

外泌体在肝细胞性肝癌中的作用研究进展

刘兴晖 彭婷玮 杨 兰



〔作者简介〕 刘兴晖,医学博士,主任技师,副教授,硕士生导师。目前担任上海市浦东新区公利医院(海军军医大学附属公利医院)检验科主任。主要从事肝炎病毒致病及致癌机制方面的研究。主持各级科研项目 10 余项,发表论文 60 余篇,其中 SCI 收录 20 余篇,主编专著 1 部、参编 2 部。主要学术兼职:中华中医药学会检验医学分会青年委员、中国医促会分子诊断学分会委员、中国中西医结合学会肝脏疾病诊断专委会秘书、上海市中西医结合学会医学检验专业委员会委员、上海市中医药学会检验分会委员、浦东新区医学会检验专委会副主任委员、浦东新区重点学科(群)负责人等。担任多本期刊编委或审稿专家。

摘 要 外泌体是一类小的纳米级胞外囊泡,通过一些具有生物活性的信号分子(如蛋白质、DNA、RNA),进而发挥细胞通讯的作用。肝细胞性肝癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是原发性肝癌中最常见的一种,具有高发生率与高病死率的特点。研究发现,外泌体通过参与调节 HCC 肿瘤微环境,包括肿瘤发生、转移及血管生成、免疫调节,在 HCC 的诊治和预后评估等方面具有重要的作用。本文对外泌体在 HCC 发生、发展中的作用机制及诊疗应用方面的研究进展进行综述。

关键词 外泌体 肝细胞性肝癌 肿瘤微环境 肝癌治疗 肝癌预后

中图分类号 R4 **文献标识码** A **DOI** 10.11969/j.issn.1673-548X.2021.07.002

肝细胞性肝癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是原发性肝癌中最常见的类型,具有发生率高、病死率高的特征^[1]。HCC 起病隐匿,并且缺乏敏感、特异的早期诊断方法,故常常漏诊。其次, HCC 的高转移特性加速了疾病进展。目前针对 HCC 的治疗包括手术切除和放化疗干预(如索拉菲尼、射频消融术),前者针对早期 HCC 患者,可以适当延长患者生存期,但 HCC 肝内复发和肝外转移的发生率较高。后者针对晚期 HCC 患者,但容易诱导肝癌细胞产生耐药性。因此,两种治疗方案的预后均不乐观。为了明确 HCC 的早期诊断、监测疾病的进展、评估预后及治疗方法的疗效,发现一些敏感而特异的 HCC 标志物是很重要的。大量研究表明,外泌体表面的膜结合分子,可被受体细胞识别并广泛参与细胞间的信息传递,参与肿瘤微环境的调节,包括肿瘤发生、转移及血管生成、免疫调节等过程^[2, 3]。同时外泌体也会影响

HCC 的预后及治疗。

一、外泌体的生物学特性

活细胞可以通过分泌胞外囊泡(extracellular vesicles, EV)与邻旁细胞或远端细胞进行信息交流。EV 根据亚细胞来源分为两大类:一类是细胞质膜直接出芽形成、释放直径为 100 ~ 1000nm 的微囊泡;另一类是活细胞内多囊泡体(MVB)与细胞质膜融合后释放出一系列小囊泡,即外泌体(exosomes),其直径为 50 ~ 150nm^[4]。

细胞质膜向内凹陷,在 RAB5 和 RAB3 介导下细胞质膜向内凹陷形成早期内体,进一步发育成熟形成晚期内体,在转运所需的内体分选复合体(ESCRT)的作用下向内侧出芽,形成包裹多个腔内小泡(IVB)的多囊泡体(MVB)。当 MVB 与细胞质膜融合后,腔内囊泡释放至细胞外,形成外泌体。几乎所有细胞都能分泌外泌体。肿瘤细胞来源的外泌体(tumor-derived exosome, TDE)携带一系列信号分子,包括蛋白质(膜蛋白、黏附蛋白、转录因子等)、核酸(DNA、mRNA、非编码 RNA)和脂质(鞘磷脂、神经酰胺、胆固醇)^[5]。

外泌体的分离方法较多,目前的金标准为差速超速离心法,还有一些其他方法如微流控技术、免疫亲和层析等。外泌体的鉴定方法有电镜下观察形态、粒径分析判断其粒子大小以及蛋白质印迹法检测特异

基金项目:上海市浦东新区卫生系统领先人才培养计划项目(PWRI2018-05);上海市浦东新区卫生系统重点学科群建设项目(PWZxq2017-15)

作者单位:200135 上海市浦东新区公利医院检验科(刘兴晖、杨兰);200135 宁夏医科大学上海市浦东新区公利医院研究生培养基地(彭婷玮)

通讯作者:刘兴晖,电子信箱:syliuxh@163.com

性蛋白的表达^[6]。

二、外泌体与肝癌

1. 外泌体与肝癌的诊断:近年来,由于外泌体携带的生物分子与来源细胞具有一致性,TDE 作为肿瘤分子标志物在肿瘤诊治中的应用得到了越来越多的关注。研究发现,与健康对照组比较,HCC 患者血清中有 19 种 miRNAs 显著增加。其中,miR-210 分泌由 HCC 细胞来源的外泌体介导,因此,miR-210 也可作为 HCC 诊断的生物学标志物之一^[7]。Pu 等^[8]研究发现,HCC 患者血清中外泌体 has-miR-21-5p 和 has-miR-144-3p 表达水平显著高于慢性乙型肝炎(CHB)患者,ROC 曲线显示,两者在 HCC 诊断上的表现优于甲胎蛋白,敏感度和特异性更高,作为肿瘤分子标志物具有良好的临床应用前景。

2. 外泌体与肝癌的发生和发展:肿瘤微环境是由肿瘤细胞、血管内皮细胞、成纤维细胞、抗原递呈细胞以及细胞外基质、生长因子、炎性细胞因子等组成。不同细胞外泌体通过携带不同信号分子发挥细胞通讯作用,参与肝癌的发生、转移、血管生成以及免疫抑制型微环境构建。

(1) 肿瘤发生:当癌基因表达过度活化或抑癌基因表达过度受抑时,细胞表现为增殖能力的过度增强和凋亡能力的过度削弱,进而导致肿瘤的发生。PTEN 是一种抑癌基因,负向调控肿瘤的发生。有研究表明,肝癌细胞外泌体 miR-155 抑制邻旁或远端受体 HCC 细胞中 PTEN 表达,活化 PI₃K/Akt 信号通路以促进 HCC 细胞的增殖^[9]。Zhang 等^[10]研究发现,HCC 患者血清中脂肪细胞来源外泌体 circDB 表达水平上调,通过与 HCC 细胞中 miR-34a 结合,上调去泛素相关分子 USP7 的表达,通过减少细胞增殖过程中的 DNA 损伤来促进肿瘤发生。Mao 等^[11]在研究中提到了癌症相关成纤维细胞(cancer-associated fibroblasts, CAFs)调节 HCC 细胞增殖。转移性肝癌细胞来源 EV 中的 NID1 通过激活肺脏中的 CAFs,促进其旁分泌肿瘤坏死因子受体 1(TNFR1),进而诱导 HCC 细胞克隆的形成,表现出更加活跃的增殖能力。

(2) 肿瘤转移:肿瘤转移是 HCC 发展过程中的关键环节,常常提示疾病朝着不良方向进展。外泌体中的信号分子通过细胞间信号交流介导上皮间质转化、血管渗漏等生物学过程,促进 HCC 的侵袭与肝外转移^[3]。

上皮-间质转化(epithelial-mesenchymale tran-

sition, EMT)是指肿瘤细胞在 CAFs 的影响下从上皮表型转化为间质表型,功能上体现为低增殖活性、高侵袭与迁移能力,形态上由上皮细胞的立方形、圆形转变为间质细胞的梭形、星形,细胞分子上体现为失去上皮表型标志(如钙黏蛋白),获得间质表型标志(如 α -SMA)^[3]。Zhu 等^[12]研究发现,HCC 细胞外泌体中 circ-0004277 表达水平上调,通过细胞通讯作用,提高癌旁正常肝细胞中 circ-0004277 的表达水平,进而诱导细胞发生 EMT,促进 HCC 的肝内转移。Fang 等^[13]研究发现,肝癌细胞外泌体中高表达的 miR-1247-3p 进入肝成纤维细胞后,通过结合胞内 B4GALT3 抑制其表达,促进 NF- κ B 磷酸化,成纤维细胞产生更多的 IL-1 β 、IL-6 和 IL-8 等促炎性细胞因子,进而被活化 CAFs,促进肿瘤细胞发生 EMT,侵袭力增加。

肿瘤细胞穿透血管内皮屏障在肿瘤转移中发挥关键作用。当血管通透性增强时,肝脏中的 HCC 细胞可穿过血管壁,进入血液循环中,随血流转移至全身各处,在适宜的靶器官中定植,形成肝外转移灶。血管内皮细胞能够摄取 HCC 细胞外泌体 miR-103,通过抑制 VE-钙黏蛋白、p120 连接素和闭锁连接蛋白 1 合成,削弱内皮细胞间黏附连接与紧密连接的完整性,增加血管通透性,促进 HCC 细胞血管渗漏与侵袭转移^[14]。除了削弱血管间的黏附作用以外,促进血管内皮细胞与 HCC 细胞间的黏附也能够介导 HCC 的高转移特性。细胞间黏附分子-1(intercellular cell adhesion molecule-1, ICAM-1)是一种能够显著增强内皮细胞与肿瘤细胞黏附作用的分子,CD90⁺Huh7 细胞外泌体 lncRNA H19 上调内皮细胞 ICAM-1 表达,使得内皮细胞黏附更多 CD90⁺Huh7 细胞,以利于 HCC 细胞穿过内皮侵袭转移^[15]。

(3) 血管生成:新血管生成不仅能为肿瘤提供大量的氧气和营养,促进肿瘤的生长,还作为转移细胞进入体循环的入口点,介导肿瘤侵袭转移能力的增强。Lin 等^[7]研究发现 HCC 患者微血管密度与血浆 miR-210 表达水平具有明显相关性。研究发现,当肝癌细胞来源的外泌体 miR-210 与单层内皮细胞共孵育后,HCC 细胞来源外泌体 miR-210 通过下调 SMAD4 和 STAT6 蛋白表达来促进毛细血管生成。肿瘤干细胞样 CD90⁺肝癌细胞通过外泌体高水平表达 lncRNA H19,显著增加促血管生成因子 VEGF 和相应受体 VEGF-R1 的释放,也能上调促血管生成作用^[15]。Shao 等^[16]研究发现,HCC 细胞来源 EVs 的

miR-584-5p 通过结合磷酸烯醇式丙酮酸激酶 1 (PCK1) 抑制其活性, 诱导核因子 E2 相关因子 2 (Nrf2) 活化, 上调血管内皮生长因子 A (VEGFA) 表达, 促进内皮细胞增殖, 增强血管生成能力。Wang 等^[17]认为, HCC 细胞来源的外泌体中 miR-1290 富集, 当其被血管内皮细胞内化后, 能够抑制胞内 SMEK1 的表达, 削弱其对 VEGFR2 磷酸化的抑制作用, 从而诱导 VEGFR2 的活化和血管生成。除了非编码 RNA 介导血管生成外, 蛋白质分子也可参与其中。血管紧张素转运蛋白 (vasorin, VASN) 是一种 I 型跨膜蛋白, 在肿瘤发生和血管生成中发挥重要作用。Huang 等^[18]研究发现, HepG2 细胞外泌体高表达 VASN, 被受体 HUVEC 内化摄取后, 内皮细胞的增殖能力增强, 大量的内皮细胞聚集有利于血管生成。

(4) 免疫调节: 正常情况下, 机体能够通过抗肿瘤免疫来清除体内癌细胞, 但在肿瘤进展过程中, 肿瘤免疫微环境由激活转为抑制, 肿瘤细胞逃避机体的免疫破坏作用。巨噬细胞作为肿瘤免疫微环境中一类重要的免疫细胞, 通过其表面配体与 T 细胞表面受体相互作用, 介导肿瘤免疫抑制型微环境的形成。Tan 等^[19]研究发现, 肝癌细胞外泌体中表达 LOX1 蛋白质分子, 并且能被骨髓来源的巨噬细胞 (BMDM) 内化摄取, 在 BMDM 成熟早期促进其向 CD11b⁺ F4/80⁺ 肿瘤相关巨噬细胞群 (TAM) 分化, 铜依赖的 H₂O₂ 产生通过激活 IFN 相关的信号通路, 诱导 STAT3 和 STAT1 活化, 增强 TAM 表面 PD-L1 分子的表达, 巨噬细胞可通过 PD-L1 和 CD86 等细胞表面抗原与细胞毒性 T 细胞相互作用, 抑制 T 细胞的活化, 并促进 TIM3 阳性的 CD4⁺ 和 CD8⁺ T 细胞的耗竭, 导致肿瘤免疫逃逸。根据活化方式不同巨噬细胞分为两种类型, 一类是具有抗炎抗肿瘤活性的 M1 型, 另一类是诱导机体产生免疫抑制, 肿瘤细胞逃避免疫系统的杀伤破坏作用得以生存的 M2 型^[20]。有研究表明, 肝癌细胞来源外泌体中高表达 lncRNA TUC339, 被巨噬细胞内化摄取后, 降低巨噬细胞产生 IL-4 等促炎性细胞因子的能力, 吞噬作用减弱, 介导巨噬细胞 M2 极化, 促进 HCC 进展^[21]。

3. 外泌体与肝癌预后: HCC 早期患者可进行肝切除术治疗, 外泌体一些信号分子的表达与术后复发时间、总生存期长短、转移潜能等密切相关, 可作为评估预后的指标。Wang 等^[22]跟踪随访 183 例行肝细胞癌切除术后的丙型肝炎病毒相关肝细胞性肝癌患者 10 年发现, 这些患者血清外泌体中的分化拮抗非

蛋白质编码 RNA (differentiation antagonizing non-protein coding RNA, DANCR) 的表达水平与 HCC 复发呈正相关, 并且成为 HCC 复发和病死率相关的最具预测性的因素。另外一项研究发现, HCC 患者外泌体 miR-103 表达与 HCC 的转移潜能和复发风险呈正相关, 外泌体中 miR-103 水平高表达提示预后较差^[14]。Jung 等^[23]检测并分析 14 例 HCC 患者 (其中 8 例患者 1 年内没有发生肿瘤转移, 6 例患者发生肿瘤转移) 血清外泌体的 miRNA 表达谱后发现, 有 61 种 miRNA 在转移性 HCC 患者血清外泌体中表达显著上调, 提示 HCC 的不良预后。

4. 外泌体与肝癌治疗

(1) 免疫治疗: 树突状细胞 (DC) 因其具有极强的抗原递呈作用和激活抗肿瘤免疫的能力而越来越广泛地应用于 HCC 免疫疗法中, 其诱导的肿瘤免疫强度很大程度上取决于肿瘤抗原的含量及特性, 外泌体因其具有选择性富集来源细胞胞内成分的作用, 故与肿瘤细胞碎片比较, 肿瘤来源外泌体 (TDE) 作为抗原诱导 DC 活化的能力和肿瘤免疫强度更强。研究表明, HCC 细胞衍生的外泌体中特征性肝癌抗原 AFP 和分子伴侣蛋白 Hsp70 显著增加, 在体外能够被 DC 细胞内化摄取并促进 DC 细胞的成熟与活化, 进一步放大 TDE 引发的免疫反应。同时, 将 TDE 活化的 DC 细胞注入小鼠血清中发现, CD3⁺ CD8⁺ 细胞毒性 T 细胞显著增多, CD25⁺ FoxP3⁺ CD4⁺ 调节性 T 细胞显著减少, 产生免疫抑制性因子 IL-10、TGF- β 浓度显著降低, 免疫活化性因子 IFN- γ 浓度显著升高, 肿瘤免疫微环境得到了显著改善, 由免疫抑制转变为免疫活化, 为抗肿瘤免疫效应提供有利的环境条件^[24]。

(2) 作为药物运送载体: 外泌体因其具有低免疫原性、低毒性、可进行人工修饰, 并且能够自由穿过生物屏障的特点, 是非常理想的药物输送载体。外泌体既可以包裹 HCC 化疗药物, 通过外层脂质膜保护作用使其不容易被降解, 延长其在机体内作用时间, 也可以包裹提高 HCC 细胞对化疗药物敏感度的 miRNA 等, 利于化疗药物在机体内发挥抑瘤作用。Zhang 等^[25]将阿霉素或索拉菲尼装载至红细胞来源的 EVs 中, 该载药 EVs 可明显抑制小鼠原位肝癌细胞的生长, 并且其对肝癌的抑制作用强于传统化疗药物给药方式及剂量所诱导的肝癌抑制作用。miR-122 表达下调可激活 IGF-1R 进而活化 RAS/RAF/ERK 信号转导途径, 介导 HCC 细胞对索拉菲尼耐药性的形成, 过表达 miR-122 时可使得 HCC 细胞对索拉菲尼敏

感而诱导细胞凋亡^[26]。Lou 等^[27] 在研究中用编码 miR-122 的质粒转染脂肪间充质干细胞 (AMSC) 后,产生的外泌体可通过分泌 miR-122 增加 HCC 细胞对索拉菲尼的敏感度。此外,外泌体还能够通过包裹抑制肿瘤细胞生长和侵袭的 miRNA,使其转移到 HCC 细胞后逆转其恶性表型。人肝成纤维细胞 miR-335-5p 表达上调可抑制邻旁 HCC 细胞增殖,进而抑制肿瘤生成,CAFs 外泌体分泌的 miR-320a 可作为一种抗肿瘤 miRNA,与其下游靶点 PBX3 结合,抑制肝癌细胞的增殖、迁移^[28,29]。因此,选择合适的外泌体装载这些 miRNA,为 HCC 的靶向治疗提供了新的途径。

三、展 望

综上所述,不同细胞来源的外泌体携带不同的信号分子,通过靶向不同的受体或介导不同的信号转导通路参与 HCC 的发生、发展、转移和复发等,包括肿瘤发生、转移及血管生成和免疫调节,因此,通过对患者体液中外泌体蛋白质、非编码 RNA 等分子的检测和分析能够为癌症的早期诊断、预后评估和治疗方法的改善提供一定的参考和依据。但由于目前的外泌体分离方法无法获得完全纯化的外泌体,所以限制了外泌体作为 HCC 分子标志物的临床应用。今后应进一步研究外泌体的特性,以利于将外泌体与大小相近的凋亡小体和微囊泡区分开来。此外,目前外泌体携带信号分子通过细胞通讯介导 HCC 发生、发展的机制已经得到了充分研究,但外泌体的生成过程同样具有致瘤作用,因此,今后应致力于研究外泌体的生成在 HCC 的发生、发展中发挥的作用,使得 HCC 诊断的分子标志物与治疗途径更多样。

参考文献

- Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, *et al.* Global cancer statistics 2018; GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. *CA Cancer J Clin*, 2018, 68(6): 394-424
- Tkach M, Théry C. Communication by extracellular vesicles: where we are and where we need to go [J]. *Cell*, 2016, 164(6): 1226-1232
- Steinbichler TB, Dudás J, Riechelmann H, *et al.* The role of exosomes in cancer metastasis[J]. *Semin Cancer Biol*, 2017, 2(6): 170-181
- Yáñez-Mó M, Siljander PR, Andreu Z, *et al.* Biological properties of extracellular vesicles and their physiological functions [J]. *J Extracell Vesicles*, 2015, 4: 27066
- Möller A, Lobb RJ. The evolving translational potential of small extracellular vesicles in cancer[J]. *Nat Rev Cancer*, 2020, 20(12): 697-709
- Szabo G, Momen-Heravi F. Extracellular vesicles in liver disease

and potential as biomarkers and therapeutic targets[J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2017, 14(8): 455-466

- Lin XJ, Fang JH, Yang XJ, *et al.* Hepatocellular carcinoma cell-secreted exosomal microRNA-210 promotes angiogenesis in vitro and in vivo [J]. *Mol Therapy - Nucleic Acids*, 2018, 11: 243-252
- Pu CW, Huang H, Wang ZD, *et al.* Extracellular vesicle-associated mir-21 and mir-144 are markedly elevated in serum of patients with hepatocellular carcinoma[J]. *Front Physiol*, 2018, 9: 930
- Sun JF, Zhang D, Gao CJ, *et al.* Exosome-mediated miR-155 transfer contributes to hepatocellular carcinoma cell proliferation by targeting PTEN[J]. *Med Sci Monit Basic Res*, 2019, 25: 218-228
- Zhang HY, Deng T, Ge SH, *et al.* Exosome circRNA secreted from adipocytes promotes the growth of hepatocellular carcinoma by targeting deubiquitination-related USP7 [J]. *Oncogene*, 2019, 38(15): 2844-2859
- Mao XW, Tey SK, Yeung CLS, *et al.* Nidogen 1-enriched extracellular vesicles facilitate extrahepatic metastasis of liver cancer by activating pulmonary lung fibroblasts to secrete tumor necrosis factor receptor 1[J]. *Adv Sci*, 2020, 7(21): 2002157
- Zhu CR, Su Y, Liu L, *et al.* Circular RNA hsa_circ_0004277 stimulates malignant phenotype of hepatocellular carcinoma and epithelial-mesenchymal transition of peripheral cells[J]. *Front Cell Dev Biol*, 2020, 8: 585565
- Fang T, Lv HW, Lv GS, *et al.* Tumor-derived exosomal miR-1247-3p induces cancer-associated fibroblast activation to foster lung metastasis of liver cancer[J]. *Nat Commun*, 2018, 9(1): 191
- Fang JH, Zhang ZJ, Shang LR, *et al.* Hepatoma cell-secreted exosomal microRNA-103 increases vascular permeability and promotes metastasis by targeting junction proteins [J]. *Hepatology*, 2018, 68(4): 1459-1475
- Conigliaro A, Costa V, Lo Dico A, *et al.* CD90⁺ liver cancer cells modulate endothelial cell phenotype through the release of exosomes containing H19 lncRNA [J]. *Mol Cancer*, 2015, 14: 155
- Shao ZG, Pan Q, Zhang YJ. Hepatocellular carcinoma cell-derived extracellular vesicles encapsulated microRNA-584-5p facilitates angiogenesis through PCK1-mediated nuclear factor E2-related factor 2 signaling pathway [J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2020, 125: E105789
- Wang Q, Wang GW, Niu LJ, *et al.* Exosomal MiR-1290 promotes angiogenesis of hepatocellular carcinoma via targeting SMEK1 [J]. *J Oncol*, 2021, 1: 6617700
- Huang AX, Dong J, Li SH, *et al.* Exosomal transfer of vasorin expressed in hepatocellular carcinoma cells promotes migration of human umbilical vein endothelial cells[J]. *Int J Biol Sci*, 2015, 11(8): 961-969
- Tan HY, Wang N, Zhang C, *et al.* LOXL4 fosters an immunosuppressive microenvironment during hepatocarcinogenesis[J]. *Hepatology*, 2020, 10: E31600

568 – 579

- 14 Al – Geffari M, Ahmad NA, Al – Sharqawi AH, *et al.* Risk factors for thyroid dysfunction among type 2 diabetic patients in a highly diabetes mellitus prevalent society[J]. *Int J Endocrinol*, 2013, 2013: 417920
- 15 Subekti I, Pramono LA, Dewiasty E, *et al.* Thyroid dysfunction in type 2 diabetes mellitus patients[J]. *Acta Med Indones*, 2018, 49(4): 314 – 323
- 16 单忠艳, 滕卫平. 我国甲状腺疾病的防治现状、对策及挑战[J]. *诊断学理论与实践*, 2020, 19(4): 329 – 333
- 17 Floriani C, Gencer B, Collet TH, *et al.* Subclinical thyroid dysfunction and cardiovascular diseases: 2016 update [J]. *Eur Heart J*, 2018, 39(7): 503 – 507
- 18 Sotak S, Felsoci M, Lazurova I. Type 2 diabetes mellitus and thyroid disease: a two – sided analysis[J]. *Bratisl Lek Listy*, 2018, 119(6): 361 – 365
- 19 吴景程, 李晓华, 彭永德, 等. 2 型糖尿病患者中亚临床甲状腺功能减退症与糖尿病血管并发症关系的研究[J]. *中华内分泌代谢杂志*, 2010, 26(4): 304 – 306
- 20 Biondi B, Kahaly GJ, Robertson RP. Thyroid dysfunction and diabetes mellitus: two closely associated disorders[J]. *Endocr Rev*, 2019, 40(3): 789 – 824
- 21 Elgazar EH, Esheba NE, Shalaby SA, *et al.* Thyroid dysfunction prevalence and relation to glycemic control in patients with type 2 dia-

- betes mellitus[J]. *Diabetes Metab Syndr*, 2019, 13(4): 2513 – 2517
- 22 Jun JE, Jin SM, Jee JH, *et al.* TSH increment and the risk of incident type 2 diabetes mellitus in euthyroid subjects[J]. *Endocrine*, 2017, 55(3): 944 – 953
- 23 Zhang T, Shi J, Peng Y, *et al.* Sex – influenced association between free triiodothyronine levels and poor glycemic control in euthyroid patients with type 2 diabetes mellitus[J]. *J Diabetes Complicat*, 2020, 34(11): 107701
- 24 Chen Y, Jia T, Yan X, *et al.* Blood glucose fluctuations in patients with coronary heart disease and diabetes mellitus correlates with heart rate variability: a retrospective analysis of 210 cases[J]. *Niger J Clin Pract*, 2020, 23(9): 1194 – 1200
- 25 Chen HF, Ho CA, Li CY. Risk of heart failure in a population with type 2 diabetes versus a population without diabetes with and without coronary heart disease[J]. *Diabetes Obes Metab*, 2019, 21(1): 112 – 119
- 26 Somwaru LL, Arnold AM, Neha J, *et al.* High frequency of and factors associated with thyroid hormone over – replacement and under – replacement in men and women aged 65 and over[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2009, 94(4): 1342 – 1345

(收稿日期: 2021 – 02 – 10)

(修回日期: 2021 – 02 – 21)

(上接第 9 页)

- 20 Cooks T, Pateras IS, Jenkins LM, *et al.* Mutant p53 cancers reprogram macrophages to tumor supporting macrophages via exosomal miR – 1246[J]. *Nat Commun*, 2018, 9(1): 771
- 21 Li X, Lei Y, Wu M, *et al.* Regulation of macrophage activation and polarization by HCC – derived exosomal incRNA TUC339[J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(10): 2958
- 22 Wang SC, Li CY, Chang WT, *et al.* Exosome – derived differentiation antagonizing non – protein coding RNA with risk of hepatitis C virus – related hepatocellular carcinoma recurrence [J]. *Liver Int*, 2020, 12: E14772
- 23 Eun JW, Seo CW, Baek GO, *et al.* Circulating exosomal microRNA – 1307 – 5p as a predictor for metastasis in patients with hepatocellular carcinoma [J]. *Cancers*, 2020, 12(12): 3819
- 24 Rao Q, Zuo BF, Lu Z, *et al.* Tumor – derived exosomes elicit tumor suppression in murine hepatocellular carcinoma models and humans in vitro [J]. *Hepatology*, 2016, 64(2): 456 – 472
- 25 Zhang GS, Huang XF, Xiu HQ, *et al.* Extracellular vesicles: natural liv-

er – accumulating drug delivery vehicles for the treatment of liver diseases[J]. *Journal of Extracellular Vesicles*, 2020, 10(2): E12030

- 26 Xu YM, Huang J, Ma LN, *et al.* MicroRNA – 122 confers sorafenib resistance to hepatocellular carcinoma cells by targeting IGF – 1R to regulate RAS/RAF/ERK signaling pathways[J]. *Cancer Lett*, 2016, 371(2): 171 – 181
- 27 Lou GH, Song XL, Yang F, *et al.* Exosomes derived from miR – 122 – modified adipose tissue – derived MSCs increase chemosensitivity of hepatocellular carcinoma[J]. *J Hematol Oncol*, 2015, 8(1): 122
- 28 Wang F, Li L, Piontek K, *et al.* Exosome miR – 335 as a novel therapeutic strategy in hepatocellular carcinoma [J]. *Hepatology*, 2018, 67(3): 940 – 954
- 29 Zhang ZC, Li X, Sun W, *et al.* Loss of exosomal miR – 320a from cancer – associated fibroblasts contributes to HCC proliferation and metastasis[J]. *Cancer Lett*, 2017, 397: 33 – 42

(收稿日期: 2021 – 01 – 20)

(修回日期: 2021 – 02 – 25)