

外泌体在慢性气道炎症性疾病中的研究进展

刘超^{1,2}, 汪俊²

¹南昌大学研究生院医学部, 南昌 330006

²江西省人民医院呼吸二部, 南昌 330006

通信作者: 汪俊 电话: 0791-86895634, 电子邮件: wangjun5087@163.com

摘要: 外泌体是由多泡体与细胞质膜融合形成的一种直径 40 ~ 100 nm 的囊泡小体, 可由多种细胞通过胞吐作用释放到细胞外间隙。外泌体内含蛋白质、mRNA、微小 RNA 等活性遗传物质, 将内容物转移到受体细胞而发挥生物学功能。近年来, 外泌体在肿瘤学研究领域发展迅速, 甚至已经应用于 I 期临床试验。初步研究显示外泌体在支气管哮喘、慢性阻塞性肺疾病为代表的慢性气道炎症性疾病的生理和病理过程中占据重要的地位, 以及其可能作为疾病的生物标志物和治疗载体对慢性气道炎症性疾病潜在的诊疗价值。

关键词: 外泌体; 支气管哮喘; 慢性阻塞性肺疾病

中图分类号: R56 文献标志码: A 文章编号: 1000-503X(2018)06-0832-06

DOI: 10.3881/j.issn.1000-503X.10301

Research Advances in Exosomes in Chronic Airway Inflammatory Disease

LIU Chao^{1,2}, WANG Jun²

¹Department of Medicine, Graduate School of Nanchang University, Nanchang 330006, China

²Second Department of Respiratory Medicine, Jiangxi Provincial People's Hospital, Nanchang 330006, China

Corresponding author: WANG Jun Tel: 0791-86895634, E-mail: wangjun5087@163.com

ABSTRACT: Exosomes are 40 - 100 nm vesicular bodies that are formed by the fusion of the multi-vesicular bodies and the plasma membrane and can be released into the extracellular space by a variety of cells through exocytosis. With rich active genetic substances such as proteins, mRNAs, and microRNAs, exosomes can exert their biological functions by transferring cargos to the recipient cells. In recent years, the roles of exosomes in oncology have been rapidly recognized. Some of them have been investigated in phase I trials. Preliminary studies have demonstrated that exosomes play important roles in the physiological and pathological processes of chronic inflammatory airway diseases such as bronchial asthma and chronic obstructive pulmonary disease. Meanwhile, exosomes may serve as useful biomarkers in the diagnosis and treatment of chronic inflammatory airway diseases.

Key words: exosomes; bronchial asthma; chronic obstructive pulmonary disease

Acta Acad Med Sin, 2018, 40(6): 832 - 837

慢性气道炎症性疾病是以气道炎症、气道阻塞及气道重塑为主要特征性疾病。气道上皮是肺部的第一道屏障, 其结构完整性的破坏或功能缺失是慢性气道

炎症性疾病的启动环节, 同时上皮细胞分泌大量的炎症介质, 导致慢性炎症性疾病的发生发展。外泌体是一种新型纳米级别细胞间交流的载体, 可将其内“货物”

如蛋白质、mRNA、微小RNA (microRNA, miRNA) 等活性物质转移到受体细胞中表达而发挥生物学作用, 因此外泌体逐渐成为近些年的研究热点之一。有研究表明外泌体在慢性气道炎症性疾病的发生发展起着重要的调控作用, 在炎症状态下, 外泌体分泌增多, 可促使炎症的级联放大效应, 而且其作为疾病的诊断标志物和理想的药物载体有着巨大的前景。本文简要概述外泌体在支气管哮喘 (简称哮喘)、慢性阻塞性肺疾病 (chronic obstructive pulmonary disease, COPD) 中的诊疗及作用。

外泌体的简介、形成机制及生物学功能

在人们最早认识外泌体时, 将其视为细胞排出的一种“垃圾袋”, 随着人们对外泌体这方面不断深入的研究, 发现其是具有多种功能的新型细胞间通讯工具。外泌体是一种直径 40 ~ 100 nm 双脂质结构的纳米膜囊泡, 能被多种细胞所分泌, 如上皮细胞、树突状细胞、肿瘤细胞、淋巴细胞等^[1]。不仅如此, 外泌体在大多数体液如尿液、血液、脑脊液、腹水、支气管肺泡灌洗液 (bronchoalveolar lavage fluid, BALF) 等中也能检测到^[2-6]。截止 2018 年 2 月, 通过外泌体数据库 (<http://www.exocarta.org/>), 已经确定不同组织来源的外泌体其内活性物质包括 41 860 种蛋白质、3408 种 mRNA、2838 种 miRNA。外泌体膜表面含有共同检测的标志性蛋白, 包括 Alix、Tsg101、热休克蛋白 (HSP70、HSP90)、4 次跨膜蛋白家族成员 (CD63、CD81) 等, 而不同组织来源的外泌体含有特异性蛋白, 其与细胞的特异性功能相关, 如来自结肠上皮细胞的外泌体含有特异性蛋白 A33^[7], 树突状细胞来源的外泌体可分泌具有抗原呈递功能的主要组织相容性复合体 (major histocompatibility complex, MHC) I 和 MHC II 类分子^[8]。外泌体除了含有相关蛋白, 其内的 mRNA、miRNA 以旁分泌或远距离传导的形式介导细胞间遗传信息的交流。外泌体被受体细胞摄取后, 其内转移的 miRNA 可以调节受体细胞中的基因表达; 肿瘤细胞来源的外泌体 miRNA 能促进肿瘤的增殖与转移、血管生成及抑制免疫系统^[9]。

外泌体是晚期胞内体 (即多泡体) 向内萌芽而形成, 通过多泡体可以与细胞质膜融合将其内的管腔囊泡释放到细胞间隙或循环中; 内吞体分选转运复合体 (endosomal sorting complex required for transport, ESCRT) 是由 4 个复合物 (ESCRT0、ESCRTI、ESCRTII、ESCRT

III) 和相关蛋白 (VPS4、VTA1、ALIX 等) 构成的多蛋白复合物, 以泛素依赖的方式参与调控多泡体的生物发生和降解的机制, 而溶血磷脂酸在外泌体的生物合成, 尤其对管腔囊泡的形成具有关键的作用^[10]。外泌体的产生及分泌则取决于不同的 Rab-GTP 酶和某些效应器的活性, 它们能调节特定细胞器之间的囊泡运输, 之后的研究将会增加对细胞特异性机制的了解, 以此控制外泌体的分泌^[11]。

外泌体是参与多种生理和病理过程的细胞间信号介质, 其被受体细胞摄取的途径有 3 种: (1) 外泌体表面的膜蛋白可以与靶细胞中的受体相互作用并激活细胞内信号转导; (2) 外泌体表面的膜蛋白可以被细胞外基质的蛋白酶切割, 而切割的片段可以充当与靶细胞结合的可溶性配体并激活细胞内的信号转导; (3) 外泌体可以与靶细胞膜融合将其内的生物活性物质释放到受体细胞内, 其内容物可激活靶细胞内的信号转导作用^[12]。Escudier 等^[13]在临床 I 期试验中发现, 树突细胞来源的外泌体 (dendritic cell-derived exosomes, DEX) 可以用作抗肿瘤疫苗治疗转移性黑色素瘤患者。Morse 等^[14]也证实了 DEX 的抗肿瘤疫苗是可行的, 将含 DEX 的疫苗注射给非小细胞肺癌患者, 增加了 T 细胞和 NK 细胞的活性, 明显使患者的病情得到改善。

外泌体在慢性气道炎症性疾病发生与发展中的作用

相关研究证实, 外泌体的生物学作用在慢性气道炎症性疾病如哮喘、COPD 中发挥重要作用, 如细胞间信息传递、免疫调节、炎症反应及信号转导。

外泌体与支气管哮喘 支气管哮喘是以气道高反应性、可逆性气流受限为特征的慢性气道炎症性疾病。Admyre 等^[15]首次发现人类 BALF 中外泌体的存在, 从 BALF 中提取的外泌体也类似单核细胞可以表达 MHC I 和 MHC II 类分子、CD54、CD63 及 CD86; 其能通过黏附、呈递抗原及表达共刺激信号分子而在 T 细胞中起免疫调节作用。Canas 等^[16]从哮喘患者和健康人群的外周血中提取嗜酸性粒细胞 (eosinophils, EOS) 的外泌体, 通过流式等分析外泌体可以诱导哮喘患者 EOS 中活性氧和一氧化氮增加, 破坏气道中的正常细胞和组织, 并引起嗜酸性粒细胞迁移及黏附的增强。研究显示哮喘患者 BALF 中外泌体包含白三烯 (leukotrienes, LT) 合成酶, 其可促进气道上皮细胞

释放 LT 和细胞因子白介素-8 (interleukin-8, IL-8), 故 BALF 中外泌体可能通过诱导 IL-8 和 LT 在肺中的生成有助于阐明哮喘的免疫炎症机制^[6]。Fei 等^[17]发现哮喘患者 EOS 中的外泌体可以改变支气管平滑肌细胞及气道上皮细胞的正常功能, 将支气管平滑肌细胞、气道上皮细胞与外泌体共培养或单独培养, 发现细胞与外泌体共培养时, 与哮喘相关的基因 [如转化生长因子- β (transforming growth factor- β , TGF- β)、基质金属蛋白酶-9 (matrix metalloproteinase, MMP-9)、核转录因子- κ B (nuclear factor-kappa B, NF- κ B)、血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) 等] 表达量上调。而 TGF- β 、VEGF 和 MMP-9 主要参与哮喘的气道重构, 当外泌体被细胞摄取后, 这些炎症介质的表达量会明显升高, 因此外泌体很可能影响哮喘的气道重构阶段, 导致气道出现持续性的炎症及气道上皮的损伤。研究发现外泌体中的 miRNA 很可能通过靶向哮喘相关基因而参与过敏性哮喘的发病机制。Levanen 等^[18]通过微阵列分析检测哮喘患者 BALF 外泌体中 miRNA 与健康人群有显著差异, 其中 24 种 miRNA 与受试者的第 1 秒用力呼气量 1 有高度关联 ($R^2 = 0.74$), 对于大多数改变的 miRNA 都下调, 而许多下调的 miRNA 参与 IL-13 的调节, 并导致丝裂原活化蛋白激酶、酪氨酸激酶-信号转导和转录激活子信号通路的改变。另一研究显示屋尘螨诱导的哮喘小鼠 BALF 中外泌体分泌的数量是正常对照组的 8.9 倍, 其中外泌体中的 54 种 miRNA 在气道和肺组织中呈负相关, IL-13、IL-5Ra 等 31 个基因在气道中靶向的 miRNA 上调, 而在肺组织中是下调^[19]。IL-13 主要由 Th2 细胞分泌, 而外泌体中的 miRNA 靶向 IL-13 基因并引起其上调, 因此哮喘患者外泌体中 miRNA 可能会导致 Th1/Th2 细胞平衡失调, 而 Th2 细胞的异常升高则导致机体免疫耐受功能受损, 进一步加重哮喘的发病。脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS) 的吸入能增加 BALF 中外泌体的释放, 诱导混合性 Th1 和 Th17 细胞反应, 导致 IL-12p70 和 IL-6 的释放增加而参与气道的过敏反应^[20]。Vargas 等^[21]发现在 LPS 的刺激下, 中性粒细胞来源的外泌体可以增强气道平滑肌细胞的增殖, 对于重度哮喘和激素抵抗性哮喘, 外泌体可以促进疾病本身的发展及气道重塑的改变。TGF- β 参与哮喘气道炎症及气道重塑的过程, 抑制上皮细胞的增殖并诱导其凋亡和上皮间质转化。支气管成纤维细胞能分泌外泌体, 其可被气道上皮细胞吸收, 而 TGF- β 2 在严重哮喘患者成纤维细胞中过表达, 可诱导外泌体

中 TGF- β 2 上调, 导致上皮细胞增殖的降低, 而敲除 TGF- β 2 基因则促进气道上皮细胞的增殖; 因此在重度哮喘患者中, 成纤维细胞来源的外泌体可参与调控体内 TGF- β 2 信号通路, 进而促进气道上皮细胞的增殖^[22]。上述结果表明, 不同细胞来源的外泌体可能通过多种途径参与哮喘的发生及发展。

外泌体与 COPD COPD 是呼吸系统疾病中的常见病和多发病, 患病率和病死率一直居高不下, 是一种以持续性、不可逆性气流受限为特征的慢性气道炎症性疾病。Moon 等^[23]发现香烟烟雾提取物 (cigarette smoke extract, CSE) 刺激上皮细胞会增加 BEAS-2B 细胞中外泌体的蛋白浓度, 并诱导 Rab-27A 基因的表达, 而该基因的表达可以调节小鼠肺组织上皮细胞和 BEAS-2B 细胞中外泌体的分泌。CCN1 是富含半胱氨酸的细胞外基质相关蛋白, 参与细胞增殖、黏附、迁移、分化等多种病理过程^[24]。CSE 的持续暴露可以诱导外泌体中 fCCN1 的表达增加, 此外, fCCN1 通过介导 IL-8 的释放及中性粒细胞的募集参与肺气肿的炎症反应; CSE 的持续暴露将外泌体中 fCCN1 切割成 CCN 和 cCCN1, 而 cCCN1 可以促进 MMP-1 的产生, MMP-1 的表达上调会促进肺气肿的发生; 以上研究表明, CSE 诱导的肺上皮细胞分泌的外泌体增多是吸烟所致肺气肿的致病因素之一^[23]。Yu 等^[25]发现在 CSE 的暴露下, HBE 细胞中外泌体可促进肺成纤维细胞向肌成纤维细胞分化, 并诱导支气管上皮细胞中外泌体 miR-210 的表达上调; miR-210 通过直接靶向 ATG7 调节自噬过程, 其表达水平与肺成纤维细胞中的 ATG7 的表达呈负相关, 沉默 ATG7 是导致肌成纤维细胞分化的原因之一, 因此, CSE 可诱导支气管上皮细胞中外泌体介导 COPD 患者气道纤维化的发展。巨噬细胞来源的外泌体可通过转移的 miR-223 诱导单核细胞向巨噬细胞的分化, 因此可调节 COPD 患者的免疫防御和炎症反应^[26]。呼吸感染性疾病可导致机体细胞或体液中外泌体的释放增多, 哮喘和 COPD 的共同特征之一是气道 ATP 水平的增高, 而 ATP 水平的增高可引起外泌体通过 P2X7/caspase-1 信号机制释放 IL-1 β 和 IL-18, 导致中性粒细胞的募集增多而加重 COPD 和哮喘的发生^[27]。肺泡巨噬细胞来源的外泌体可调节肺部炎症性疾病的发病过程, 其通过转运抑制信号因子 SOCS-1 和 SOCS-3 蛋白到肺泡上皮细胞, SOCS-1 抑制 γ -干扰素诱导的信号转导和转录激活子-1 信号通路的活化, 而 SOCS-3 抑制 IL-6 诱导的信号转导和转录激活子-3 信号通路的活化^[28]。有文献报道, 内皮细胞

来源的外泌体 (endothelial microparticles, EMPs) 在 COPD 患者循环中分泌增加, EMPs 含有特异性的标记蛋白, 主要包括 CD144、CD31、CD146、CD62E, 而 EMPs 释放的增加与 COPD 疾病进展阶段及肺气肿的肿胀程度相关^[29]。因此, 在外界有害刺激因素的影响下, 外泌体的释放量会增加, 其内的活性物质可引起炎症介质的释放增多和相关信号通路的转导, 进一步促进 COPD 患者病情的发展及恶化。

外泌体在慢性气道炎症性疾病诊断及治疗中的应用

外泌体是一种新型的疾病诊断标志物和理想的药物载体, 在肿瘤、神经系统疾病、心血管疾病及慢性气道炎症性疾病等疾病中均涉及。这些纳米囊泡之所以能作为疾病的诊断标志物和理想的药物载体, 主要原因为: (1) 外泌体能反映起始细胞的生理状态和微环境, 且大多数细胞能分泌特异性的蛋白和核酸; (2) 外泌体广泛存在于血液、尿液、脑脊液、BALF 等体内多种体液循环中, 其能向远处器官或细胞转移; (3) 外泌体由于特殊的磷脂双分子层结构, 保护其内容物免于酶的降解, 从细胞释放后能稳定存在胞外环境中。

外泌体在哮喘中的应用 循环中的 miRNA 可作为多种疾病的潜在生物标志物, 而外泌体中的 miRNA 以无创、远距离传送、靶向特定的靶点等优势更适合作为疾病的诊断标志物。研究显示呼出气冷凝液中外泌体 miRNA 具有作为肺疾病诊断标志物的潜力, 在哮喘患者呼出气冷凝液中 11 种 miRNAs 的表达水平明显高于健康人群^[30]。有学者表明哮喘患者 BALF 外泌体中含有上皮细胞的标记性蛋白 mucin1 可作为潜在的诊断标志物^[6]。目前重度哮喘的治疗仍以糖皮质激素为主, 但由于其局限性及药物的不良反应, 导致患者的治疗效果不理想。有研究显示, 外泌体有可能为哮喘的治疗重燃希望, 其依据主要有以下几点: (1) 间充质干细胞 (mesenchymal stem cells, MSCs) 的外泌体能发挥免疫抑制作用。Du 等^[31]发现 MSCs 的外泌体能促进调节性 T 细胞的增殖, 通过上调哮喘患者中外周血单核细胞的抑制因子 IL-10、TGF- β 而发挥免疫抑制作用。(2) 开发抗过敏疫苗。Almqvist 等^[32]将耐受性外泌体腹腔注射给哮喘小鼠后, 其 BALF 中嗜酸性粒细胞浸润及血清中免疫球蛋白 E 水平明显降低, 并提出以外泌体为载体的抗过敏疫苗、药物递送可能应

用于临床上过敏性哮喘的靶向治疗。(3) 减少外泌体的分泌量。有研究表明中性鞘磷脂酶抑制剂 GW4869 可以减少 BALF 中 Th2 细胞因子的表达及嗜酸性粒细胞数, 从而有效缓解哮喘的气道炎症反应^[19]。

外泌体在 COPD 中的应用 临床上, COPD 的诊断主要依赖于肺功能及影像学检查, 但有文献报道外泌体不仅能作为 COPD 的诊断标志物, 而且可以评估 COPD 患者病情的严重程度。研究显示 EMPs 可用于评估 COPD 患者的内皮损伤程度, CD31 + EMPs 在轻度 COPD 患者和肺气肿患者中表达水平升高, 其能反映内皮细胞的凋亡, 而 CD62E + EMPs 在重度 COPD 患者中表达水平升高, 其能反映内皮细胞的活化^[33]。Lacedonia 等^[34]研究显示 COPD 患者的痰液中 EMPs 的分泌量与 FEV1 呈负相关, 而 EMPs 可能作为 COPD 的潜在标志物。血清中 miR-21 及 miR-181a 可评估由于重度吸烟导致的 COPD 患者发展严重程度的潜在标志物^[35]。Akbas 等^[36]研究显示与健康人群相比, COPD 患者血清中 miR-20a、miR-28-3p、miR-34c-5p、miR-100 下调, 而 miR-7 上调, 这些 miRNA 可能作为 COPD 的诊断标志物。Burke 等^[37]研究显示 COPD 患者血清中外泌体内的 1 种 miRNA 显著上调, 而 BALF 中外泌体内的 4 种 miRNA 显著下调, 这些外泌体中的 miRNA 可能作为 COPD 患者无创的诊断标志物。关于外泌体在 COPD 上治疗的文献报道较少, 有学者提出以外泌体中的 miR-210 为靶点设计新药物将可能改善 COPD 患者气道纤维化的发展^[25]。MSCs 有促进组织再生、抗炎反应、免疫抑制等多种潜在作用, 来源 MSCs 的外泌体能在急性肾损伤合并严重免疫缺陷疾病的小鼠中促进肾再生^[38]。另有研究显示, MSCs 释放的外泌体包含具有修复能力的 miRNA 或 mRNA, MSCs 来源的外泌体是通过表达角质细胞生成因子 mRNA 减缓急性肺损伤的相关症状, 如肺水肿和肺部炎症的减轻^[39]。因此推测外泌体在 COPD 的治疗方式可能有以下两种: (1) 清除其内与 COPD 疾病进展相关的活性物质; (2) 可作为一种免疫调节剂或具备使肺再生的能力。

综上, 随着外泌体的研究日益增多, 其在各疾病中的生物学作用渐渐浮出水面。而外泌体在慢性气道炎症性疾病中发挥促炎作用, 以细胞旁分泌等途径参与介导细胞间通讯、细胞分化、信号转导、炎症因子释放等发病过程。但目前而言, 外泌体在慢性气道炎症性疾病中信号通路的转导机制研究较少, 而其在肿瘤、心血管疾病中的发病机制研究较多。外泌体及其

miRNA 或 mRNA 在哮喘、COPD 等疾病的靶点受到广泛关注, 且其在循环中稳定性高及靶向性强, 因此外泌体作为理想的药物载体、抗过敏疫苗、免疫抑制剂等治疗方面有着巨大的优势, 相关的研究成果将会逐步在临床中应用。但外泌体的研究目前尚处于初级阶段, 关于外泌体的分离提纯、分泌的特殊机制、介导相应炎症通路的信号转导以及其作为气道慢性炎症性疾病的诊断标志物、理想的药物载体以达到精准的靶向治疗, 需要长时间的科学探讨及科研人员的共同努力。

参 考 文 献

- [1] Beach A, Zhang HG, Ratajczak MZ, et al. Exosomes: an overview of biogenesis, composition and role in ovarian cancer [J]. *J Ovarian Res*, 2014, 7(1):14. DOI:10.1186/1757-2215-7-14.
- [2] Dear JW, Street JM, Bailey MA. Urinary exosomes: a reservoir for biomarker discovery and potential mediators of intrarenal signalling [J]. *Proteomics*, 2013, 13(10-11):1572-1580. DOI:10.1002/pmic.201200285.
- [3] Imai T, Takahashi Y, Nishikawa M, et al. Macrophage-dependent clearance of systemically administered B16BL6-derived exosomes from the blood circulation in mice [J]. *J Extracell Vesicles*, 2015, 4(2014):1-23. DOI:10.3402/jev.v4.26238.
- [4] Riancho J, Vázquez-Higuera JL, Pozueta A, et al. MicroRNA profile in patients with Alzheimer's disease: analysis of miR-9-5p and miR-598 in raw and exosome enriched cerebrospinal fluid samples [J]. *J Alzheimers Dis*, 2017, 57(2):483. DOI:10.3233/JAD-161179.
- [5] Wei M, Yang T, Chen X, et al. Malignant ascites-derived exosomes promote proliferation and induce carcinoma-associated fibroblasts transition in peritoneal mesothelial cells [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(26):42262-42271. DOI:10.18632/oncotarget.15040.
- [6] Paredes PT, Esser J, Admyre C, et al. Bronchoalveolar lavage fluid exosomes contribute to cytokine and leukotriene production in allergic asthma [J]. *Allergy*, 2012, 67(7):911. DOI:10.1111/j.1398-9995.2012.02835.x.
- [7] Mathivanan S, Lim JWE, Tauro BJ, et al. Proteomics analysis of A33 immunoaffinity-purified exosomes released from the human colon tumor cell line LIM1215 reveals a tissue-specific protein signature [J]. *Mol Cell Proteomics*, 2010, 9(2):197. DOI:10.1074/mcp.M900152-MCP200.
- [8] Yu S, Cao H, Shen B, et al. Tumor-derived exosomes in cancer progression and treatment failure [J]. *Oncotarget*, 2015, 6(35):37151-37168. DOI:10.18632/oncotarget.6022.
- [9] Nishida-Aoki N, Ochiya T. Interactions between cancer cells and normal cells via miRNAs in extracellular vesicles [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2015, 72(10):1-13. DOI:10.1007/s00018-014-1811-0.
- [10] Colombo M, Moita C, Van NG, et al. Analysis of ESCRT functions in exosome biogenesis, composition and secretion highlights the heterogeneity of extracellular vesicles [J]. *J Cell Sci*, 2013, 126(24):5553-5565. DOI:10.1242/jcs.128868.
- [11] Ostrowski M, Carmo NB, Krumeich S, et al. Rab27a and Rab27b control different steps of the exosome secretion pathway [J]. *Nat Cell Biol*, 2009, 12(1):19-30. DOI:10.1038/ncb2000.
- [12] Turturici G, Tinnirello R, Sconzo G, et al. Extracellular membrane vesicles as a mechanism of cell-to-cell communication: advantages and disadvantages [J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2014, 306(7):621-633. DOI:10.1152/ajpcell.00228.2013.
- [13] Escudier B, Dorval T, Chaput N, et al. Vaccination of metastatic melanoma patients with autologous dendritic cell (DC) derived-exosomes: results of the first phase I clinical trial [J]. *J Trans Med*, 2005, 3(1):10. DOI:10.1186/1479-5876-3-10.
- [14] Morse MA, Garst J, Osada T, et al. A phase I study of dexosome immunotherapy in patients with advanced non-small cell lung cancer [J]. *J Transl Med*, 2005, 3(1):9. DOI:10.1186/1479-5876-3-9.
- [15] Admyre C, Grunewald J, Thyberg J, et al. Exosomes with major histocompatibility complex class II and co-stimulatory molecules are present in human BAL fluid [J]. *Eur Respir J*, 2003, 22(4):578. DOI:10.1183/09031936.03.00041703.
- [16] Canas JA, Sastre B, Mazzeo C, et al. Exosomes from eosinophils autoregulate and promote eosinophil functions [J]. *J Leukoc Biol*, 2017, 101(5):1191. DOI:10.1189/jlb.3AB0516-233RR.
- [17] Fei LK, Khoury P, Ware JAM, et al. Exosomes from eosinophils of asthmatic patients produce functional alterations on structural lung cells [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2016, 137(2):168. DOI:10.1016/j.jaci.2015.12.682.
- [18] Levanen B, Bhakta NR, Paredes PT, et al. Altered microRNA profiles in bronchoalveolar lavage fluid exosomes in asthmatic patients [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2013, 131(3):894-903. DOI:10.1016/j.jaci.2012.11.039.
- [19] Gon Y, Maruoka S, Inoue T, et al. Selective release of miRNAs via extracellular vesicles is associated with house dust mite allergen-induced airway inflammation [J]. *Clin Exp Allergy*,

- 2017, 47(12):1586-1598. DOI:10.1111/cea.13016.
- [20] Shin TS, Kim JH, Kim YS, et al. Extracellular vesicles are key intercellular mediators in the development of immune dysfunction to allergens in the airways [J]. *Allergy*, 2010, 65(10):1256-1265. DOI:10.1111/j.1398-9995.2010.02359.x.
- [21] Vargas A, Roux-Dalvai F, Droit A, et al. Neutrophil-derived exosomes: a new mechanism contributing to airway smooth muscle remodeling [J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2016, 55(3):450-461. DOI:10.1165/rmb.2016-0033OC.
- [22] Haj-Salem I, Plante S, Gounni AS, et al. Fibroblast-derived exosomes promote epithelial cell proliferation through TGF- β 2 signaling pathway in severe asthma [J]. *Allergy*, 2018, 73(1):178-186. DOI:10.1111/all.13234.
- [23] Moon HG, Kim SH, Gao J, et al. CCN1 secretion and cleavage regulate the lung epithelial cell functions after cigarette smoke [J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2014, 307(4):L326. DOI:10.1152/ajplung.00102.2014.
- [24] Perbal B. CCN proteins: a centralized communication network [J]. *J Cell Commun Signal*, 2013, 7(3):169-177. DOI:10.1007/s12079-013-0193-7.
- [25] Yu F, Araya J, Ito S, et al. Suppression of autophagy by extracellular vesicles promotes myofibroblast differentiation in COPD pathogenesis [J]. *J Extracell Vesicles*, 2015, 4(4):28388. DOI:10.3402/jev.v4.28388.
- [26] Ismail N, Wang Y, Dakhllallah D, et al. Macrophage microvesicles induce macrophage differentiation and miR-223 transfer [J]. *Blood*, 2013, 121(6):984-995. DOI:10.1182/blood-2011-08-374793.
- [27] Eltom S, Dale N, Raemdonck KR, et al. Respiratory infections cause the release of extracellular vesicles: implications in exacerbation of asthma/COPD [J]. *Plos One*, 2014, 9(6):e101087. DOI:10.1371/journal.pone.0101087.
- [28] Bourdonnay E, Zastona Z, Penke LR, et al. Transcellular delivery of vesicular SOCS proteins from macrophages to epithelial cells blunts inflammatory signaling [J]. *J Exper Med*, 2015, 212(5):729-742. DOI:10.1084/jem.20141675.
- [29] Takahashi T, Kobayashi S, Fujino N, et al. Increased circulating endothelial microparticles in COPD patients: a potential biomarker for COPD exacerbation susceptibility [J]. *Thorax*, 2012, 67(12):1067. DOI:10.1136/thoraxjnl-2011-201395.
- [30] Sinha A, Yadav AK, Chakraborty S, et al. Exosome-enclosed microRNAs in exhaled breath hold potential for biomarker discovery in patients with pulmonary diseases [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2013, 132(1):219-222. DOI:10.1016/j.jaci.2013.03.035.
- [31] Du YM, Zhuansun YX, Chen R, et al. Mesenchymal stem cell exosomes promote immunosuppression of regulatory T cells in asthma [J]. *Exp Cell Res*, 2018, 363(1):114-120. DOI:10.1016/j.yexcr.2017.12.021.
- [32] Almqvist N, Lönnqvist A, Hultkrantz S, et al. Serum-derived exosomes from antigen-fed mice prevent allergic sensitization in a model of allergic asthma [J]. *Insect Science*, 2008, 125(1):21-27. DOI:10.1111/j.1365-2567.2008.02812.x.
- [33] Thomashow MA, Shimbo D, Parikh MA, et al. Endothelial microparticles in mild chronic obstructive pulmonary disease and emphysema. The multi-ethnic study of atherosclerosis chronic obstructive pulmonary disease study [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2013, 188(1):60-68. DOI:10.1164/rccm.201209-1697OC.
- [34] Lacedonia D, Carpagnano GE, Trotta T, et al. Microparticles in sputum of COPD patients: a potential biomarker of the disease? [J]. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis*, 2016, 11(59):527-533. DOI:10.2147/COPD.S99547.
- [35] Xie L, Wu M, Lin H, et al. An increased ratio of serum miR-21 to miR-181a levels is associated with the early pathogenic process of chronic obstructive pulmonary disease in asymptomatic heavy smokers [J]. *Mol Bios*, 2014, 10(5):1072. DOI:10.1039/c3mb70564a.
- [36] Akbas F, Coskunpinar E, Aynaci E, et al. Analysis of serum micro-RNAs as potential biomarker in chronic obstructive pulmonary disease [J]. *Exper Lung Res*, 2012, 38(6):286-294. DOI:10.3109/01902148.2012.689088.
- [37] Burke H, Spalluto CM, Cellura D, et al. Role of exosomal microRNA in driving skeletal muscle wasting in COPD [J]. *Eur Respir J*, 2015, 46(59):2930. DOI:10.1183/1399-3003.congress-2015.OA2930.
- [38] Bruno S, Grange CM, Calogero R, et al. Mesenchymal stem cell-derived microvesicles protect against acute tubular injury [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2009, 20(5):1053. DOI:10.1681/ASN.2008070798.
- [39] Zhu Y, Feng X, Abbott J, et al. Human mesenchymal stem cell microvesicles for treatment of e. coli endotoxin-induced acute lung injury in mice [J]. *Stem Cells*, 2014, 32(1):116-125. DOI:10.1002/stem.1504.

(收稿日期: 2018-01-23)