体 miRNA 的发展有助于实现结直肠癌的靶向精准治疗,外泌体来源的 miRNA 在结直肠癌的应用前景未来可期。

基金项目

国家自然科学基金项目(编号: 81871956)。

参考文献

- [1] Sung, H., Ferlay, J., Siegel, R.L., *et al.* (2021) Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, **71**, 209-249. <https://doi.org/10.3322/caac.21660>
- [2] Cao, M., Li, H., Sun, D. and Chen, W. (2020) Cancer Burden of Major Cancers in China: A Need for Sustainable Actions. *Cancer Communications (London)*, **40**, 205-210. <https://doi.org/10.1002/cac2.12025>
- [3] Kalluri, R. and LeBleu, V.S. (2020) The Biology, Function, and Biomedical Applications of Exosomes. *Science*, **367**, 640. <https://doi.org/10.1126/science.aau6977>
- [4] Hussen, B.M., Hidayat, H.J., Salihi, A., Sabir, D.K., Taheri, M. and Ghafouri-Fard, S. (2021) MicroRNA: A Signature for Cancer Progression. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, **138**, Article ID: 111528. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2021.111528>
- [5] Ali Syeda, Z., Langden, S., Munkhzul, C., Lee, M. and Song, S.J. (2020) Regulatory Mechanism of MicroRNA Expression in Cancer. *International Journal of Molecular Sciences*, **21**, 1723. <https://doi.org/10.3390/ijms21051723>
- [6] Sun, Z., Shi, K., Yang, S., *et al.* (2018) Effect of Exosomal miRNA on Cancer Biology and Clinical Applications. *Molecular Cancer*, **17**, Article No. 147. <https://doi.org/10.1186/s12943-018-0897-7>
- [7] Elewaily, M.I. and Elsergany, A.R. (2021) Emerging Role of Exosomes and Exosomal microRNA in Cancer: Pathophysiology and Clinical Potential. *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology*, **147**, 637-648. <https://doi.org/10.1007/s00432-021-03534-5>
- [8] Trams, E.G., Lauter, C.J., Salem, N. and Heine, U. (1981) Exfoliation of Membrane Ecto-Enzymes in the Form of Micro-Vesicles. *Biochimica et Biophysica Acta*, **645**, 63-70. [https://doi.org/10.1016/0005-2736\(81\)90512-5](https://doi.org/10.1016/0005-2736(81)90512-5)
- [9] Harding, C., Heuser, J. and Stahl, P. (1983) Receptor-Mediated Endocytosis of Transferrin and Recycling of the Transferrin Receptor in Rat Reticulocytes. *Journal of Cell Biology*, **97**, 329-339. <https://doi.org/10.1083/jcb.97.2.329>
- [10] Liu, Q.W., He, Y. and Xu, W.W. (2022) Molecular Functions and Therapeutic Applications of Exosomal Noncoding RNAs in Cancer. *Experimental & Molecular Medicine*, **54**, 216-225. <https://doi.org/10.1038/s12276-022-00744-w>
- [11] Raposo, G., Nijman, H.W., Stoorvogel, W., *et al.* (1996) B Lymphocytes Secrete Antigen-Presenting Vesicles. *Journal*

- of Experimental Medicine*, **183**, 1161-1172. <https://doi.org/10.1084/jem.183.3.1161>
- [12] Ortiz-Bonilla, C.J., Uccello, T.P., Gerber, S.A., *et al.* (2022) Bladder Cancer Extracellular Vesicles Elicit a CD8 T Cell-Mediated Antitumor Immunity. *International Journal of Molecular Sciences*, **23**, Article No. 2904. <https://doi.org/10.3390/ijms23062904>
- [13] Akers, J.C., Gonda, D., Kim, R., Carter, B.S. and Chen, C.C. (2013) Biogenesis of Extracellular Vesicles (EV): Exosomes, Microvesicles, Retrovirus-Like Vesicles, and Apoptotic Bodies. *Journal of Neuro-Oncology*, **113**, 1-11. <https://doi.org/10.1007/s11060-013-1084-8>
- [14] Michlewski, G. and Caceres, J.F. (2019) Post-Transcriptional Control of miRNA Biogenesis. *RNA*, **25**, 1-16. <https://doi.org/10.1261/rna.068692.118>
- [15] Larios, J., Mercier, V., Roux, A. and Gruenberg, J. (2020) ALIX- and ESCRT-III-Dependent Sorting of Tetraspanins to Exosomes. *Journal of Cell Biology*, **219**, e201904113. <https://doi.org/10.1083/jcb.201904113>
- [16] 杨秋玲, 刘朝奇, 李倩, 李志英. 外泌体介导的 miRNAs 对恶性肿瘤调控作用研究的新进展[J]. 生命的化学, 2020, 40(2): 243-249.
- [17] Kulkarni, B., Kirave, P., Gondaliya, P., *et al.* (2019) Exosomal miRNA in Chemoresistance, Immune Evasion, Metastasis and Progression of Cancer. *Drug Discovery Today*, **24**, 2058-2067. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2019.06.010>
- [18] Mathieu, M., Martin-Jaular, L., Lavieu, G. and Théry, C. (2019) Specificities of Secretion and Uptake of Exosomes and Other Extracellular Vesicles for Cell-to-Cell Communication. *Nature Cell Biology*, **21**, 9-17. <https://doi.org/10.1038/s41556-018-0250-9>
- [19] Bae, S., Brumbaugh, J. and Bonavida, B. (2018) Exosomes Derived from Cancerous and Non-Cancerous Cells Regulate the Anti-Tumor Response in the Tumor Microenvironment. *Genes Cancer*, **9**, 87-100. <https://doi.org/10.18632/genesandcancer.172>
- [20] Guo, Y., Ji, X., Liu, J., *et al.* (2019) Effects of Exosomes on Pre-Metastatic Niche Formation in Tumors. *Molecular Cancer*, **18**, Article No. 39. <https://doi.org/10.1186/s12943-019-0995-1>
- [21] Maacha, S., Bhat, A.A., Jimenez, L., *et al.* (2019) Extracellular Vesicles-Mediated Intercellular Communication: Roles in the Tumor Microenvironment and Anti-Cancer Drug Resistance. *Molecular Cancer*, **18**, Article No. 55. <https://doi.org/10.1186/s12943-019-0965-7>
- [22] Zhao, S., Mi, Y., Guan, B., *et al.* (2020) Tumor-Derived Exosomal miR-934 Induces Macrophage M2 Polarization to Promote Liver Metastasis of Colorectal Cancer. *Journal of Hematology & Oncology*, **13**, Article No. 156. <https://doi.org/10.1186/s13045-020-00991-2>
- [23] Wang, D., Wang, X., Si, M., *et al.* (2020) Exosome-Encapsulated miRNAs Contribute to CXCL12/CXCR4-Induced Liver Metastasis of Colorectal Cancer by Enhancing M2 Polarization of Macrophages. *Cancer Letters*, **474**, 36-52. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2020.01.005>
- [24] Zeng, Z., Li, Y., Pan, Y., *et al.* (2018) Cancer-Derived Exosomal miR-25-3p Promotes Pre-Metastatic Niche Formation by Inducing Vascular Permeability and Angiogenesis. *Nature Communications*, **9**, Article No. 5395. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-07810-w>
- [25] Shang, A., Wang, X., Gu, C., *et al.* (2020) Exosomal miR-183-5p Promotes Angiogenesis in Colorectal Cancer by Regulation of FOXO1. *Aging (Albany NY)*, **12**, 8352-8371. <https://doi.org/10.18632/aging.103145>
- [26] Yan, S., Ren, X., Yang, J., Wang, J., *et al.* (2020) Exosomal miR-548c-5p Regulates Colorectal Cancer Cell Growth and Invasion through HIF1A/CDC42 Axis. *OncoTargets and Therapy*, **13**, 9875-9885. <https://doi.org/10.2147/OTT.S273008>
- [27] Carney, R.P., Hazari, S., Rojalin, T., *et al.* (2017) Targeting Tumor-Associated Exosomes with Integrin-Binding Peptides. *Advanced Biosystems*, **1**, Article ID: 1600038. <https://doi.org/10.1002/adbi.201600038>
- [28] Min, L., Zhu, S., Chen, L., *et al.* (2019) Evaluation of Circulating Small Extracellular Vesicles Derived miRNAs as Biomarkers of Early Colon Cancer: A Comparison with Plasma Total miRNAs. *Journal of Extracellular Vesicles*, **8**, Article ID: 1643670. <https://doi.org/10.1080/20013078.2019.1643670>
- [29] Karimi, N., Ali Hosseinpour Feizi, M., Safaralizadeh, R., *et al.* (2019) Serum Overexpression of miR-301a and miR-23a in Patients with Colorectal Cancer. *Journal of the Chinese Medical Association*, **82**, 215-220. <https://doi.org/10.1097/JCMA.0000000000000031>
- [30] Sun, L., Liu, X., Pan, B., *et al.* (2020) Serum Exosomal miR-122 as a Potential Diagnostic and Prognostic Biomarker of Colorectal Cancer with Liver Metastasis. *Journal of Cancer*, **11**, 630-637. <https://doi.org/10.7150/jca.33022>
- [31] Shi, Y., Zhuang, Y., Zhang, J., *et al.* (2021) Four Circulating Exosomal miRNAs as Novel Potential Biomarkers for the Early Diagnosis of Human Colorectal Cancer. *Tissue and Cell*, **70**, Article ID: 101499. <https://doi.org/10.1016/j.tice.2021.101499>
- [32] Xiao, Y., Zhong, J., Zhong, B., *et al.* (2020) Exosomes as Potential Sources of Biomarkers in Colorectal Cancer. *Can-*

- cer Letters*, **476**, 13-22. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2020.01.033>
- [33] 陈军歌. 外泌体作为结直肠癌诊断标志物的研究进展[J]. 现代肿瘤医学, 2020, 28(17): 3089-3092.
- [34] Zhou, H., Zhu, L., Song, J., *et al.* (2022) Liquid Biopsy at the Frontier of Detection, Prognosis and Progression Monitoring in Colorectal Cancer. *Molecular Cancer*, **21**, Article No. 86. <https://doi.org/10.1186/s12943-022-01556-2>
- [35] Tovar-Camargo, O.A., Toden, S. and Goel, A. (2016) Exosomal microRNA Biomarkers: Emerging Frontiers in Colorectal and Other Human Cancers. *Expert Review of Molecular Diagnostics*, **16**, 553-567. <https://doi.org/10.1586/14737159.2016.1156535>
- [36] Kosaka, N., Iguchi, H., Yoshioka, Y., *et al.* (2010) Secretory Mechanisms and Intercellular Transfer of microRNAs in Living Cells. *Journal of Biological Chemistry*, **285**, 17442-17452. <https://doi.org/10.1074/jbc.M110.107821>
- [37] Wang, B., Wang, Y., Yan, Z., Sun, Y. and Su, C. (2019) Colorectal Cancer Cell-Derived Exosomes Promote Proliferation and Decrease Apoptosis by Activating the ERK Pathway. *International Journal of Clinical and Experimental Pathology*, **12**, 2485-2495.
- [38] Kosgodage, U.S., Mould, R., Henley, A.B., *et al.* (2018) Cannabidiol (CBD) Is a Novel Inhibitor for Exosome and Microvesicle (EMV) Release in Cancer. *Frontiers in Pharmacology*, **9**, Article No. 889. <https://doi.org/10.3389/fphar.2018.00889>
- [39] Colombo, M., Moita, C., van Niel, G., *et al.* (2013) Analysis of ESCRT Functions in Exosome Biogenesis, Composition and Secretion Highlights the Heterogeneity of Extracellular Vesicles. *Journal of Cell Science*, **126**, 5553-5565. <https://doi.org/10.1242/jcs.128868>
- [40] Asadirad, A., Baghaei, K., Hashemi, S.M., *et al.* (2022) Dendritic Cell Immunotherapy with miR-155 Enriched Tumor-Derived Exosome Suppressed Cancer Growth and Induced Antitumor Immune Responses in Murine Model of Colorectal Cancer Induced by CT26 Cell Line. *International Immunopharmacology*, **104**, Article ID: 108493. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2021.108493>
- [41] Guo, D., Chen, Y., Wang, S., *et al.* (2018) Exosomes from Heat-Stressed Tumour Cells Inhibit Tumour Growth by Converting Regulatory T Cells to Th17 Cells via IL-6. *Immunology*, **154**, 132-143. <https://doi.org/10.1111/imm.12874>