

## 缺氧外泌体在疾病发生、发展中的研究进展 及在口腔医学应用的展望

李逸 陈北辰 朱丽 曹洵宁 段亦泓 罗煜颢 王彦

中山大学附属口腔医院, 光华口腔医学院, 广东省口腔医学重点实验室, 广州 510055

通信作者: 王彦, Email: wang93@mail.sysu.edu.cn

**【摘要】** 外泌体在细胞间通讯中发挥着重要的作用, 调节许多疾病发生、发展的过程。缺氧微环境与炎症、缺血、肿瘤等病理状态息息相关。越来越多的研究表明, 缺氧可以改变细胞分泌的外泌体的数量与其所包裹的内容物, 通过这一机制, 缺氧能够调节受体细胞的功能和行为。本文就缺氧外泌体在疾病发生、发展中的作用进行综述, 并探讨目前研究存在的不足和展望其在口腔医学中的应用。

**【关键词】** 缺氧; 外泌体; 微小RNA; 缺血性疾病; 肿瘤微环境; 神经疾病

**基金项目:** 国家自然科学基金(82071120); 广东省科技创新战略专项资金(pdjh2020b0017)

**引用著录格式:** 李逸, 陈北辰, 朱丽, 等. 缺氧外泌体在疾病发生、发展中的研究进展及在口腔医学应用的展望[JOL]. 中华口腔医学研究杂志(电子版), 2021, 15(4):245-254.

DOI: 10.3877/cma.j.issn.1674-1366.2021.04.009

### The research progress of hypoxia-induced exosomes in the development of associated diseases and the prospects of application in stomatology

Li Yi, Chen Beichen, Zhu Li, Cao Xunning, Duan Yihong, Luo Yuhao, Wang Yan

Hospital of Stomatology, Guanghua School of Stomatology, Sun Yat-sen University, Guangdong Provincial Key Laboratory of Stomatology, Guangzhou 510055, China

Corresponding author: Wang Yan, Email: wang93@mail.sysu.edu.cn

**【Abstract】** As a crucial role in the progression of lots of diseases, Exosomes are important in participate in intercellular communication. Hypoxia, an important feature of inflammation, ischemic injury and tumor microenvironment, has been proved to increase the production and alter the content of exosomes. Hypoxia may modulate the functions and behavior of recipient cells via this mechanism. The purpose of the article is to review the current information on hypoxia-induced exosomes in the development of associated diseases and the prospects of application in stomatology.

**【Key words】** Hypoxia; Exosomes; MicroRNAs; Ischemic diseases; Tumor microenvironment; Neurological

diseases

**Fund programs:** National Natural Science Foundation of China(82071120); Fund for Science and Technology Innovation Strategy of Guangdong Province(pdjh2020b0017)

DOI: 10.3877/cma.j.issn.1674-1366.2021.04.009

#### 一、缺氧状态下外泌体形成的机制与包裹内容物的差异

外泌体是直径为50~100 nm的细胞外囊泡, 作为细胞分泌的重要成分, 外泌体参与生物化学物质如miRNA、蛋白质、脂质的运输, 其表面特定配体与靶细胞结合并释放内容物, 在细胞间通讯与细胞自身的增殖分化和自我更新的过程中起着至关重要的作用。

缺氧微环境与炎症、缺血、肿瘤等病理状态密切相关, 随着缺氧生物学的快速发展, 越来越多的研究表明缺氧状态下, 细胞分泌的外泌体与常氧外泌体存在诸多差异。缺氧不仅能够刺激细胞外泌体的进一步分泌, 还可以改变外泌体中RNA、蛋白质等的组成与含量, 通过这一机制, 缺氧能够调节受体细胞的功能和行为<sup>[1]</sup>。

1. 外泌体分泌的过程: 外泌体由早期内体的出芽发展而来, 早期内体形成包含腔内囊泡(intraluminal vesicle, ILV)的多泡体(multivesicular endosome, MVE), 一些MVE与细胞质膜(plasma membrane, PM)融合, 将ILV释放到细胞外, 即为外泌体。

2. 缺氧状态下外泌体分泌的机制: 目前, 已提出的缺氧状态下外泌体分泌增加的关键途径主要通过缺氧诱导因子(hypoxia-inducible factor, HIF)实现。

HIF(HIF-1、2、3)是一类转录因子, 由缺氧条件下稳定表达的氧调节亚基HIF- $\alpha$ (1 $\alpha$ 、2 $\alpha$ 、3 $\alpha$ )和组成性表达的亚基HIF- $\beta$ (1 $\beta$ 、2 $\beta$ 、3 $\beta$ )异二聚体组成, HIF活性很大程度上取决于HIF- $\alpha$ 的表达水平。常氧条件下, O<sub>2</sub>依赖性脯氨酰羟化酶(prolyl hydroxylase domain, PHD)羟基化HIF- $\alpha$ 特定的脯氨酸残基, 使HIF- $\alpha$ 与E3连接酶VHL(von Hippel-Lindau)结合进行泛素化降解, 而在缺氧条件下, HIF- $\alpha$ 的脯氨酸残基羟基化受到抑制, 导致HIF- $\alpha$ 累积, 与HIF- $\beta$ 二聚化后易位至细胞核内, 与保守型缺氧反应元件(hypoxic response elements, HRE)中的靶序列5'-RCGTG-3'结合, 刺激低氧相关基因的表达。另外, 在常氧条件下, 天冬酰胺基羟化酶FIH-1催化HIF- $\alpha$ 特定天冬酰胺的羟基化, 阻止转录共激活因子p300与HIF- $\alpha$ 结

合,缺氧条件下 p300 能够催化 HIF- $\alpha$  靶基因核心组蛋白 N 末端赖氨酸残基乙酰化,使染色质结构发生变化,进一步刺激低氧相关基因的表达<sup>[2]</sup>。

缺氧状态下,肾近端小管细胞<sup>[1]</sup>、粒细胞性髓源性抑制细胞<sup>[3]</sup>、脐带间充质干细胞<sup>[4]</sup>、骨髓间充质干细胞<sup>[5]</sup>等细胞外分泌体的分泌增加由 HIF-1 介导。外源性 HIF-1 诱导剂能够促进外分泌体分泌,而抑制 HIF-1 能消除缺氧条件下的外分泌体分泌增加。

研究表明, HIF-1 能够与丙酮酸激酶 M2 型 (pyruvate kinase M2, PKM2) 的第一个内含子中的 HRE 结合,直接激活其基因转录。在外分泌体分泌过程中,位于其表面的 v-SNARE 和细胞膜胞质侧的 t-SNARE 识别配对形成 SNARE 复合体,介导外分泌体的释放。磷酸化的 PKM2 可与邻近 SNARE 复合体的组成成分突触相关蛋白 SNAP-23 结合,导致 SNAP-23 的 Ser-95 磷酸化,增加外分泌体的释放<sup>[6-7]</sup>。

Rab 蛋白是小型 GTPases 中的一大类家族蛋白,其中 Rab27a 的表达在缺氧促进外分泌体分泌增加的过程中发挥关键作用<sup>[3]</sup>。Rab27a 能够通过效应蛋白 Slp4 促进 MVE 分布至胞质周围与细胞质膜相对接,Rab27a 敲低的细胞中与 MVE 质膜对接减少且其大小显著增加,外分泌体分泌减少<sup>[8]</sup>。缺氧

条件下, HIF-1 $\alpha$  高度活化转录因子 3 (signal transducer and activator of transcription3, STAT3), 上调 Rab27a 蛋白,外分泌体的释放增加<sup>[9]</sup>。其他 Rab 蛋白如 Rab20、Rab22 等介导缺氧状态下外分泌体分泌增加的研究也有被报道<sup>[1]</sup>。

另外,神经酰胺是促进内体出芽形成 MVE 的关键分子,中性鞘磷脂酶 2 (neutral sphingomyelinase 2, nSMase2) 促进神经酰胺的分泌可能在缺氧状态下外分泌体分泌中也发挥重要作用<sup>[7]</sup>。在骨髓间充质干细胞缺氧状态下, HIF-1 $\alpha$  能够介导 nSMase2 的表达显著上调,导致外分泌体分泌增加,而在此过程中 Rab 蛋白的含量无明显变化。且在缺氧条件下利用选择性抑制剂阻断 nSMase2 的活性,外分泌体分泌量以抑制剂剂量依赖性的方式降低<sup>[10]</sup>。

3. 缺氧对外分泌体包裹内容物的影响:缺氧对非肿瘤细胞外分泌体内容物影响的概况如表 1 所示,表格中对近年来研究发现缺氧状态下非肿瘤细胞外分泌体主要变化的内容物及其作用与作用发挥的机制进行列举,缺氧对肿瘤细胞的影响将在后文进行探讨。目前,大多数研究认为缺氧状态下外分泌体包裹内容物的含量变化由 HIF-1 $\alpha$  介导,其具体机制仍有待进一步探究<sup>[4-5,10-25]</sup>。

表 1 缺氧对非肿瘤细胞外分泌体包裹内容物的影响及其中主要的内容物改变与发挥作用的机制

内容物分类	细胞	缺氧状态下细胞外分泌体主要内容物变化	内容物分泌改变机制	内容物作用	作用发挥机制
miRNA	脐带间充质干细胞	miR-126 $\uparrow$	由 HIF-1 $\alpha$ 介导	促进内皮细胞增殖,血管生成和迁移,促进骨折愈合	SPRED1/Ras/Erk 途径 <sup>[4]</sup>
		miR-21 $\uparrow$		抑制 $\beta$ 细胞凋亡	减轻 ER 应激、抑制 p38 MAPK 磷酸化 <sup>[11]</sup>
	骨髓间充质干细胞	miR-216a-5p $\uparrow$	由 HIF-1 $\alpha$ 介导	调节小胶质细胞 M1/M2 极化	TLR4/NF- $\kappa$ B/PI3K/AKT 途径 <sup>[5]</sup>
		miR-210 $\uparrow$		抑制细胞凋亡 促进血管生成	下调 ephrin A3、CASP8AP2 <sup>[10]</sup> 上调 VEGF <sup>[12]</sup>
	脂肪干细胞	miR-125b-5p $\uparrow$		抑制细胞凋亡	抑制 p53 基因和 BAK1 <sup>[12]</sup>
		miR-486-5p $\uparrow$		抑制受损心肌细胞的凋亡	抑制 PTEN 表达,激活 PI3K/AKT 信号通路 <sup>[13]</sup>
		miR-214 $\uparrow$		调节心脏祖细胞的氧化损伤	降低 CaMK II <sup>[14]</sup>
		miR-149 $\uparrow$		保护心肌细胞	Let-7c/FASLG 途径 <sup>[15]</sup>
	心脏祖细胞	miR-146a $\uparrow$	由 HIF-1 $\alpha$ 介导	减轻 AMI 引起的心肌损伤	下调 EGR1
		miR-126 $\uparrow$		减少心肌细胞凋亡	减少炎症因子表达 <sup>[16]</sup>
	心肌细胞	miR-15b、miR-17、 miR-20a、miR-103、 miR-199a、miR-210、 miR-292 $\uparrow$	由 HIF-1 $\alpha$ 介导	促进血管生成 抗心肌纤维化 减小心肌梗死面积	未明 <sup>[17-18]</sup>
		miR-30a $\uparrow$	由 HIF-1 $\alpha$ 介导	维持心肌细胞自噬	上调 beclin-1、Atg12、LC3 II / LC3 I <sup>[19]</sup>
miR-152-3p $\uparrow$			抑制细胞凋亡	Atg12/Bcl-2 途径 <sup>[20]</sup>	
let-7i-5p $\uparrow$			抑制细胞凋亡	抑制 FASLG <sup>[20]</sup>	
肾小管上皮细胞	circHIPK3 $\uparrow$		调节细胞的氧化损伤	miR-29a/IGF-1 途径 <sup>[21]</sup>	
	miR-23a $\uparrow$	由 HIF-1 $\alpha$ 介导	激活巨噬细胞促炎极化,增加炎症细胞浸润,促进炎症发生	抑制泛素编辑酶 A20, 诱发巨噬细胞代谢重编程 <sup>[22]</sup>	
蛋白质	内皮细胞	miR-20a-5p $\uparrow$		促进细胞增殖、稳定线粒体功能	增加 mtDNA 的拷贝数 <sup>[23]</sup>
		LOXL2	由 HIF-1 $\alpha$ 介导	参与纤维化、伤口愈合过程	调节 ECM 重塑 <sup>[24]</sup>
	肺动脉内皮细胞	15-LO2 $\uparrow$	由 HIF-1 $\alpha$ 介导	促进细胞迁移改善肺动脉高压	STAT3 通路 <sup>[25]</sup>

注:  $\uparrow$  代表该内容物含量增加

这些差异提示了缺氧外泌体的广阔应用前景,本文就缺氧外泌体在相关疾病的发生、发展中的作用进行综述。

二、缺氧外泌体在缺血性疾病以及神经疾病发生、发展中的作用

1. 缺氧外泌体在缺血性疾病中的作用:缺血性疾病常导致组织处于低氧环境,引发多种生理和病理反应。在心、肾相关的缺血性疾病中,组织细胞分泌的缺氧外泌体在疾病治疗与预后中的作用被广泛研究。

心肌梗死(myocardial infarction, MI)主要是由冠状动脉持续性缺血、缺氧导致的,MI的主要病理特点包括微循环功能障碍、心肌细胞凋亡、心脏纤维化等,MI时组织缺血本身也能促进具有心脏保护功能的外泌体在心脏的原位释放<sup>[26-27]</sup>,多种细胞缺氧外泌体在MI中表现出显著的修复功能。在模拟缺血性疾病细胞缺氧环境的体外模型中,缺氧能够诱导心脏祖细胞外泌体中miR-15b、miR-17、miR-20a、miR-103、miR-199a、miR-210和miR-292的上调,使其有更显著的促血管生成和抗心肌纤维化作用<sup>[17]</sup>。还有研究表明,心脏祖细胞缺氧外泌体能减小心肌梗死面积,从而改善心脏功能<sup>[18]</sup>。缺氧还能够诱导心肌细胞外泌体中miR-21-5p、miR-378-3p、miR-152-3p、let-7i-5p上调,从而减轻心肌细胞凋亡<sup>[20]</sup>。此外,心肌细胞缺氧外泌体还能作用于心脏微血管内皮细胞,通过上调circHIPK3的含量以改善细胞氧化损伤<sup>[21]</sup>。其他类型的干细胞如间充质干细胞<sup>[12]</sup>和心外膜祖细胞<sup>[28]</sup>缺氧外泌体的心脏修复功能也有被探究。

缺血再灌注引起的急性肾损伤也被广泛探究,其主要病理特点包括肾脏微循环功能障碍、肾小管上皮细胞凋亡和炎症等。与MI时组织缺血致心脏组织细胞分泌的外泌体及其内容物的改变类似,缺氧可以诱导肾小管上皮细胞外泌体分泌增加,且所分泌的缺氧外泌体可以延缓细胞三磷酸腺苷(adenosine triphosphate, ATP)耗竭的进程,抑制细胞凋亡<sup>[1]</sup>。另有研究发现,与来自肾小管上皮细胞的常氧外泌体治疗相比,缺氧外泌体的治疗能更显著地保护肾结构完整性并改善肾滤过功能<sup>[29]</sup>。

远程缺血预处理(remote ischemic preconditioning, RIPC)是通过对一个器官进行缺血预处理,对远程的器官产生保护作用。在缺血再灌注的情况下,RIPC可有效保护重要器官<sup>[30]</sup>。缺氧外泌体能够通过细胞通信介导RIPC对器官的保护作用。研究发现,施行RIPC的大鼠后肢产生的缺氧外泌体,可以通过旁分泌途径将miR-24、miR-144经血液运输至心脏后作用于靶细胞,以减少细胞凋亡,减轻心肌因缺血再灌注损伤引起的心功能障碍<sup>[31]</sup>。而对小鼠后肢施行RIPC还可以通过下调缺氧外泌体中miRNA的含量,瞬时增加血浆中血管内皮生长因子的水平,减轻脊髓损伤<sup>[32]</sup>。另有研究表明,RIPC可以增加缺血部位的缺氧外泌体中miR-21的含量,经血液运输后可保护肾脏免受败血症引起的损伤<sup>[33-34]</sup>。

然而,在临床实践中,往往无法预测急性缺血性损伤的发生。因此,部分研究中采用远程缺血后处理(remote ischemic postconditioning, RIPostC)替代RIPC减轻急性缺血

性损伤。在RIPostC对缺血再灌注器官的保护作用中,缺氧外泌体也发挥重要作用。RIPostC能增加骨骼肌细胞缺氧外泌体中miR-29a及IGF-1R的含量,经血液运输后减轻心肌梗死引起的功能障碍和心脏重构<sup>[35]</sup>。此外,RIPostC通过促进缺氧外泌体的远程转移也能够减轻缺血性脑损伤。大鼠股动脉内皮细胞缺氧外泌体的转移抑制神经元凋亡的同时能够促进神经元细胞增殖,保护神经元免受缺血再灌注损伤<sup>[36]</sup>,且使用缺氧培养的血管内皮细胞作为体外接受RIPostC的远程细胞模型进行研究发现,血管内皮细胞缺氧外泌体与神经细胞体外共培养,可以抑制神经细胞内质网应激,减轻了神经细胞的炎症反应与凋亡<sup>[37]</sup>。

2. 缺氧外泌体在神经疾病中的作用:神经损伤与神经退行性病变是神经系统的常见疾病,由于大多数神经元不可再生,神经疾病的治疗面临着巨大挑战。缺氧外泌体能改善神经系统功能,在神经元修复方面具有潜在应用前景。

脊髓损伤(spinal cord injury, SCI)是脊柱损伤最严重的并发症,常导致损伤脊髓节段以下肢体严重的功能障碍。间充质干细胞缺氧外泌体中大量表达miR-216a-5p,促进小胶质细胞由M1表型转变为M2表型,抑制神经元的过度炎症反应<sup>[5]</sup>。周细胞缺氧外泌体可以降低血管内皮细胞的通透性,在改善创伤脊髓的微循环、保护血脑屏障中有一定作用<sup>[38]</sup>。此外,受损神经元分泌的缺氧外泌体中HIF-1 $\alpha$ 的表达上调,能够促进骨髓间充质干细胞的存活<sup>[39]</sup>。上述研究证明缺氧外泌体可调节多种与神经损伤修复相关的细胞活性,利于SCI恢复。

另有研究发现,缺氧外泌体也可用于阿尔茨海默病(alzheimer disease, AD)的治疗。间充质干细胞缺氧外泌体可以减少淀粉样斑块的沉积和促炎性细胞因子的表达,增加抗炎性细胞因子的表达,减轻AD小鼠脑中炎症反应,从而改善AD小鼠的空间学习和记忆能力<sup>[40]</sup>。

3. 缺氧外泌体在其他非肿瘤疾病中的作用:缺氧外泌体可以改善器官移植手术的预后,促进移植器官的存活。研究发现,脂肪基质细胞缺氧外泌体可以促进血管内皮细胞迁移和血管生成,从而促进脂肪移植物的存活<sup>[41]</sup>。另一项研究表明,间充质干细胞缺氧外泌体通过下调活性氧和上调Erk信号调节蛋白水平,能减少猪胰岛细胞凋亡和氧化应激,表明了缺氧外泌体在胰岛移植中起到一定的保护作用<sup>[42]</sup>。

不同细胞来源的缺氧外泌体具有不同的特性,在不同的组织中有着不同的治疗作用。在骨折微环境中,大部分细胞处于低氧条件<sup>[43]</sup>,间充质干细胞缺氧外泌体在骨折区域的应用可以进一步促进血管生成、细胞增殖和迁移,从而促进小鼠的骨折愈合<sup>[4]</sup>。在治疗肌腱损伤中,低氧环境促进腱细胞和邻近的间充质干细胞通过缺氧外泌体促进细胞自分泌与旁分泌,保护肌腱基质免受损伤<sup>[44]</sup>。此外,应用间充质干细胞缺氧外泌体治疗脓毒症综合征(sepsis syndrome, SS)大鼠,可以抑制炎症反应,改善肾、肺损伤,促进大鼠的存活<sup>[45]</sup>。

三、缺氧外泌体在肿瘤疾病发生、发展中的作用

外泌体同样参与肿瘤细胞间的通讯,越来越多的研究表

明外泌体具有促进肿瘤进展和重塑肿瘤微环境重塑的作用。缺氧是肿瘤微环境的重要特征,已经证明缺氧条件可以增加肿瘤细胞外泌体的释放并改变其内容物,缺氧可能通过这种机制调节肿瘤细胞与肿瘤微环境中其他基质细胞的功能和行为<sup>[46]</sup>。据报道,缺氧肿瘤细胞外泌体能够导致肿瘤细胞代谢重编程并促进细胞上皮-间充质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT),增加血管形成和血管通透性,抑制免疫细胞,诱导肿瘤细胞的转移,提示缺氧外泌体在肿瘤疾病的发生、发展中起重要作用。

#### 1. 缺氧对肿瘤细胞外泌体分泌数量、内容物的影响

(1)外泌体分泌数量变化:缺氧状态下,癌细胞外泌体分泌也进一步增加。肺癌细胞系、结直肠癌细胞系、肝细胞

癌细胞系、胰腺癌细胞系、宫颈癌细胞系、乳腺癌细胞系缺氧状态下外泌体分泌增加主要依赖 HIF-1 $\alpha$ /PKM2/SNAP-23 途径<sup>[7]</sup>;卵巢癌细胞系、前列腺癌细胞系主要依赖 HIF-1 $\alpha$ /Rab 途径,其中,卵巢癌细胞系外泌体分泌增加由 Rab7、Rab27a 介导<sup>[9]</sup>,前列腺癌细胞系由 Rab5 介导<sup>[47]</sup>。另外,在胰腺癌细胞系(MiaPaCa、AsPC1)中还观察到缺氧状态下外泌体尺寸的变化<sup>[48]</sup>。

(2)外泌体内容物改变:本文对近年来缺氧外泌体在肿瘤疾病中的研究做一总结,具体内容可参见表2。

#### 2. 缺氧外泌体对肿瘤疾病发生、发展的影响

(1)促进血管形成:血管生成是实体肿瘤生长、转移的重要过程,缺氧是驱动肿瘤异常血管生成的主要因素之一,主

表2 缺氧对肿瘤细胞外泌体包裹内容物的影响、缺氧来源的肿瘤外泌体中主要内容物的作用及发挥作用的机制

癌症	细胞系	缺氧状态下细胞外泌体主要内容物变化	内容物作用	作用发挥机制
胶质母细胞瘤	U87MG、U251	特异性表达 miR-301a	降低辐射敏感性	抑制 TCEAL7 <sup>[49]</sup>
		miR-1246 $\uparrow$	促进肿瘤细胞增殖	抑制 TERF2IP, 促进巨噬细胞 M2 极化 <sup>[50]</sup>
		miR-1246 $\uparrow$	促进肿瘤细胞迁移	抑制 TERF2IP, 促进巨噬细胞 M2 极化 <sup>[50]</sup>
肺癌	NCI-H1437, -H1648, -H1792, -H2087	LncRNA 01060 $\uparrow$	促进肿瘤细胞增殖	MZF1/c-Myc/HIF1 $\alpha$ 途径 <sup>[51]</sup>
		miR-23a $\uparrow$	促进肿瘤细胞迁移	MZF1/c-Myc/HIF1 $\alpha$ 途径 <sup>[51]</sup>
		miR-23a $\uparrow$	促进血管生成	PHD1/2/HIF-1 $\alpha$ /VEGF <sup>[52]</sup>
	NCI-H1437, -H1792, -H2087	miR-103a $\uparrow$	促进肿瘤细胞迁移	抑制 ZO-1 <sup>[52]</sup>
		miR-103a $\uparrow$	调节免疫反应	PTEN 途径, 促进巨噬细胞 M2 极化 <sup>[53]</sup>
		miR-103a $\uparrow$	促进血管生成	PTEN 途径, 促进巨噬细胞 M2 极化 <sup>[53]</sup>
口腔鳞状细胞癌	SCC-9、CAL-27	PKM2 $\uparrow$	促进肿瘤细胞增殖	PTEN 途径, 促进巨噬细胞 M2 极化 <sup>[53]</sup>
		TGF- $\beta$ $\uparrow$	增加肿瘤耐药性	PKM2/BCL2 途径 <sup>[54]</sup>
		miR-21 $\uparrow$	调节免疫反应	降低 NKG2D 表达 <sup>[55]</sup>
结直肠癌	HT29、HCT116	miR-21 $\uparrow$	促进肿瘤细胞迁移	诱导 EMT <sup>[56]</sup>
		miR-21 $\uparrow$	调节免疫反应	通过 PTEN/PD-L1 途径增强 MDSC 对 $\gamma\delta$ T 细胞的抑制作用 <sup>[57]</sup>
		miR-21 $\uparrow$	促进肿瘤细胞迁移	通过 PTEN/PD-L1 途径增强 MDSC 对 $\gamma\delta$ T 细胞的抑制作用 <sup>[57]</sup>
肝细胞癌	Hep G2	Wnt4 mRNA $\uparrow$	促进肿瘤细胞迁移	Wnt/ $\beta$ -catenin 途径 <sup>[58]</sup>
		circ-133 $\uparrow$	促进肿瘤细胞迁移	GEF-H1/RhoA 途径 <sup>[59]</sup>
		miR-410-3p $\uparrow$	促进肿瘤细胞迁移	PTEN/PI3K/Akt 途径 <sup>[60]</sup>
胰腺癌	PANC-1、MIA PaCa-2、BxPC-3、Aspc-1、Sw1990	miR-23a $\uparrow$	促进血管生成	激活 SIRT1 <sup>[61]</sup>
		miR-1273f $\uparrow$	促进肿瘤细胞增殖	Wnt/ $\beta$ -catenin 途径 <sup>[62]</sup>
		miR-1273f $\uparrow$	促进肿瘤细胞迁移	Wnt/ $\beta$ -catenin 途径 <sup>[62]</sup>
肾癌	Caki-1、KMRC-1	LncRNA UCA1 $\uparrow$	促进血管生成	miR-96-5p/AMOTL2/ERK1/2 途径 <sup>[63]</sup>
		LncRNA UCA1 $\uparrow$	促进肿瘤细胞增殖	抑制 miR-135a <sup>[64]</sup>
		miR-301a-3p $\uparrow$	调节免疫反应	PTEN 途径, 促进巨噬细胞 M2 极化 <sup>[65]</sup>
		miR-301a-3p $\uparrow$	促进血管生成	PTEN 途径, 促进巨噬细胞 M2 极化 <sup>[65]</sup>
		miR-301a-3p $\uparrow$	促进肿瘤细胞增殖	PTEN 途径, 促进巨噬细胞 M2 极化 <sup>[65]</sup>
膀胱癌	5637、UMUC2、T24	miR-1273f $\uparrow$	促进肿瘤细胞迁移	PTEN 途径, 促进巨噬细胞 M2 极化 <sup>[65]</sup>
		miR-1273f $\uparrow$	促进肿瘤细胞迁移	PTEN 途径, 促进巨噬细胞 M2 极化 <sup>[65]</sup>
宫颈癌	Siha、Caski、C33a、MS751、ME180	CA9 $\uparrow$	促进血管生成	上调内皮细胞 MMP2 表达 <sup>[66]</sup>
		CA9 $\uparrow$	促进肿瘤细胞迁移	未明
前列腺癌	PC3	LncRNA UCA1 $\uparrow$	促进肿瘤细胞迁移	miR-145/ZEB1/2/FSCN1 途径, 诱导 EMT <sup>[67-68]</sup>
		miR-221-3p $\uparrow$	促进肿瘤细胞迁移	下调 VASH1, 激活 AKT、ERK 途径 <sup>[69]</sup>
		MMP-9 $\uparrow$	促进肿瘤细胞迁移	降解 ECM <sup>[70]</sup>

注:  $\uparrow$  代表该内容物含量增加

要通过调节血管内皮生长因子(vasculare endothelial growth factor, VEGF)信号转导实现。其中,缺氧外泌体 miR-23a 通过多种机制在多种肿瘤的血管生成中发挥促进作用,缺氧肺癌细胞外泌体 miR-23a 上调,抑制人脐静脉内皮细胞(human umbilical vein endothelial cell, HUVEC)内 PHD1/2 的活性,通过 HIF-1 $\alpha$ /VEGF 途径促进血管生成<sup>[52]</sup>;而在缺氧肝癌细胞外泌体中上调的 miR-23a 作用于 HUVEC SIRT1 的 3' UTR,升高 VEGF、基质金属蛋白酶 9(matrix metalloproteinase-9, MMP-9) 等的表达<sup>[61]</sup>。

近年来,许多患者受益于 VEGF 靶向治疗和化学疗法的联合治疗,但胰腺癌患者的总体预后并不乐观。然而,几项对胰腺癌动物模型的研究发现,抗血管生成药物的治疗可有效减缓肿瘤进展,因此,研究不依赖于 VEGF 的血管生成途径十分重要。在缺氧微环境中,癌细胞能够释放更多的外泌体促进血管生成,研究表明, lncRNA UCA1 在缺氧的胰腺癌细胞分泌的外泌体中表达上调,作用于 HUVEC,通过调节 miR-96-5p/AMOTL2/ERK1/2 轴促进血管生成,血清中的外泌体 lncRNA UCA1 水平与胰腺癌晚期预后紧密相关<sup>[63]</sup>。

(2) 促进肿瘤细胞的增殖、迁移: EMT 是上皮细胞来源的恶性肿瘤转移、侵袭的重要生物学过程,主要特征包括 E-钙粘着蛋白(E-cadherin)的减少、细胞角蛋白骨架向波形蛋白(Vimentin)骨架的转化以及肿瘤细胞干性的获得<sup>[71]</sup>。E-cadherin 是介导上皮细胞间连接的关键分子,其在膜上分布的减少是癌细胞侵袭、转移的初始环节。GEF-H1/RhoA 能够引起 E-cadherin 的分布变化,在癌症侵袭转移中发挥关键作用。在结直肠癌肿瘤微环境中,缺氧结直肠癌细胞外泌体中 circ-133 上调,作用于仍处于常氧状态下的结直肠癌细胞,通过 miR-133a/GEF-H1/RhoA 途径促进肿瘤的 EMT、侵袭、转移<sup>[59]</sup>。关于缺氧外泌体促进 EMT 的其他研究也有被报道,如缺氧膀胱上皮癌细胞外泌体中富含的 lncRNA UCA1,通过 miR-145/ZEB1/2/FSCN1 途径诱导 EMT 过程,促进肿瘤细胞的侵袭<sup>[68]</sup>,在缺氧口腔鳞状细胞癌外泌体中也发现上调的 miR-21 也在 EMT 过程中发挥重要作用<sup>[56]</sup>。此外,骨髓间充质干细胞(bone marrow mesenchymal stem cell, BMSC)作为癌症微环境中的组成部分,缺氧环境下 BMSC 释放的外泌体可被邻近的肺癌细胞摄取,其中的特异性 miRNA(miR-193a-3p、miR-210-3p、miR-500)能够激活 STAT3 信号转导通路,促进受体细胞的 EMT 过程<sup>[72]</sup>。

Wnt/ $\beta$ -catenin 信号转导途径是癌症发生、发展的经典途径,缺乏 Wnt 信号时, $\beta$ -catenin 在细胞质中降解,Wnt 信号充足时, $\beta$ -catenin 在细胞质中积累并转移至细胞核中行使辅助转录因子的作用。缺氧结直肠癌细胞外泌体中 Wnt4 mRNA 含量上调,作用于常氧结直肠癌细胞并导致这些细胞的 $\beta$ -catenin 活化,促进肿瘤细胞的迁移、侵袭<sup>[58]</sup>;缺氧肝癌细胞外泌体中 miR-1273f 上调,作用于常氧肝癌细胞,下调 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号转导途径抑制剂 LHX6 以激活此通路,促进这些细胞增殖、迁移和 EMT 过程<sup>[62]</sup>。

缺氧外泌体中蛋白质含量的变化也可促进肿瘤细胞的

侵袭和转移,如缺氧外泌体中高表达的碳酸酐酶 9(CA9)通过与碳酸氢盐转运体的物理作用调节肿瘤细胞内 pH 也可促进肿瘤细胞迁移<sup>[66]</sup>;缺氧前列腺癌细胞外泌体中 MMP-9 分泌增多且活性增高,有利于肿瘤细胞迁移<sup>[70]</sup>。

血管内皮细胞间紧密连接对于血管屏障的形成也至关重要,越来越多的证据表明,血管通透性的增加与癌症的浸润、扩散和转移有关。紧密连接蛋白(zonula occludens-1, ZO-1)能够调节血管生成和内皮屏障的形成,在缺氧的肺癌细胞中,miR-23a 通过靶向 ZO-1 破坏内皮屏障,促进肿瘤细胞迁移<sup>[52]</sup>。

另外,缺氧宫颈鳞状细胞癌细胞外泌体 miR-221-3p 作用于人淋巴管内皮细胞(HLEC),下调血管抑制蛋白 1(VASH1),激活 AKT 和 ERK 信号通路,诱导淋巴管生成,促进淋巴转移<sup>[27]</sup>。

(3) 调节免疫反应: 缺氧在免疫抑制性肿瘤微环境的形成中发挥关键作用,缺氧肿瘤细胞外泌体能够通过不同方式调节宿主免疫系统、逃避宿主免疫。

巨噬细胞是存在于肿瘤微环境中最丰富的免疫细胞,根据所处极化为 M1 或 M2 表型, M2 型巨噬细胞高表达抗炎因子 IL-10 等和精氨酸酶-1(Arg1),有利于肿瘤细胞生长。研究发现,缺氧胰腺癌细胞外泌体中 miR-301a-3p 和缺氧肺癌细胞外泌体中 miR-103a 表达升高,能够抑制 PTEN 表达,增强 PI3K $\gamma$ /Akt 或 JAK2/STAT3 途径的激活,促进巨噬细胞 M2 极化,更好地逃避宿主免疫,促进肿瘤细胞增殖与迁移<sup>[53,65]</sup>。无独有偶,缺氧胶质母细胞瘤来源的外泌体中富集的 miR-1246 能够作用于巨噬细胞,抑制端粒重复结合因子 2(TERF2IP)的表达,上调 STAT3 途径并抑制核转录因子 $\kappa$ B(nuclear transcription factor-kappa B, NF- $\kappa$ B)途径促进巨噬细胞 M2 极化<sup>[50]</sup>。

髓源性抑制细胞(myeloid-derived suppressor cell, MDSC)能够在肿瘤微环境中充分增殖,可通过 PD-L1/PD-1 相互作用抑制 $\gamma$  $\delta$ T 细胞抗肿瘤免疫。缺氧口腔鳞状细胞癌细胞外泌体中 miR-21 上调,靶向下调 MDSC 中 PTEN 的表达,进而增加 PD-L1 的表达,诱导 MDSC 的免疫抑制活性<sup>[57]</sup>。有趣的是,在对缺氧结肠癌微环境的研究中发现,在癌症微环境中充分活化的粒细胞性髓源性抑制细胞(G-MDSC)外泌体 S100A9 分泌增加,通过作用于结肠癌细胞,致癌细胞中 Nox4、ROS 水平升高。氧化应激环境引起 DNA 损伤、降低基因组稳定性,最终导致癌细胞代谢重编程,以激活 Nox/ROS/NF- $\kappa$ B/STAT3 途径等多种方式促进肿瘤细胞生长<sup>[3]</sup>。

此前的研究还发现,含有高浓度转化生长因子 $\beta$ 1(TGF- $\beta$ 1)的缺氧肺癌细胞外泌体被 NK 细胞摄取后,通过减少 NK 细胞活化受体(NKG2D)在细胞表面的表达,抑制 NK 细胞对肿瘤细胞的细胞毒效应<sup>[55]</sup>。

(4) 增加肿瘤细胞的耐药性、抗辐射性: 肿瘤内部的缺氧区域常常对化疗具有抵抗力,这些缺氧耐药细胞可通过分泌外泌体在肿瘤细胞间传递耐药性。缺氧耐顺铂非小细胞肺癌细胞外泌体中富含 PKM2,作用于邻近敏感癌细胞,调节

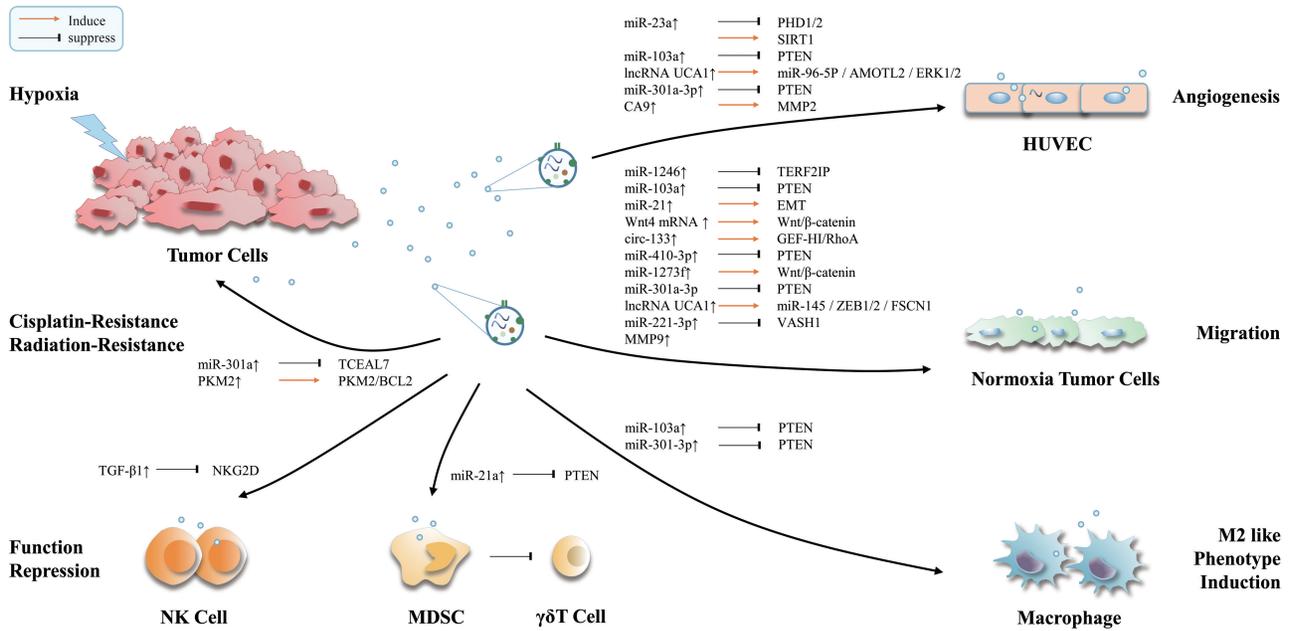


图1 缺氧外泌体对肿瘤疾病发生、发展的影响

受体细胞糖酵解并以PKM2-BCL2依赖性的方式中和顺铂诱导的ROS生成和氧化应激导致的细胞凋亡,同时促进受体细胞的增殖和侵袭<sup>[54]</sup>。

此外,缺氧胶质母细胞瘤外泌体特异性表达miR-301a,通过抑制抗癌基因TCEAL7的表达,可降低胶质母细胞瘤的辐射敏感性,miR-301a/TCEAL7轴可能通过激活Wnt/β-catenin信号转导途径发挥作用,其具体机制仍待进一步研究<sup>[49]</sup>。

缺氧外泌体对肿瘤疾病发生、发展的影响简单归纳如图1所示。

四、缺氧外泌体的潜在治疗应用与在口腔医学中的研究展望

缺氧外泌体是一种特殊的缺氧信号,其所含内容物作为特异性标记在对缺氧性疾病的发病机制的研究、疾病监测、评估疾病进展、疾病治疗和预后观察、组织器官移植后疗效评价中发挥着重要的作用<sup>[73]</sup>。

对比常氧外泌体,缺氧外泌体内容物以及其含量的差异可能是其呈现的疗效差异的原因<sup>[40]</sup>。因此,提取外泌体内容物并进一步阐明其中发挥疗效的主要分子十分重要。同时,研究缺氧如何影响其内容物的包装也具有重要意义。研究缺氧外泌体的产生方式与其中发挥细胞保护作用的分子及其机制,对疾病治疗手段的改进、药物的研制有可观的指导性作用<sup>[4,74]</sup>。另外,缺氧外泌体可以通过多种方式进行工程改造,从而促进靶细胞的内吞作用,或通过特定的配体-受体结合方式使其定向运输至靶细胞。

脂质体和聚合物纳米颗粒等人工载体已被用于药物递送,但人工药物载体的潜在毒性、免疫原性、无法穿透血脑屏障和靶向特定器官使其在临床应用中存在一定缺陷。而外泌体能避免内体途径和溶酶体降解,并将药物直接递送到细

胞质中。目前,小分子药物(如阿霉素、紫杉醇)、大分子药物(如曲妥珠单抗)、核酸分子(如siRNA与miRNA)、CRISPR/Cas9系统等多种药物或治疗性分子都已通过外泌体进行药物递送<sup>[75]</sup>。而缺氧细胞优先摄取缺氧外泌体<sup>[76]</sup>,因此通过缺氧外泌体作为药物载体进行治疗干预对缺血性疾病与肿瘤疾病等都具有潜在的应用前景。

基于以上特点,可以预见,在口腔疾病治疗领域,缺氧外泌体同样拥有巨大的潜力。尤其在牙周疾病方面,缺氧环境在牙周组织稳态的失调与继之发生的组织损伤中发挥重要作用。牙周膜作为连接牙体与牙槽骨的狭窄结缔组织纤维,当相关慢性炎症存在时,容易在其组织内产生缺氧性环境,致牙齿松动等不良临床表现的发生。存在牙周咬合创伤的情况下,牙周膜中的血管会暂时性呈现闭锁状态,且出现血栓形成倾向,缺血缺氧的组织环境将严重影响牙周组织的健康。另外,正畸治疗期间,在正畸力的作用下,压缩侧血流减少,导致局部缺血,会影响牙周和骨骼的重塑过程<sup>[77]</sup>。研究缺氧外泌体在牙周组织中的应用,可以帮助推进基于缺氧的牙周病治疗策略,进一步保护牙周膜干细胞功能、促进牙周组织重塑。

然而,目前大部分研究都着手于缺氧外泌体中的miRNA与靶细胞之间的联系,许多研究都发现了缺氧外泌体与常氧外泌体中具有差异并起重要作用的分子,但没有研究这些分子是否直接具有和使用缺氧外泌体时所显示的相同的治疗作用或是否具有潜在的不良反应。因此,需要更系统的研究,进一步揭示缺氧外泌体在疾病发生、发展中的分子机制。此外,为加快临床应用,需要更深入的体内研究,了解缺氧外泌体应用的有效性和安全性。总之,缺氧外泌体作为一种新兴疾病研究手段,其独特的生理效应会为疾病治疗方案的优化提供新思路。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

### 参 考 文 献

- [1] Zhang W, Zhou X, Yao Q, et al. HIF-1-mediated production of exosomes during hypoxia is protective in renal tubular cells[J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2017, 313(4): F906-F913. DOI: 10.1152/ajprenal.00178.2017.
- [2] Semenza GL. Defining the role of hypoxia-inducible factor 1 in cancer biology and therapeutics[J]. *Oncogene*, 2010, 29(5): 625-634. DOI:10.1038/ncr.2009.441.
- [3] Wang Y, Yin K, Tian J, et al. Granulocytic Myeloid-Derived Suppressor Cells Promote the Stemness of Colorectal Cancer Cells through Exosomal S100A9[J]. *Adv Sci (Weinh)*, 2019, 6(18): 1901278. DOI:10.1002/advs.201901278.
- [4] Liu W, Li L, Rong Y, et al. Hypoxic mesenchymal stem cell-derived exosomes promote bone fracture healing by the transfer of miR-126[J]. *Acta Biomater*, 2020, 103: 196-212. DOI: 10.1016/j.actbio.2019.12.020.
- [5] Liu W, Rong Y, Wang J, et al. Exosome-shuttled miR-216a-5p from hypoxic preconditioned mesenchymal stem cells repair traumatic spinal cord injury by shifting microglial M1/M2 polarization[J]. *J Neuroinflammation*, 2020, 17(1): 47. DOI: 10.1186/s12974-020-1726-7.
- [6] Luo W, Hu H, Chang R, et al. Pyruvate kinase M2 is a PHD3-stimulated coactivator for hypoxia-inducible factor 1[J]. *Cell*, 2011, 145(5): 732-744. DOI: 10.1016/j.cell.2011.03.054.
- [7] Wei Y, Wang D, Jin F, et al. Pyruvate kinase type M2 promotes tumour cell exosome release via phosphorylating synaptosome-associated protein 23[J]. *Nat Commun*, 2017, 8: 14041. DOI: 10.1038/ncomms14041.
- [8] Ruan XF, Ju CW, Shen Y, et al. Suxiao Jiuxin pill promotes exosome secretion from mouse cardiac mesenchymal stem cells in vitro[J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2018, 39(4): 569-578. DOI: 10.1038/aps.2018.19.
- [9] Dorayappan K, Wanner R, Wallbillich JJ, et al. Hypoxia-induced exosomes contribute to a more aggressive and chemoresistant ovarian cancer phenotype: a novel mechanism linking STAT3/Rab proteins[J]. *Oncogene*, 2018, 37(28): 3806-3821. DOI: 10.1038/s41388-018-0189-0.
- [10] Zhu J, Lu K, Zhang N, et al. Myocardial reparative functions of exosomes from mesenchymal stem cells are enhanced by hypoxia treatment of the cells via transferring microRNA-210 in an nSMase2-dependent way[J]. *Artif Cells Nanomed Biotechnol*, 2018, 46(8): 1659-1670. DOI: 10.1080/21691401.2017.1388249.
- [11] Chen J, Chen J, Cheng Y, et al. Mesenchymal stem cell-derived exosomes protect beta cells against hypoxia-induced apoptosis via miR-21 by alleviating ER stress and inhibiting p38 MAPK phosphorylation[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2020, 11(1): 97. DOI: 10.1186/s13287-020-01610-0.
- [12] Zhu LP, Tian T, Wang JY, et al. Hypoxia-elicited mesenchymal stem cell-derived exosomes facilitates cardiac repair through miR-125b-mediated prevention of cell death in myocardial infarction[J]. *Theranostics*, 2018, 8(22): 6163-6177. DOI: 10.7150/thno.28021.
- [13] Sun XH, Wang X, Zhang Y, et al. Exosomes of bone-marrow stromal cells inhibit cardiomyocyte apoptosis under ischemic and hypoxic conditions via miR-486-5p targeting the PTEN/PI3K/AKT signaling pathway[J]. *Thromb Res*, 2019, 177: 23-32. DOI: 10.1016/j.thromres.2019.02.002.
- [14] Wang Y, Zhao R, Liu D, et al. Exosomes Derived from miR-214-Enriched Bone Marrow-Derived Mesenchymal Stem Cells Regulate Oxidative Damage in Cardiac Stem Cells by Targeting CaMKII[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2018, 2018: 4971261. DOI: 10.1155/2018/4971261.
- [15] Zou L, Ma X, Wu B, et al. Protective effect of bone marrow mesenchymal stem cell-derived exosomes on cardiomyoblast hypoxia-reperfusion injury through the miR-149/let-7c/Faslg axis[J]. *Free Radic Res*, 2020, 54(10): 722-731. DOI: 10.1080/10715762.2020.1837793.
- [16] Luo Q, Guo D, Liu G, et al. Exosomes from MiR-126-Overexpressing Adscs Are Therapeutic in Relieving Acute Myocardial Ischaemic Injury[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2017, 44(6): 2105-2116. DOI: 10.1159/000485949.
- [17] Gray WD, French KM, Ghosh-Choudhary S, et al. Identification of therapeutic covariant microRNA clusters in hypoxia-treated cardiac progenitor cell exosomes using systems biology[J]. *Circ Res*, 2015, 116(2): 255-263. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.116.304360.
- [18] Agarwal U, George A, Bhutani S, et al. Experimental, Systems, and Computational Approaches to Understanding the MicroRNA-Mediated Reparative Potential of Cardiac Progenitor Cell-Derived Exosomes From Pediatric Patients[J]. *Circ Res*, 2017, 120(4): 701-712. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.116.309935.
- [19] Yang Y, Li Y, Chen X, et al. Exosomal transfer of miR-30a between cardiomyocytes regulates autophagy after hypoxia[J]. *J Mol Med (Berl)*, 2016, 94(6): 711-724. DOI: 10.1007/s00109-016-1387-2.
- [20] Zhang J, Ma J, Long K, et al. Overexpression of Exosomal Cardioprotective miRNAs Mitigates Hypoxia-Induced H9c2 Cells Apoptosis[J]. *Int J Mol Sci*, 2017, 18(4): 711. DOI: 10.3390/ijms18040711.
- [21] Wang Y, Zhao R, Liu W, et al. Exosomal circHIPK3 Released from Hypoxia-Pretreated Cardiomyocytes Regulates Oxidative Damage in Cardiac Microvascular Endothelial Cells via the miR-29a/IGF-1 Pathway[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2019, 2019: 7954657. DOI: 10.1155/2019/7954657.
- [22] Li ZL, Lv LL, Tang TT, et al. HIF-1 $\alpha$  inducing exosomal microRNA-23a expression mediates the cross-talk between tubular epithelial cells and macrophages in tubulointerstitial inflammation[J]. *Kidney Int*, 2019, 95(2): 388-404. DOI: 10.1016/j.kint.2018.09.013.
- [23] Yu W, Zeng H, Chen J, et al. miR-20a-5p is enriched in hypoxia-

- derived tubular exosomes and protects against acute tubular injury [J]. *Clin Sci (Lond)*, 2020, 134(16):2223-2234. DOI: 10.1042/CS20200288.
- [24] de Jong OG, van Balkom BWM, Gremmels H, et al. Exosomes from hypoxic endothelial cells have increased collagen crosslinking activity through up-regulation of lysyl oxidase-like 2 [J]. *J Cell Mol Med*, 2016, 20(2):342-350. DOI: 10.1111/jcmm.12730.
- [25] Zhang M, Xin W, Ma C, et al. Exosomal 15-L-O2 mediates hypoxia-induced pulmonary artery hypertension in vivo and in vitro [J]. *Cell Death Dis*, 2018, 9(10):1022. DOI: 10.1038/s41419-018-1073-0.
- [26] Loyer X, Zlatanova I, Devue C, et al. Intra-Cardiac Release of Extracellular Vesicles Shapes Inflammation Following Myocardial Infarction [J]. *Circ Res*, 2018, 123(1):100-106. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.117.311326.
- [27] Li H, Liao Y, Gao L, et al. Coronary Serum Exosomes Derived from Patients with Myocardial Ischemia Regulate Angiogenesis through the miR-939-mediated Nitric Oxide Signaling Pathway [J]. *Theranostics*, 2018, 8(8):2079-2093. DOI: 10.7150/thno.21895.
- [28] Foglio E, Puddighinu G, Fasanaro P, et al. Exosomal clusterin, identified in the pericardial fluid, improves myocardial performance following MI through epicardial activation, enhanced arteriogenesis and reduced apoptosis [J]. *Int J Cardiol*, 2015, 197:333-347. DOI: 10.1016/j.ijcard.2015.06.008.
- [29] Dominguez JH, Liu Y, Gao H, et al. Renal Tubular Cell-Derived Extracellular Vesicles Accelerate the Recovery of Established Renal Ischemia Reperfusion Injury [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2017, 28(12):3533-3544. DOI: 10.1681/ASN.201612.1278.
- [30] Guo H, Zhao L, Wang B, et al. Remote limb ischemic postconditioning protects against cerebral ischemia-reperfusion injury by activating AMPK-dependent autophagy [J]. *Brain Res Bull*, 2018, 139:105-113. DOI: 10.1016/j.brainresbull.2018.02.013.
- [31] Minghua W, Zhijian G, Chahua H, et al. Plasma exosomes induced by remote ischaemic preconditioning attenuate myocardial ischaemia/reperfusion injury by transferring miR-24 [J]. *Cell Death Dis*, 2018, 9(3):320. DOI: 10.1038/s41419-018-0274-x.
- [32] Ueno K, Samura M, Nakamura T, et al. Increased plasma VEGF levels following ischemic preconditioning are associated with downregulation of miRNA-762 and miR-3072-5p [J]. *Sci Rep*, 2016, 6:36758. DOI: 10.1038/srep36758.
- [33] Jia P, Wu X, Dai Y, et al. MicroRNA-21 Is Required for Local and Remote Ischemic Preconditioning in Multiple Organ Protection Against Sepsis [J]. *Crit Care Med*, 2017, 45(7):e703-e710. DOI: 10.1097/CCM.0000000000002363.
- [34] Pan T, Jia P, Chen N, et al. Delayed Remote Ischemic Preconditioning Confers Renoprotection against Septic Acute Kidney Injury via Exosomal miR-21 [J]. *Theranostics*, 2019, 9(2):405-423. DOI: 10.7150/thno.29832.
- [35] Yamaguchi T, Izumi Y, Nakamura Y, et al. Repeated remote ischemic conditioning attenuates left ventricular remodeling via exosome-mediated intercellular communication on chronic heart failure after myocardial infarction [J]. *Int J Cardiol*, 2015, 178:239-246. DOI: 10.1016/j.ijcard.2014.10.144.
- [36] Xiao B, Chai Y, Lv S, et al. Endothelial cell-derived exosomes protect SH-SY5Y nerve cells against ischemia/reperfusion injury [J]. *Int J Mol Med*, 2017, 40(4):1201-1209. DOI: 10.3892/ijmm.2017.3106.
- [37] Jiang Y, Xie H, Tu W, et al. Exosomes secreted by HUVECs attenuate hypoxia/reoxygenation-induced apoptosis in neural cells by suppressing miR-21-3p [J]. *Am J Transl Res*, 2018, 10(11):3529-3541.
- [38] Yuan X, Wu Q, Wang P, et al. Exosomes Derived From Pericytes Improve Microcirculation and Protect Blood-Spinal Cord Barrier After Spinal Cord Injury in Mice [J]. *Front Neurosci*, 2019, 13:319. DOI: 10.3389/fnins.2019.00319.
- [39] Luo Z, Wu F, Xue E, et al. Hypoxia preconditioning promotes bone marrow mesenchymal stem cells survival by inducing HIF-1 $\alpha$  in injured neuronal cells derived exosomes culture system [J]. *Cell Death Dis*, 2019, 10(2):134. DOI: 10.1038/s41419-019-1410-y.
- [40] Cui GH, Wu J, Mou FF, et al. Exosomes derived from hypoxia-preconditioned mesenchymal stromal cells ameliorate cognitive decline by rescuing synaptic dysfunction and regulating inflammatory responses in APP/PS1 mice [J]. *FASEB J*, 2018, 32(2):654-668. DOI: 10.1096/fj.201700600R.
- [41] Han YD, Bai Y, Yan XL, et al. Co-transplantation of exosomes derived from hypoxia-preconditioned adipose mesenchymal stem cells promotes neovascularization and graft survival in fat grafting [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 497(1):305-312. DOI: 10.1016/j.bbrc.2018.02.076.
- [42] Tan Y, Nie W, Chen C, et al. Mesenchymal stem cells alleviate hypoxia-induced oxidative stress and enhance the pro-survival pathways in porcine islets [J]. *Exp Biol Med (Maywood)*, 2019, 244(9):781-788. DOI: 10.1177/1535370219844472.
- [43] Yi L, Ju Y, He Y, et al. Intraperitoneal injection of Desferal? alleviated the age-related bone loss and senescence of bone marrow stromal cells in rats [J]. *Stem Cell Res Ther*, 2021, 12(1):45. DOI: 10.1186/s13287-020-02112-9.
- [44] Thankam FG, Chandra I, Diaz C, et al. Matrix regeneration proteins in the hypoxia-triggered exosomes of shoulder tenocytes and adipose-derived mesenchymal stem cells [J]. *Mol Cell Biochem*, 2020, 465(1-2):75-87. DOI: 10.1007/s11010-019-03669-7.
- [45] Chang CL, Sung PH, Chen KH, et al. Adipose-derived mesenchymal stem cell-derived exosomes alleviate overwhelming systemic inflammatory reaction and organ damage and improve outcome in rat sepsis syndrome [J]. *Am J Transl Res*, 2018, 10

- (4):1053-1070.
- [46] Qian M, Chen Z, Guo X, et al. Exosomes derived from hypoxic glioma deliver miR-1246 and miR-10b-5p to normoxic glioma cells to promote migration and invasion [J]. *Lab Invest*, 2021. DOI:10.1038/s41374-020-00522-0.
- [47] Panigrahi GK, Praharaj PP, Peak TC, et al. Hypoxia-induced exosome secretion promotes survival of African-American and Caucasian prostate cancer cells [J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1):3853. DOI:10.1038/s41598-018-22068-4.
- [48] Patton MC, Zubair H, Khan MA, et al. Hypoxia alters the release and size distribution of extracellular vesicles in pancreatic cancer cells to support their adaptive survival [J]. *J Cell Biochem*, 2020, 121(1):828-839. DOI:10.1002/jcb.29328.
- [49] Yue X, Lan F, Xia T. Hypoxic Glioma Cell-Secreted Exosomal miR-301a Activates Wnt/beta-catenin Signaling and Promotes Radiation Resistance by Targeting TCEAL7 [J]. *Mol Ther*, 2019, 27(11):1939-1949. DOI:10.1016/j.ymthe.2019.07.011.
- [50] Qian M, Wang S, Guo X, et al. Hypoxic glioma-derived exosomes deliver microRNA-1246 to induce M2 macrophage polarization by targeting TERF2IP via the STAT3 and NF-kappaB pathways [J]. *Oncogene*, 2020, 39(2):428-442. DOI:10.1038/s41388-019-0996-y.
- [51] Li J, Liao T, Liu H, et al. Hypoxic glioma stem cell-derived exosomes containing Linc01060 promote progression of glioma by regulating the MZF1/c-Myc/HIF-1 $\alpha$  Axis [J]. *Cancer Res*, 2020. DOI:10.1158/0008-5472.CAN-20-2270.
- [52] 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 [J]. *Oncogene*, 2017, 36(34):4929-4942. DOI:10.1038/onc.2017.105.
- [53] Hsu YL, Hung JY, Chang WA, et al. Hypoxic Lung-Cancer-Derived Extracellular Vesicle MicroRNA-103a Increases the Oncogenic Effects of Macrophages by Targeting PTEN [J]. *Mol Ther*, 2018, 26(2):568-581. DOI:10.1016/j.ymthe.2017.11.016.
- [54] Wang D, Zhao C, Xu F, et al. Cisplatin-resistant NSCLC cells induced by hypoxia transmit resistance to sensitive cells through exosomal PKM2 [J]. *Theranostics*, 2021, 11(6):2860-2875. DOI:10.7150/thno.51797.
- [55] Berchem G, Noman MZ, Bosseler M, et al. Hypoxic tumor-derived microvesicles negatively regulate NK cell function by a mechanism involving TGF-beta and miR23a transfer [J]. *Oncoimmunology*, 2016, 5(4):e1062968. DOI:10.1080/2162402X.2015.1062968.
- [56] Li L, Li C, Wang S, et al. Exosomes Derived from Hypoxic Oral Squamous Cell Carcinoma Cells Deliver miR-21 to Normoxic Cells to Elicit a Prometastatic Phenotype [J]. *Cancer Res*, 2016, 76(7):1770-1780. DOI:10.1158/0008-5472.CAN-15-1625.
- [57] Li L, Cao B, Liang X, et al. Microenvironmental oxygen pressure orchestrates an anti- and pro-tumoral  $\gamma\delta$  T cell equilibrium via tumor-derived exosomes [J]. *Oncogene*, 2019, 38(15):2830-2843. DOI:10.1038/s41388-018-0627-z.
- [58] Huang Z, Yang M, Li Y, et al. Exosomes Derived from Hypoxic Colorectal Cancer Cells Transfer Wnt4 to Normoxic Cells to Elicit a Prometastatic Phenotype [J]. *Int J Biol Sci*, 2018, 14(14):2094-2102. DOI:10.7150/ijbs.28288.
- [59] Yang H, Zhang H, Yang Y, et al. Hypoxia induced exosomal circRNA promotes metastasis of Colorectal Cancer via targeting GEF-H1/RhoA axis [J]. *Theranostics*, 2020, 10(18):8211-8226. DOI:10.7150/thno.44419.
- [60] Hu X, Mu Y, Liu J, et al. Exosomes Derived from Hypoxic Colorectal Cancer Cells Transfer miR-410-3p to Regulate Tumor Progression [J]. *J Cancer*, 2020, 11(16):4724-4735. DOI:10.7150/jca.33232.
- [61] Sruthi TV, Edatt L, Raji GR, et al. Horizontal transfer of miR-23a from hypoxic tumor cell colonies can induce angiogenesis [J]. *J Cell Physiol*, 2018, 233(4):3498-3514. DOI:10.1002/jcp.26202.
- [62] Yu Y, Min Z, Zhou Z, et al. Hypoxia-induced exosomes promote hepatocellular carcinoma proliferation and metastasis via miR-1273f transfer [J]. *Exp Cell Res*, 2019, 385(1):111649. DOI:10.1016/j.yexcr.2019.111649.
- [63] Guo Z, Wang X, Yang Y, et al. Hypoxic Tumor-Derived Exosomal Long Noncoding RNA UCA1 Promotes Angiogenesis via miR-96-5p/AMOTL2 in Pancreatic Cancer [J]. *Mol Ther Nucleic Acids*, 2020, 22:179-195. DOI:10.1016/j.omtn.2020.08.021.
- [64] Zhang X, Gao F, Zhou L, et al. UCA1 Regulates the Growth and Metastasis of Pancreatic Cancer by Sponging miR-135a [J]. *Oncol Res*, 2017, 25(9):1529-1541. DOI:10.3727/096504017X14888987683152.
- [65] Wang X, Luo G, Zhang K, et al. Hypoxic Tumor-Derived Exosomal miR-301a Mediates M2 Macrophage Polarization via PTEN/PI3Kgamma to Promote Pancreatic Cancer Metastasis [J]. *Cancer Res*, 2018, 78(16):4586-4598. DOI:10.1158/0008-5472.CAN-17-3841.
- [66] Horie K, Kawakami K, Fujita Y, et al. Exosomes expressing carbonic anhydrase 9 promote angiogenesis [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2017, 492(3):356-361. DOI:10.1016/j.bbrc.2017.08.107.
- [67] Xue M, Chen W, Xiang A, et al. Hypoxic exosomes facilitate bladder tumor growth and development through transferring long non-coding RNA-UCA1 [J]. *Mol Cancer*, 2017, 16(1):143. DOI:10.1186/s12943-017-0714-8.
- [68] Xue M, Pang H, Li X, et al. Long non-coding RNA urothelial cancer-associated 1 promotes bladder cancer cell migration and invasion by way of the hsa-miR-145-ZEB1/2-FSCN1 pathway [J]. *Cancer Sci*, 2016, 107(1):18-27. DOI:10.1111/cas.12844.
- [69] Zhou CF, Ma J, Huang L, et al. Cervical squamous cell carcinoma-secreted exosomal miR-221-3p promotes lymphangiogenesis and lymphatic metastasis by targeting VASH1 [J]. *Oncogene*, 2019, 38(8):1256-1268. DOI:10.1038/s41388-018-0511-x.

- [70] Deep G, Jain A, Kumar A, et al. Exosomes secreted by prostate cancer cells under hypoxia promote matrix metalloproteinases activity at pre-metastatic niches[J]. *Mol Carcinog*, 2020, 59(3): 323-332. DOI:10.1002/mc.23157.
- [71] Miro C, Di Cicco E, Ambrosio R, et al. Thyroid hormone induces progression and invasiveness of squamous cell carcinomas by promoting a ZEB-1/E-cadherin switch[J]. *Nat Commun*, 2019, 10(1):5410. DOI:10.1038/s41467-019-13140-2.
- [72] Zhang X, Sai B, Wang F, et al. Hypoxic BMSC-derived exosomal miRNAs promote metastasis of lung cancer cells via STAT3 - induced EMT[J]. *Mol Cancer*, 2019, 18(1):40. DOI: 10.1186/s12943-019-0959-5.
- [73] Saravanan PB, Vasu S, Yoshimatsu G, et al. Differential expression and release of exosomal miRNAs by human islets under inflammatory and hypoxic stress[J]. *Diabetologia*, 2019, 62(10):1901-1914. DOI:10.1007/s00125-019-4950-x.
- [74] Gonzalez-King H, García NA, Ontoria-Oviedo I, et al. Hypoxia Inducible Factor-1 $\alpha$  Potentiates Jagged 1-Mediated Angiogenesis by Mesenchymal Stem Cell-Derived Exosomes [J]. *Stem Cells*, 2017, 35(7):1747-1759. DOI:10.1002/stem.2618.
- [75] Patil SM, Sawant SS, Kunda NK. Exosomes as drug delivery systems: A brief overview and progress update [J]. *Eur J Pharm Biopharm*, 2020, 154: 259 - 269. DOI: 10.1016/j.ejpb.2020.07.026.
- [76] Jung KO, Jo H, Yu JH, et al. Development and MPI tracking of novel hypoxia - targeted theranostic exosomes [J]. *Biomaterials*, 2018, 177:139-148. DOI:10.1016/j.biomaterials.2018.05.048.
- [77] Ullrich N, Schröder A, Bauer M, et al. The role of HIF-1 $\alpha$  in nicotine - induced root and bone resorption during orthodontic tooth movement [J]. *Eur J Orthod*, 2020. DOI: 10.1093/ejo/cjaa057.

(收稿日期:2020-10-27)

(本文编辑:王嫚)