

胶质母细胞瘤外泌体的作用机制研究进展

黎娜¹, 罗丽¹, 杨雅婷¹, 刘兆梅¹, 邱小燕², 王明玉³, 王伟¹, 肖雄^{1*}

1 西南大学动物医学院, 重庆 400715

2 西南大学动物科学技术学院, 重庆 400715

3 重庆市中药研究院实验动物研究所, 重庆 400065

黎娜, 罗丽, 杨雅婷, 刘兆梅, 邱小燕, 王明玉, 王伟, 肖雄. 胶质母细胞瘤外泌体的作用机制研究进展[J]. 生物工程学报, 2023, 39(4): 1477-1501.

LI Na, LUO Li, YANG Yating, LIU Zhaomei, QIU Xiaoyan, WANG Mingyu, WANG Wei, XIAO Xiong. The action mechanism of glioblastoma cell-derived exosome: a review[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2023, 39(4): 1477-1501.

摘要: 胶质母细胞瘤(glioblastoma, GBM)因组织学异质性、侵袭能力强、术后复发快等问题, 致使患者经手术治疗、化疗和放疗后的预后差, 总体生存期短。GBM 细胞来源外泌体(GBM cell-derived exosome, GBM-exo)能够通过其携带的细胞因子、miRNA、DNA 和蛋白质等调节 GBM 细胞的增殖和迁移, 通过血管生成蛋白和非编码 RNA 促进肿瘤血管生成, 通过调节因子、蛋白质和药物靶向免疫检查点等介导肿瘤免疫逃逸, 以及通过非编码 RNA 对抗 GBM 细胞的耐药性, 有望成为个性化治疗 GBM 的重要靶标, 且可以作为 GBM 的诊断和预后标志物。本文阐述了 GBM-exo 的制备方法和生物学特征, 及其在 GBM 细胞增殖、血管生成、免疫逃逸和耐药性方面的作用和分子机制, 为研发诊治 GBM 的新策略提供参考。

关键词: 胶质母细胞瘤; 外泌体; 细胞增殖; 血管生成; 免疫逃逸; 耐药性

资助项目: 中央高校基本科研业务费专项资金(XDJK2020B011); 重庆市教委科学技术研究计划(KJZD-K202200208); 国家自然科学基金(31572488, 32072778); 国家生猪技术创新中心项目(NCTIP-XD/C17); 重庆市自然科学基金(cstc2021jcyj-msxmX0972); 重庆市中药研究院基本科研业务费项目(cstc2019jxjl-jbky120002)

This work was supported by the Fundamental Research Funds for the Central Universities, China (XDJK2020B011), the Scientific and Technological Research Program of Chongqing Municipal Education Commission (KJZD-K202200208), the National Natural Science Foundation of China (31572488, 32072778), the National Center of Technology Innovation for Pigs (NCTIP-XD/C17), the Chongqing Natural Science Foundation (cstc2021jcyj-msxmX0972), and the Fundamental Research Funds for Chongqing Academy of Chinese Materia Medica (cstc2019jxjl-jbky120002).

*Corresponding author. E-mail: y1982@swu.edu.cn

Received: 2022-09-27; Accepted: 2023-01-13; Published online: 2023-02-08

The action mechanism of glioblastoma cell-derived exosome: a review

LI Na¹, LUO Li¹, YANG Yating¹, LIU Zhaomei¹, QIU Xiaoyan², WANG Mingyu³, WANG Wei¹, XIAO Xiong^{1*}

1 College of Veterinary Medicine, Southwest University, Chongqing 400715, China

2 College of Animal Science and Technology, Southwest University, Chongqing 400715, China

3 Institute of Laboratory Animal Science, Chongqing Academy of Chinese Materia Medica, Chongqing 400065, China

Abstract: Patients with glioblastoma (GBM) generally have a bad prognosis and short overall survival after being treated with surgery, chemotherapy or radiotherapy due to the histological heterogeneity, strong invasive ability and rapid postoperative recurrence of GBM. The components of GBM cell-derived exosome (GBM-exo) can regulate the proliferation and migration of GBM cell *via* cytokines, miRNAs, DNA molecules and proteins, promote the angiogenesis *via* angiogenic proteins and non-coding RNAs, mediate tumor immune evasion by targeting immune checkpoints with regulatory factors, proteins and drugs, and reduce drug resistance of GBM cells through non-coding RNAs. GBM-exo is expected to be an important target for the personalized treatment of GBM and a marker for diagnosis and prognosis of this kind of disease. This review summarizes the preparation methods, biological characteristics, functions and molecular mechanisms of GBM-exo on cell proliferation, angiogenesis, immune evasion and drug resistance of GBM to facilitate developing new strategies for the diagnosis and treatment of GBM.

Keywords: glioblastoma; exosome; cell proliferation; angiogenesis; immune evasion; drug resistance

胶质母细胞瘤(glioblastoma, GBM)为常见的恶性原发性脑肿瘤,分别占原发性中枢神经系统(central nervous system, CNS)肿瘤和胶质瘤的14.7%和55%,且恶性程度高,2021年出版的世界卫生组织中枢神经系统肿瘤分类(第5版)[World Health Organization Classification of Tumors of the Central Nervous System (5th edition), WHO CNS5]将其评定为4级^[1]。因GBM存在广泛的遗传和表观遗传变异、CNS侵袭能力强、多药耐药性、常位于大脑功能区而难以手术切除、术后复发快、非手术疗法(例如:放疗、化疗和靶向治疗)预后不良、生存率低(据美国中央脑肿瘤登记处回顾2014–2018年的数据显示GBM的1年、5年和10年平均相对生存率分别

为42.5%、6.8%和4.3%)等问题^[2-3],亟待揭示GBM发生、发展和转移的分子机制。GBM细胞来源外泌体(glioblastoma cell-derived exosome, GBM-exo)参与构建有利于肿瘤生长的微环境,在增强细胞增殖和转移、促进血管生成、介导免疫逃逸和耐药性等方面发挥重要作用,且能突破血脑屏障(blood-brain barrier, BBB),靶向CNS肿瘤部位,有望成为其生物标志物^[4-5]。因此,阐明GBM-exo成分的分子作用机制,可为研发其诊治新方法奠定基础。

1 胶质母细胞瘤

GBM起源于神经胶质祖细胞,因异柠檬酸脱氢酶(isocitrate dehydrogenase, IDH)突变差异

而形成了两个亚型: IDH 突变型和 IDH 野生型, 在组织学上以具有微血管增生和局灶性坏死区的高级星形细胞肿瘤为特征^[6]。原发性 GBM 未见明显的前体病变, 但更具侵袭性; 继发性 GBM 由低级别弥漫性或间变性星形细胞瘤引起, 通常预后更好(表 1)。基于基因表达谱的差异, GBM 可分为经典型、原神经型、神经型和间充质型^[9]。WHO CNS5 将表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)基因扩增、7 号染色体合并增益与 10 号染色体缺失(+7/-10)和端粒酶逆转录酶(telomerase reverse transcriptase, TERT)启动子突变这 3 个遗传参数作为 IDH 野生型 GBM 的诊断标准, GBM 中至少存在 1 个上述遗传参数^[1]。癌症基因组图谱(the cancer genome atlas, TCGA)数据显示 GBM 还与肿瘤蛋白 p53 (tumor protein p53, TP53)和视网膜母细胞瘤(retinoblastoma, RB)等肿瘤抑制因子的失活, 以及受体酪氨酸激酶(receptor tyrosine kinase, RTK)、Ras GTP 酶(Ras guanosine triphosphatase, Ras GTPase)和磷脂酰肌醇 3-激酶(phosphoinositide 3-kinases, PI3K)等促癌通路的激活有关。

2 外泌体

外泌体是由细胞质膜内陷形成的多囊泡体与细胞膜融合后释放到细胞外的一类膜性囊泡, 直径为 30–150 nm, 可携带特定于其来源细胞的核酸、蛋白质、脂类、聚糖和代谢物等多种生物分子, 实现细胞间的物质传递, 还可作为药物和基因等的递送载体。通过细胞膜穴样内陷、网格蛋白、脂质筏、微胞饮或吞噬作用等机制进入受体细胞, 释放特异性物质, 触发下游信号事件, 介导细胞间通讯^[10], 在代谢调控、组织修复、免疫调节和病原体运输等方面发挥特定功效^[11], 具备诊疗疾病的潜质。外泌体广泛存在于组织和细胞间隙、细胞培养上清液和体液中, 包括: 血液、淋巴液、唾液、尿液、精液、眼泪、乳汁、胸腔积液、脑脊液等, 常用的分离方法有差速超离心法、梯度超离心法、超滤法、切向流过滤、体积排阻色谱、聚合物沉淀、双水相系统提取、免疫亲和纯化和微流控技术等^[12–16]。分离试剂盒(例如: RiboTM Exosome Isolation Reagent 和 ExoQuickTM)的研发应用克服了传统方法的耗时

表 1 原发性和继发性 GBM 特征比较^[7–8]

Table 1 Comparison of features between primary and secondary GBM^[7–8]

Features	Primary GBM	Secondary GBM
Proportion	Approximately 90%	Approximately 10%
Precursor lesion	Development from new lesions (none)	Diffuse or anaplastic astrocytoma
Primary patient population	Elderly patients	Young patients
Tumor necrosis	Widely	Local area, more limited area
Histological changes	Highly polymorphic giant cells, epithelioid tumor cells	Focal necrosis
Methylation rate of MGMT promoter	35%–50%	Approximately 90%
Molecular pathogenesis	EGFR amplification, TERT promoter mutation, PTEN deletion, LOH 10q, LOH 10p and CHR7	IDH1/IDH2 mutation, TP53 mutation, ATRX mutation, PDGFR α amplification, LOH 10q, LOH 19q, G-CIMP
	mutation*	

PTEN: Phosphatase and tensin homolog; BRAF: V-raf murine sarcoma viral oncogene homologue B1; LOH: Loss of heterozygosity; CHR: Chromosome; TP53: Tumor protein p53; ATRX: X-linked alpha thalassemia mental retardation syndrome; PDGFR α : Platelet derived growth factor receptor alpha; G-CIMP: Glioma CpG island methylation phenotype; *: Variation only in epithelial histology.

和样品量限制等缺点^[17-18]。利用透射电子显微镜、扫描电子显微镜、原子力显微镜、纳米颗粒跟踪分析、动态光散射、电阻脉冲传感、酶联免疫吸附测定、流式细胞术、荧光激活细胞分选、微流体和电化学传感器技术^[10,19-24]等,可进一步研究囊泡表征,以分析外泌体纯度和量化其载荷,为解析其生物学作用机制奠定基础。

3 GBM-exo 的作用

与正常细胞相比,肿瘤细胞外泌体的分泌量显著增加^[25]。原发性 GBM-exo 可以作为递质,携带致癌物质,参与改变正常细胞特性,促进肿瘤细胞增殖,促使转移前生态位(pre-metastatic niche, PMN)形成,加速肿瘤细胞转移,激活癌症相关成纤维细胞,增加上皮细胞-间充质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT),增强肿瘤血管生

成,提高免疫逃逸力和获得性耐药性等(图 1)^[26-28]。

3.1 GBM 细胞增殖

3.1.1 细胞因子

GBM 微环境由单核细胞、巨噬细胞和 T 淋巴细胞等免疫细胞、胶质母细胞瘤干细胞样细胞(glioblastoma stem-like cells, GSCs)、内皮细胞、神经元细胞、星形胶质细胞和少突胶质细胞等基质细胞和细胞外基质(extracellular matrix, ECM)成分等组成。GBM-exo 介导 GBM 与基质细胞之间的通讯,并能使周围支持细胞表现出促进 GBM 发展和侵袭的表型^[29]。经原发性 GBM-exo 处理后,人 U87 胶质瘤细胞的数量增加了 8 倍,而对照组仅增加了 5 倍; GBM-exo 还可进入人脑微血管内皮细胞(human brain microvascular endothelial cell, HBMVEC),翻译其携带的报告基因 mRNA,改变细胞的表达谱,促使其发展成为 GBM^[30]。

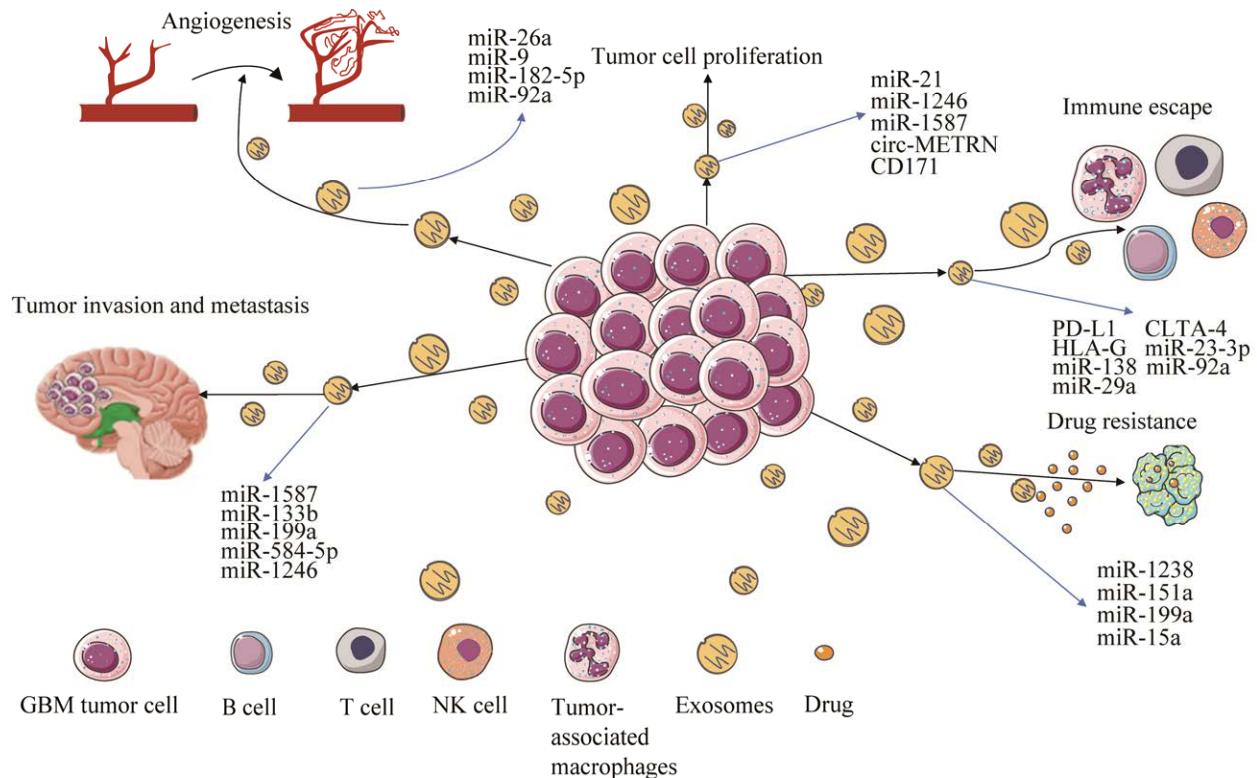


图 1 GBM-exo 的作用

Figure 1 Roles of GBM-exo.

GBM-exo 含有 EGFR/表皮生长因子变体 III (epidermal growth factor receptor variant III, EGFRvIII)、血小板衍生生长因子(platelet-derived growth factor, PDGF)和人类表皮生长因子受体 2 (human epidermal growth factor receptor-2, HER2), 通过丝裂原活化蛋白激酶激酶 (mitogen-activated protein kinase kinase, MEK)/细胞外调节蛋白激酶 (extracellular regulated protein kinases, ERK) 和 PI3K/蛋白激酶 B (protein kinase B, Akt) 通路实现肿瘤细胞亚群之间癌基因的激活, 促进 GBM 细胞增殖^[31]。除了累积遗传和表观遗传变化、激活肿瘤基因表达、沉默肿瘤抑制因子外, EGFRvIII 还能改变 GBM 侵袭过程中的相关蛋白质如 ECM 的层粘连蛋白 (laminins, LNs) ($\alpha 5$ 亚基、 β -1 亚基和 γ 亚基) 和与 ECM 结合的粘附蛋白[分化抗原簇 44 (cluster of differentiation 44, CD44)、黑素瘤细胞黏附分子 (melanoma cell adhesion molecule, MCAM)、凝血酶敏感蛋白 1 (thrombospondin 1, THBS1)、整合素 $\alpha 6$ (integrin alpha-6, ITGA6) 和整合素 $\beta 4$ (integrin beta 4, ITGB4)] 的过表达; ITGA6、ITGB4 和 MCAM 作为 LNs 的受体, 其过表达有助于外泌体在 GBM 间的传递, 促进肿瘤的发展^[32]。磷酸酯酶与张力蛋白同源物 (phosphatase and tensin homolog, PTEN) 作为一种肿瘤抑制基因, 常在 GBM 中缺失或突变, 外泌体介导其在 GBM 微环境中的转移, 一方面其可抑制 PI3K/Akt/哺乳动物雷帕霉素靶蛋白 (mammalian target of rapamycin, mTOR) 通路 (一种调控 GBM 增殖的主要分子通路), 因而其突变易导致肿瘤过度增殖。另一方面, PTEN 通过与组蛋白分子伴侣死亡相关蛋白 6 (death-associated protein 6, DAXX) 的相互作用来调节该组蛋白染色质上的 H3 变体 H3.3, 进而抑制癌基因的表达^[33]; PTEN 与 Nedd4 家族相互作用蛋白 1 (nedd4 family

interacting protein 1, Ndfip1) 相互作用可以促进外泌体内化, 从而阻碍了 PTEN 在细胞核内的积累, 以支持肿瘤细胞的存活和增殖。TP53、受体酪氨酸激酶/Ras/PI3K 和 RB 等信号通路中关键调控因子的突变, 则会抑制 GBM 细胞凋亡, 导致其过度增殖^[34]。

此外, GBM 自分泌和旁分泌产生的细胞因子——白细胞介素 1 (interleukin-1, IL-1) 可以直接刺激细胞增殖。在多种癌症中, IL-1 α 和 IL-1 β 表达量的增加呈现出促瘤作用, 尤其是 IL-1 β 在 GBM 微环境中大量存在, 已成为激活癌症和免疫细胞中炎症信号通路的主要细胞因子, IL-1 还能诱导 IL-6 和 IL-8 等次级细胞因子的表达^[35-36]。肿瘤相关巨噬细胞 (tumor-associated macrophages, TAMs) 分泌的 IL-1 β 刺激 GBM, 诱导 IL-6 和趋化因子 (C-X-C 基序) 配体 8 (chemokine (C-X-C motif) ligand 8, CXCL8) 的生成, 通过核因子 kappa-B (nuclear factor kappa-B, NF- κ B) 和信号转导和转录激活因子 3 (signal transducer and activator of transcription 3, STAT3) 的协同作用促进 GBM 的生长^[37]。TERT 的突变将激活端粒酶, 支持癌细胞的过度增殖^[30,38]。将 GBM-exo 中的促迁移因子转移至正常受体细胞, 能够增强肿瘤细胞的增殖和扩散, 诱导正常细胞癌变^[39]。

3.1.2 微小 RNA (microRNAs, miRNAs)

与正常脑组织分泌的外泌体相比, miR-222、miR-9 和 miR-26a 在胶质瘤源性外泌体中的表达水平显著升高。过表达 GBM 细胞中的 miR-26a, 能够降低 PTEN 蛋白的表达, 增强 Akt 的活化, 促进 LN229 和 U87 GBM 细胞的生长, 而过表达 PTEN 或 RB1 能够拮抗该细胞增殖作用^[40]。GBM-exo 中的 miR-21、miR-29a、miR-221 和 miR-222 等能够促进肿瘤细胞增殖或抑制其凋亡, 例如: GBM 细胞系 GL261 来源外泌体可传递 miR-21, 进而重编程小胶质细胞, 提高其增

殖能力^[41]。神经胶质瘤来源外泌体中的 miR-148a 能有效靶向细胞粘附分子 1 (cell adhesion molecule-1, CADM1), 激活 STAT3 途径, 促进 GBM 细胞的增殖和转移^[42]。恶性 GBM 分泌的 miR-1246 也能促进肿瘤细胞的增殖和转移。miR-1587 于 GBM-exo 中高度富集, 可促进胶质瘤干细胞样细胞的增殖并增强其致瘤性^[43]。miR-5096 可显著降低 U87 GBM 细胞中 Kir4.1 通道蛋白的表达, 这不仅能增加含 miR-5096 外泌体的释放, 还促进了 GBM 细胞的丝状伪足生长, 增强其侵袭和迁移能力^[44]。miR-9 直接靶向 *coll8a1*、*thbs2*、*ptch1* 和 *phd3* 基因, 诱导神经胶质瘤细胞癌变, *myc* 和 *oct4* 能够结合到 miR-9 的启动子区域, 启动其表达; 过表达 miR-9 与神经胶质瘤细胞数量的增加和细胞周期的加快呈正相关, 敲低 miR-9 的表达则表现出相反的结果, 表明 miR-9 能够促进肿瘤细胞的增殖^[45]。过表达 miR-451 能抑制钙结合蛋白 39

(calcium-binding protein 39, CAB39)/肝激酶 B1 (liver kinase B1, LKB1)/5'磷酸腺苷活化蛋白激酶(5' adenosine monophosphate-activated protein kinase, AMPK)通路, 加快恶性胶质瘤细胞的增殖^[46]。因此, 外泌体 miRNA 与 GBM 的增殖密切相关。

然而, 外泌体中也存在抑制 GBM 生长的 miRNA (表 2), 例如: 胶质瘤相关的人间充质干细胞(glioma-associated human mesenchymal stem cells, GA-hMSCs)来源外泌体中的 miR-199a 能够通过降低 ARF GTP 酶激活蛋白 2 (adenosine diphosphate ribosylation factors-GTPase-activating protein 2, AGAP2)的表达, 进而抑制 GBM 的生长。使用富含 miR-21-海绵体的外泌体可下调 U87-MG 和 C6 GBM 细胞系中 miR-21 的表达, 上调靶基因 *pdc4* 和 *reck*, 从而抑制 GBM 细胞的增殖, 阻断其恶化, 缩小肿瘤体积^[54]。miR-101-3p 可直接靶向 *trim33* 的 3'UTR, 抑制

表 2 抑制 GBM 细胞增殖的外泌体 miRNAs

Table 2 Exosomal miRNAs inhibiting the proliferation of GBM cells

Source cells	miRNA carried by exosomes	Targeting GBM cells	Isolation methods for exosome	Action mechanisms	References
MSCs	miR-133b	U87	Ultracentrifugation	Inhibition of EZH2 and Wnt/ β -catenin signaling pathways	[47]
MSCs	miR-199a	U251	Cryogenic ultracentrifugation	Downregulation of AGAP2	[48]
GBM	miR-199a-3p	U87 and U251		Inhibition of AKT/mTOR signaling pathway	[49]
MSCs	miR-584	U87	Ultracentrifugation	Binding to the 3'UTR of CYP2J2 and inhibiting the activity of glioma cells	[50]
GBM	miR-454-3p	U251 and LN229	Ribo exosome isolation reagent	Targeting ATG12 and inhibiting autophagy	[17]
MSCs	miR-124	U87	Exosome precipitation solution ExoQuick	Downregulating the expression of CDK6	[18]
BMSCs	miR-512-5p	U87 and LN229	Ultracentrifugation	Targeting JAG1, decreasing the expression of cyclin D1 and inhibiting G1 phase	[51]
RBP-J-overexpressing macrophages	circBTG2	U87 and U373	Ultracentrifugation	Stimulating the circBTG2/miR-25-3p/PTEN pathway	[52]
GBM	miR-7-5p	U87 and U251	Ultracentrifugation	Inhibiting the EGFR/PI3K/Akt signaling pathway	[53]

MSCs: Mesenchymal stem cells; BMSCs: Bone mesenchymal stem cells; CDK6: Cyclin dependent kinase 6.

其诱导的 EMT, 从而减弱 GBM 细胞的增殖、迁移和侵袭^[55]。人 GBM 细胞系 U251 MG 和 U87 MG 细胞中 miR-101 与 *sox9* 之间存在负相关, 过表达 miR-101 可直接靶向 *sox9* 调节轴, 通过调节 Akt、Wnt (wingless/integrated) 和 B 细胞淋巴瘤滤过性病毒插入位点 1 (B cell-specific Mo-MLV integration site-1, Bmi1) 信号通路, 抑制 GBM 细胞的体外增殖、迁移和侵袭^[56]。

3.1.3 环状 RNA (circular RNAs, circRNAs)

在神经胶质瘤的发展中, *metrn* 基因的几个外显子能够生成 1 种 circRNA——*hsa_circ_0037251*, 其能促进体内移植瘤的生长, 过表达该基因会促进神经胶质瘤细胞的增殖、侵袭和迁移; 采用小干扰 RNA (small interfering RNAs, siRNAs) 下调其表达则会促进细胞凋亡、诱导 G1 期停滞、上调 miR-1229-3p 的表达、抑制 mTOR 的生成, 进而阻滞神经胶质瘤的发展。因此, *hsa_circ_0037251*/miR-1229-3p/mTOR 轴有望成为神经胶质瘤治疗策略的重要靶标^[57]。外泌体中也含有丰富的 circRNA, 有些参与了肿瘤进展的调控。低剂量电离辐射处理 GBM 细胞系(人 SW1783 和 U-118MG 细胞)诱导生成外泌体中的 *circmetrn* 能够通过调节 miR-4709-3p/生长因子受体结合蛋白 14 (growth factor receptor-bound protein 14, GRB14)/PDGFR α 轴, 进而调控下游的 PI3K/Akt/mTOR 或促分裂原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinase, MAPK)/ERK 信号通路, 促进 GBM 细胞的增殖、凋亡、放射抗性、侵袭和迁移^[58]。

3.1.4 长链非编码 RNA (long noncoding RNAs, lncRNAs)

从 GBM 患者血清中提取的外泌体含有 lncRNA, 其中 LINC00470 与 GBM 细胞中的 miR-580-3p 结合, 上调 *Wee1* 的表达, 激活 PI3K/Akt/mTOR 通路, 抑制自噬且增强 GBM 细胞的增殖^[59]。lncRNA *hotair* (HOX transcript

antisense RNA) 是 GBM 细胞生长的驱动因素, 为 GBM 增殖所需^[60]。过表达 lncRNA *fam95b1* 可以通过竞争性地靶向结合 mRNA 而抑制 miR-26a-5p 的表达, 并增强 PTEN 蛋白表达, 阻碍 GBM 细胞系 LN382 的增殖和迁移^[61]。

3.1.5 siRNAs

鉴于 GBM 细胞和 BBB 的内皮细胞高水平表达低密度脂蛋白受体相关蛋白 1 (low-density lipoprotein receptor-related protein 1, LRP-1), 血管肽 2 (angiotensin-converting enzyme 2, An2) 为 LRP-1 的特异性配体, 其结合到装载有 siRNA 的外泌体表面, 增强其 BBB 穿透性和靶向 GBM, 大量 STAT3 siRNA 分子经外泌体运输至细胞质, 沉默 STAT3 的表达, 抑制了小鼠 GBM 细胞的增殖^[62]。

3.1.6 蛋白质

GBM 中存在 1 种特殊的外泌体摄取机制, 癌细胞的趋化因子 (C-C 基序) 受体 8 [chemokine (C-C motif) receptor 8, CCR8]、外泌体表面的聚糖以及连接分子——趋化因子 (C-C 基序) 配体 18 [chemokine (C-C motif) ligand 18, CCL18] 三者之间的相互作用, 能够促进 GBM 细胞的增殖^[29]。免疫球蛋白超家族蛋白中的 L1 细胞粘附分子 (L1 cell adhesion molecule, L1cam (又名 CD171)) 在 GBM 中也呈现出异常表达, 经 L1cam 修饰的外泌体能够显著增加 GBM 细胞系 (T98G/shL1、U-118MG 和原代 GBM 细胞) 的增殖, 其中 U-118MG 细胞的数量与对照组相比增加了 2 倍^[63]。GSCs 衍生的外泌体能够促进 U251 和 U87 GBM 细胞的增殖, 外泌体中含有的 Notch1 蛋白可以激活 Notch1 信号通路, 将神经胶质瘤细胞去分化成为 GSCs, 增强其干性和致瘤性^[64]。GBM-exo 可以抑制 T 淋巴细胞和 NK 细胞中 *cd69* 和 *nk2gd* 的表达, 阻碍 CD8⁺ T 淋巴细胞增殖和细胞因子的产生, 并携带蛋白质精氨酸酶 1 (arginase-1, ARG-1) 体外增强 GBM 细胞的增殖和迁移^[65]。细胞周期蛋白依赖性激酶 5

growth factor-beta, TGF- β)、血管生成素(angiopoietins, ANG)、血小板反应蛋白 1/2 (thrombospondin 1/2, TSP-1/2)和 PDGF 等的调节^[88]。高度增殖的肿瘤细胞需要大量的氧气和营养物质,异常的肿瘤微环境(tumor microenvironment, TME)会刺激血管生成。骨髓来源的内皮祖细胞(endothelial progenitor cells, EPCs)扩张并形成初级动脉网络是血管发生的基础。在 GBM 发生时, EPCs 释放大量的 VEGF, 破坏血管基底膜(vascular basement membrane, VBM), 降解周围的 ECM, 血管对血浆蛋白过度渗透, 导致玻连蛋白、纤连蛋白和纤维蛋白原等 ECM 蛋白从血液中释放出来, 建立管腔, 形成新的血管^[89]。血管化程度对于 GBM 的生长和发展至关重要, 外泌体在肿瘤血管生成中的调节作用, 使其成为基于抗血管生成治疗 GBM 的重要靶标。

3.2.1 缺氧

肿瘤细胞失控性生长和增殖需要消耗大量的营养物质和氧气, 绝大多数实体瘤内存在缺氧微环境。细胞内缺氧是激活缺氧诱导因子 1 α (hypoxia-inducible factor-1 α , HIF-1 α)的主要因素, 进而刺激表皮生长因子(epidermal growth factor, EGF)、VEGF 和 TGF- β 的生成^[89]。在缺氧条件下, GBM-exo 中含有的促血管生成因子 IL-8 和 PDGF, 能够通过激活 PI3K/Akt 信号通路, 诱导内皮细胞增殖和迁移^[90]。低氧诱导 GBM 细胞(U-87MG)来源外泌体中的 miR-182-5p 能够抑制 Kruppel 样因子 4 (kruppel-like factor 4, KLF4)、Occludin、闭锁小带蛋白 1 (zonula occludens-1, ZO-1)、Claudin-5 和 Kruppel 样因子 2 (kruppel-like factor 2, KLF2)的生成, 增强血管内皮生长因子受体 2 (vascular endothelial growth factor receptor, VEGFR2)的表达; 其中, KLF2 能够通过降低 VEGFR2 启动子的活性来抑制血管生成, 而 KLF4 可以增强紧密连接相关蛋

白 Claudin-5、Occludin 和 ZO-1 启动子的活性, 以维持血管内皮屏障的完整性。因此, miR-182-5p 靶基因 KLF2 和 KLF4 的表达下调, 促进了肿瘤血管生成, 增强了血管通透性和肿瘤细胞的跨内皮转移^[91]。

3.2.2 血管生成蛋白

GBM-exo 可携带 mRNA 进入 HBMVEC 刺激正常脑内皮细胞的血管生成; 除 mRNA 外, 这些外泌体还包含有血管生成素、成纤维细胞生长因子 α (fibroblast growth factor α , FGF α)、IL-6、IL-8、金属蛋白酶组织抑制剂 1 (tissue inhibitors of metalloproteinases 1, TIMP-1)、TIMP-2 和 VEGF 等血管生成蛋白, 能够促进血管的生成^[92]。GBM-exo 中分子量为 120 kDa 的 VEGF-C, 通过抑制 Hippo 信号通路, 刺激内皮细胞表达 TAZ (tafazzin), 增强其活力、迁移和管道化; 采用 GW4869 阻断外泌体的形成和释放, 具有与贝伐单抗抑制皮下移植肿瘤生长和血管生成相似的效果^[93]。GBM-exo 携带的促血管生成的物质可在肿瘤周围区域诱导血管生长, 增加血管重建^[94]。

3.2.3 ncRNAs

U-138-MG 和 U251-MG 细胞系的外泌体携带有 miR-148a-3p, 能够促进人脐静脉内皮细胞(human umbilical vein endothelial cells, HUVECs)的增殖, 通过抑制 *errfi1*, 进而激活 EGFR/MAPK 信号通路, 促进肿瘤血管生成^[95]。miR-24 通过介导 Akt 和 β -catenin 信号转导, 上调 U251 GBM 细胞中 TGF- β 和 VEGF 的表达, 参与 HUVECs 的血运重建^[96]。GSCs 来源外泌体中的 miR-26a 能够抑制 PTEN 的表达, 激活 PI3K/Akt 信号通路, 促进 HBMVEC 的体外增殖和迁移, 以及血管的生成^[97]。GSCs 衍生的外泌体还可以借助刺激 miR-21/VEGF/VEGFR2 信号通路, 增强内皮细胞的血管生成能力^[98]。外泌体运载的 lncRNA *pou3f3* (增加血管内皮细胞 bFGF、VEGF-A 和 bFGFR 的生成)、lncRNA *hotair* (促进血管内皮

细胞 VEGF-A 的表达)和 lncRNA *ccat2* (上调 VEGF-A 和 TGF- β 的表达水平)能够促进肿瘤血管生成^[93]。此外, GBM-exo 还携带有 EGFRvIII、VEGF-A 和 DII4 蛋白, 通过激活 EGFR/MAPK 和 PI3K/Akt 信号通路增加 VEGF 的表达, 促进血管生成。然而, 外泌体中 miR-1 的过表达会抑制 VEGF 的产生, 抑制血管生成^[43]。

3.3 免疫逃逸

GBM 细胞的免疫逃逸和内在免疫抑制特性在肿瘤进程和预后中起着决定性作用。在 TME 中, 免疫检查点配体与 T 细胞受体结合以增强抗肿瘤免疫反应, 典型的抑制性免疫检测点包括: 细胞毒性 T 淋巴细胞相关蛋白 4 (cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4, CTLA-4)、程序性死亡配体 1 (programmed death ligand 1, PD-L1) 和 T 细胞免疫球蛋白 3 (T cell immunoglobulin-3, TIM-3), 其中被批准用于临床的免疫检查点抑制剂 (immune checkpoint inhibitor, ICI) 药物主要靶向于 CTLA-4 和 PD-1/PD-L1 两类淋巴细胞抑制途径, 对黑色素瘤、非小细胞肺癌和小细胞肺癌有显著疗效; 但是, 由于 GBM 存在脑内特殊免疫环境, 例如: BBB 的机械性阻隔、脑内独特的吞噬细胞 (小胶质细胞和边界相关的巨噬细胞)、异常的淋巴引流系统以及严重的免疫抑制微环境, 导致 ICI 对其临床疗效有限, 难以延长患者的生存期。近年的研究数据表明, TME 中外泌体携带的 PD-L1、CTLA-4 和 TIM-3 能够通过调节 T 细胞中免疫相关基因的表达, 介导肿瘤免疫逃逸的新机制^[99-100]。这些免疫检查点分子有望作为癌症免疫治疗的新靶点 (图 3), 阻断免疫检查点和外泌体分泌可能作为激活抗肿瘤免疫的有效策略。

3.3.1 PD-L1 在 GBM 中的表达与影响

PD-L1 是一种典型的免疫检查点分子 (immune

checkpoint molecule, ICM)。肿瘤细胞 (例如: 肾癌细胞、尿路上皮癌细胞、胰腺癌细胞、肺癌细胞、胃癌细胞和结直肠癌细胞) 可通过激活 ICM, 削弱抗肿瘤免疫, 导致免疫逃逸。与黑色素瘤 (大约 30%) 和非小细胞肺癌 (non-small cell lung cancer, NSCLC) (25%–36%) 相比, GBM 更易表达 PD-L1, 大约 88% 的新确诊患者和 72% 的复发性患者中存在弥漫性或纤维状的 PD-L1 表达, 而在 GBM 周围健康的大脑组织中, PD-L1 的表达水平非常低^[101]。GBM 细胞及其来源外泌体中的 PD-L1 能与活化 T 淋巴细胞表面的 PD-1 相结合, 诱导肿瘤局部微环境中 T 细胞介导的免疫耐受性; 还可以通过激活小胶质细胞中的 PD-1/PD-L1 通路, 阻断 T 淋巴细胞活化后对肿瘤细胞的免疫攻击。在 GBM 的细胞系和患者活检中均能检测到 PD-L1, 其可以作为 GBM 的生物标志物^[102]。

GBM 通过 Toll 样受体 (Toll like receptor, TLR)、EGFR、干扰素 α/γ 受体 (interferon alpha/gamma receptor, IFN α/γ R) 3 种途径, 激活 MyD88/TRAF6/MEK/ERK 通路, 诱导分泌 PD-L1。外泌体通过直接或间接调节 PD-L1, 在 GBM 的免疫逃逸中发挥重要作用。EGFR 与 TGF α 或 EGF 结合后能够促进 Ras/RAF/MAPK、PI3K/Akt-1 和信号转导与转录激活因子 (signal transducer and activator of transcription, STAT) 的激活, EGFR 的突变会诱发下游信号通路的反应, 与 EGF 结合后促进免疫逃逸。EGFRvIII 为 EGFR 最常见的突变体, 在 GBM 中的表达率约为 11%, 其可在缺乏 EGF 的情况下传递免疫信号。在 GBM 细胞中约 50% 的 EGFR 被激活, 通过 EGFR/Janus 激酶 2 (janus kinase 2, JAK2) 信号传导, 增加 PD-L1 的表达, 以此削弱抗肿瘤免疫反应^[103]。

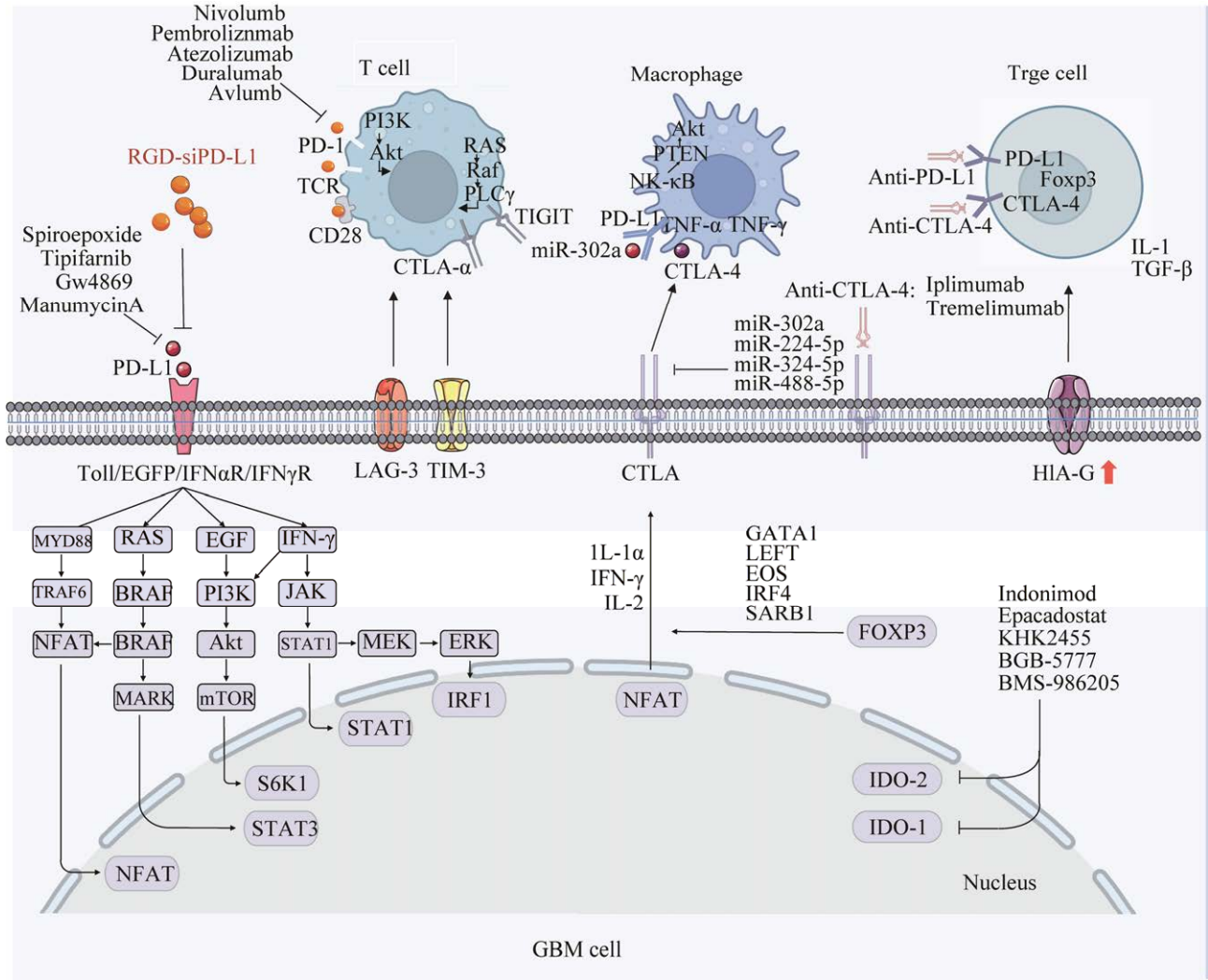


图3 GBM-exo 在免疫微环境中的作用机制

Figure 3 Action mechanisms of GBM-exo in immune microenvironment.

IFN- α 和 IFN- β 作为 IFN α R 通路的激活剂, 通过 *mx* 基因转录信号传导, 形成非典型主要组织相容性复合体 (major histocompatibility complex, MHC) 分子, 促进 PD-L1 转录, 诱导内源性干扰素生成; IFN- γ 则通过 JAK/STAT-1/MEK/ERK/干扰素调节因子 1 (interferon regulatory factor 1, IRF-1) 和 PI3K/PIP3/Akt/mTOR/S6 激酶 β 1 (S6 kinase beta-1, S6K1) 通路进行信号传导, 调节 PD-L1 mRNA 的生成^[103]。CD8⁺ T 淋巴细胞分泌的 IFN- γ

能够上调 PD-L1 表达, IFN- γ 与其受体结合后能够激活 JAK/STAT 信号通路, 诱导 PD-L1 在肿瘤细胞上的表达, 外泌体中的 PD-L1 同样具有这种促进作用^[104]。

3.3.2 外泌体 PD-L1 对 GBM 的免疫抑制

在 GBM 的微环境中, GSC 来源外泌体能够诱导 CD14⁺ 单核细胞的前体极化为免疫抑制性 M2 型巨噬细胞, 促进细胞因子 MCP-3 (monocyte-chemotactic protein 3) 和趋化因子 (C-X-C 基序) 配体 1 [chemokine (C-X-C motif)

ligand 1, CXCL1]的表达,二者均为单核细胞、巨噬细胞和骨髓源性抑制细胞(myeloid-derived suppressor cells, MDSCs)的免疫化学营养因子,故可进一步增强免疫浸润,肿瘤浸润性 CD14⁺ 细胞中 PD-L1 的表达受到 p-STAT3、p44/42 MAPKA (ERK1/2)和 mTOR 信号通路的调节^[105]。相对于健康供体的单核细胞而言,GBM 患者外周血单核细胞和肿瘤浸润性骨髓细胞的 PD-L1 表达量显著升高^[102]。肿瘤细胞分泌富含 miR-23-3p 的外泌体,miR-23-3p 通过 PTEN/Akt 途径上调巨噬细胞表达 PD-L1,抑制 T 淋巴细胞的功能。GBM 患者的炎性细胞因子(例如 ARG-1、CD163、CD206 和 YM1)和 GBM-exo 能够促进 Th2 免疫反应,刺激促癌 M2 型巨噬细胞释放抗炎因子,支持 GBM 的发展,外泌体携带的 PD-L1 可降低 T 淋巴细胞活性,抑制抗癌免疫^[106]。外泌体中的 PD-L1 比 PD-L1 试剂具有更显著的免疫抑制作用,GBM-exo 表面的 PD-L1 可以通过免疫检查点通路来阻断 T 淋巴细胞的激活,从而实现免疫抑制^[107]。

外泌体不仅能影响 TME 中免疫细胞 PD-L1 的表达,还能在其质膜上直接表达 PD-L1。外泌体的一些标志蛋白,例如 Hrs、CD63、CD81 和 Hsp70,可与 PD-L1 发生免疫共沉淀,表明外泌体中包装和分泌的 PD-L1 起源于细胞表面 PD-L1 的内吞作用。在外泌体的发生过程中,内吞体运输必需分选复合物(endosomal sorting complexes required for transport, ESCRT)亚基 Hrs 介导外泌体携带物的识别和分类,Rab27a 参与多泡体(multi-vesicular bodies, MVB)与质膜的融合,而中性鞘磷脂酶 2 (neutral sphingomyelinase 2, nSMase2)又称为鞘磷脂磷酸二酯酶 3 (sphingomyelin phosphodiesterase 3, SMPD3)是促进细胞囊泡萌芽的关键酶。颗粒追踪和电镜测量结果显示删除 *rab27a* 基因会导致

所有外泌体丢失,nSMase2 缺失也会损失大多数外泌体,若敲除这两个基因,则 PD-L1 的表达显著减少或消失。因此,阻断外泌体生物发生或去除 PD-L1 会导致非常相似的肿瘤生长抑制表型^[108]。

肿瘤来源外泌体的 PD-L1 还可以传递至引流淋巴结(draining lymph nodes),靶向不同的效应 T 淋巴细胞,与 T 淋巴细胞表面的 PD-1 受体结合,导致 T 细胞受体(T cell receptor, TCR)及 CD28 的 Src 同源磷酸酪氨酸磷酸酶 2 (Src homology phospho-tyrosylphosphatase 2, SHP2)去磷酸化,调节下游通路 PI3K/AKT、Ras/Raf 和 Plc γ ,抑制 CD4⁺和 CD8⁺ T 淋巴细胞活化,从而发挥抗肿瘤免疫作用,以实现免疫逃逸^[108]。

3.3.3 外泌体抗 PD-1/PD-L1 免疫治疗

抗 PD-1/PD-L1 的靶向治疗有望成为一种极具潜力的肿瘤免疫疗法,目前已有病例报告显示 anti-PD-1 抗体的疗法对 GBM 患者有效^[109]。临床前试验表明 PD-1/PD-L1 单克隆抗体能使 GBM 小鼠的肿瘤组织显著消退,延长患病小鼠的存活时间^[110-111]。Reardon 等^[112]对 369 名复发型 GBM 患者使用不同的单抗,给药治疗后,纳武单抗(nivolumab)处理组中位生存期从 9.8 个月提升至 11 个月,总体反应率为 8%;而贝伐珠单抗(bevacizumab)处理组中位缓解持续时间 5.3 个月,总体反应率为 23%,治疗复发性 GBM 患者的缓解率为 13.3%。全身治疗时,BBB 阻碍 ICM 传递、GBM 的抑制性微环境以及狭窄治疗通道限制药物剂量等因素,导致通过阻滞免疫检查点临床治疗 GBM 的疗效有限。相对于其他药物递送载体,外泌体具有先天稳定性、低免疫原性和跨越生物屏障能力等优势。通过尾静脉注射硫酸软骨素酶 ABC 和诱导性少突胶质细胞祖细胞来源的外泌体治疗经 2-氨基-2-丙二醇盐酸盐处理后的实验性自身免疫性脑脊髓炎小鼠,能够减少

CNS 中小胶质细胞、巨噬细胞和活化星形胶质细胞的数量,清除部分硫酸软骨素蛋白多糖,促进髓鞘再生^[113]。外泌体也有望作为载体靶向大脑治疗 GBM。此外,放疗会增加 TME 中 GBM-exo 的数量,更有利于其作为载体运送治疗药物。利用疏水结合方式将环状 Arg-Gly-Asp (RGD) 肽共轭细胞外囊泡 (cyclic RGDyK peptide-extracellular vesicle, RGD-EV) 与胆固醇缀合的 siPD-L1 装载为一体,借助 RGD-EV 将 siPD-L1 递送至 GBM,导致放疗诱导 PD-L1 生成受到抑制,且当 RGD-EV 与检查点抑制剂联合治疗时,显著增加了 CD8⁺ T 淋巴细胞的数量、活性和毒性^[114]。

通过抑制外泌体 PD-L1 的生物发生(例如:敲除必需蛋白 Rab27a 和 nSMase2)和阻碍外泌体 PD-L1 分泌(例如:外泌体抑制剂——替吡法尼,鞘磷脂酶抑制剂——GW4869、手霉素 A 和螺环氧化物),靶向消除外泌体 PD-L1,有利于解决 anti-PD-L1 抗体的治疗耐药性问题。采用体外超滤法从血液循环中分离出外泌体 PD-L1,可以抑制肿瘤生长,是一种安全、有效的方法;但是,外泌体也存在于正常细胞中,甚至可能被肿瘤细胞转化为 PD-L1⁺细胞,从而引起消极免疫反应。因此,基于 anti-PD-L1 抗体和体外超滤法的治疗可以消除外泌体 PD-L1,通过靶向 Toll 样受体、炎症小体和其他先天免疫细胞,诱导广泛免疫反应。

3.3.4 CTLA-4 的功能及其转录调控

CTLA-4 是一种免疫抑制性受体,其能在激活后形成同源二聚体,对特化的 APC 表面表达的 B7-1[CD80]和 B7-2[CD86]具有更高的亲和力,通过反式内吞作用降低 CD80/86 的表达,且与 CD28 竞争,减少 T 淋巴细胞增殖和细胞因子生成,负调节 T 淋巴细胞反应。GBM-exo 携带的 CTLA-4 能够激活巨噬细胞中的 NF- κ B 途

径,促进其极化为 M2 样巨噬细胞,诱导 CD8⁺ T 淋巴细胞凋亡,并降低细胞因子 TNF- α 和 IFN- γ 的表达,抑制 NK 细胞和 CD4⁺ T 淋巴细胞活化,产生全身免疫抑制。因此,保护免疫细胞免受外泌体 CTLA-4 的影响也成为 GBM 免疫治疗的潜在靶点^[115-116]。

深入解析 CTLA-4 的调控机制能为 GBM 的免疫治疗提供更多策略。CTLA-4 的启动子与活化 T 细胞核因子(nuclear factor of activated T-cells, NFAT)结合后能够促进 CTLA-4 的转录,叉头框转录因子 P3 (forkhead box P3, FOXP3)、Gata-1、Lef1、Eos、Irf4、Satb1、IL-1 α 、IFN- γ 和 IL-2 可以增强 CTLA-4 的表达,CD28 和抑制 CpG 位点 DNA 甲基化表观遗传则会下调 CTLA-4 的水平。CTLA-4 的调控主要取决于其在细胞内的定位,在细胞表面只检测到少量 CTLA-4。细胞膜上增强 TCR 信号通路可上调 CTLA-4 的表达,T 细胞受体相互作用分子(T cell receptor-interacting molecule, TRIM)与 CTLA-4 结合可形成 CTLA-4/TRIM/LAX (linker for activation of X)/Rab8 效应复合物,进一步介导 CTLA-4 在 T 淋巴细胞表面的表达。细胞表面的 CTLA-4 通过上调细胞内的 Ca²⁺水平以实现自我表达的上调。脂多糖应答锚蛋白 (lipopolysaccharide-responsive and beige-like anchor protein, LRBA)的缺失会抑制 CTLA-4 的表达,并导致 CTLA-4 的降解。在转录调控水平上,miR-155 可通过下调 CTLA-4 的表达以增加 T 辅助细胞的增殖,miR-224-5p、miR-324-5p、miR-488-5p 和 miR-302a 均能抑制 CTLA-4 的表达^[117]。

3.3.5 外泌体参与 CTLA-4 的免疫疗法

肿瘤细胞调控 CTLA-4 的表达已产生免疫抑制微环境,CTLA-4 是第一个作为临床靶向的 ICM,伊匹单抗(ipilimumab)为第一种经 FDA 批

准用于治疗转移性黑色素瘤的 CTLA-4 阻滞剂^[118]。曲美木单抗(tremelimumab)是另一种治疗肝癌、头颈部鳞状细胞癌、小细胞肺癌和间皮瘤的抗 CTLA-4 单克隆抗体,能上调患者的免疫应答,但并未明显改善患者的中位生存期。CTLA-4 抑制性抗体在 GBM 小鼠模型中已显现出疗效^[119]。

由于 GBM 患者存在全身的高度免疫抑制,单独使用 ICI 治疗 GBM 通常无法获得良好结果,联合疗法更为有效,例如:同时靶向吡哆胺 2,3-双加氧酶(indoleamine 2,3-dioxygenase, IDO)、PD-L1 和 CTLA-4 的疗法,能够减少 GBM 小鼠中 Treg 细胞的数量。由于大分子(例如:抗体)通常无法穿过 BBB,故与外周抗体治疗相比,将药物直接注射到肿瘤核心部位能显著提升其疗效,现已开发出具有与 α -CTLA-4 或 α -PD-1 分子共价结合的聚 β -L-苹果酸支架的纳米颗粒,能够突破 BBB,改善 GBM 模型中 CTLA-4 抑制剂的递送^[119]。GBM-exo 也具备穿过 BBB 的特质,所携带的 CTLA-4 免疫抑制分子与预后不良紧密相关,也可以作为免疫治疗的靶点。富含 CD73⁺的 GBM-exo,能被 T 淋巴细胞吸收,在与 T 淋巴细胞共培养时,减弱了 α CD3⁺和 α CD28 诱导的 T 淋巴细胞增殖,GBM 释放的蛋白质配体 Lgals9⁺的外泌体可抑制外周树突状细胞(dendritic cells, DCs)的抗原处理和呈递,阻断 GBM-exo 的分泌和 GBM 细胞中 CD73 的表达,缓解肿瘤细胞的增殖,延长小鼠的生存期,表明 CD73⁺外泌体具有增强 ICI 治疗的潜力^[120]。

3.3.6 HLA-G 在 GBM 免疫逃逸中的作用

HLA-G 作为一种非典型的 MHC Ib 类分子,通过与 T 淋巴细胞受体/肽复合物相互作用参与抗原识别,与免疫效应因子免疫球蛋白样转录子 2 (immunoglobulin-like transcript 2, ILT2)或 ILT4 的受体相互作用促进 IL-10 和 TGF- β 1 的生成,

发挥免疫抑制特性。GBM 细胞可以通过表达免疫抑制性细胞表面分子 HLA-G 或释放可溶性免疫抑制剂(例如: TGF- β)来干扰肿瘤免疫反应。研究表明仅 10%的 GBM 细胞表达 HLA-G 就足以抑制外周血单个核细胞(peripheral blood mononuclear cells, PBMCs)对整个肿瘤的同种异体反应^[121]。HLA-G/ILT2 途径目前被视为新的免疫检查点,CD8⁺ ILT2⁺细胞表现出很高的抗肿瘤能力^[122]。GBM 患者血液中含有异常表型的单核细胞,其细胞表面标志物 HLA-DR 的表达降低,外泌体在体循环中可能改变单核细胞的表型,使其分化成为更具免疫活性的巨噬细胞^[31]。

肿瘤细胞来源的 HLA-G 通过吞噬作用、外泌体和 TNTs 的细胞间转移等方式,实现癌细胞逃脱宿主免疫系统的破坏。

3.3.7 靶向外泌体 HLA-G 的免疫治疗

HLA-G 是 ICM 免疫抑制回路中的一部分,且 PD1/PDL1 和 HLA-G/ILT2 似乎具有独立的作用机制。因此,anti-HLA-G 抗体联合靶向 PD-1、CTLA-4、TIM-3 和 IDO 的抑制剂,有望成为恢复 GBM 免疫系统抗肿瘤活性的新策略。将脂质体携带的 miR-148a 和 miR-152 递送至靶细胞,可下调 HLA-G 的表达^[123]。HLA-G 的 mRNA 表达水平与其受体白细胞免疫球蛋白样受体亚家族 B 成员 1 (leukocyte immunoglobulin-like receptor subfamily B member 1, Liltrb1)、Liltrb2 和杀伤细胞免疫球蛋白样受体 2DL4 (killer cell immunoglobulin-like receptor 2DL4, Kir2dl4),以及 PD-L1 和 CTLA-4 等 ICM 的表达呈正相关^[124]。临床上,HLA-G 的表达仅限于恶性转化部位,并不存在于周围的正常组织中,GBM 患者活检中 HLA-G 的表达量与预后不良呈正相关,与总生存期呈负相关^[125]。

分化的 GBM 细胞可以上调经典和非经典 HLA-DR、DP 和 DQ 配体,包括 HLA-G,后者作为 KIR2DL4 的配体,可以抑制 NK 细胞裂解,

且在 GBM 细胞系中, HLA-G 只在少数肿瘤细胞(10%)中针对 CD8 和 CD4 T 淋巴细胞表达抑制信号。外泌体可递送 HLA-G 和 HLA-E 以抑制 NK 细胞的迁移, 其分泌的 $\text{INF-}\gamma$ 可以活化 CD8^+ T 淋巴细胞, 另一方面将细胞因子(例如: IL-6 和 VEGF)转移到正常受体细胞, 增强肿瘤增殖和扩散, 从而诱导正常细胞发生恶性肿瘤^[39]。因此, 靶向外泌体 HLA-G 的治疗可增加对肿瘤细胞的免疫耐受性。

3.3.8 IDO

IDO 是一种色氨酸(tryptophan, Trp)代谢的限速酶, 在 90% 的神经胶质瘤细胞中高度表达此酶, 与肿瘤的进展和低存活率相关。在肿瘤细胞中, IDO 通过增加 CTL 的凋亡和将幼稚型 T 淋巴细胞诱导转化为调节性 T 细胞(regulatory cells, Tregs), 阻碍神经胶质瘤细胞的有效免疫反应。GBM 本身通常不表达 IDO, 但当 GBM 细胞被肿瘤浸润性 T 淋巴细胞或 NK 细胞识别并暴露于抗癌因子 $\text{IFN-}\gamma$ 和 $\text{TNF-}\alpha$ 时, IDO 在瘤内的表达量增加^[126]。

GBM 患者血清中的 Kyn/Trp 指数是免疫治疗的重要预测指标, 肿瘤来源外泌体 IDO 介导 Trp 降解和 Kyn 代谢物的产生, Kyn 与芳烃受体(aryl hydrocarbon receptor, AHR)相互作用在 DCs 中诱导 IDO 活性提升, 功能受损的 DCs 仍可释放 IDO^+ 外泌体, 可能进一步增加免疫抑制。此外, ARG-1 是另一种驱动免疫抑制的关键酶, 也在多种癌症的外泌体中检测到, 细胞外 ARG 水平的下降可通过下调 MHC-II 分子导致 DCs 功能障碍, 抑制肿瘤外泌体和 ARG 可诱导 ARG-1 在 DCs 上的表达, 从而进一步增强免疫抑制^[127]。IDO 作为癌症进展的标志物, 可成为减少免疫抑制的治疗靶点。目前, 帕博利株单抗(epacadostat)、KHK2455、BGB-5777、BMS-986205、PF-06840003、吲哚莫德(indoximod)等 IDO 抑制

剂已在进行癌症治疗的临床试验。联合使用抗 PD-1 单抗和 IDO 抑制剂能增加 T 淋巴细胞的募集和 CD8^+ T 淋巴细胞在 GBM 中的活性; 目前已有大约 101 项使用 IDO 抑制剂与其他化疗药物联合使用的临床试验, Clinical Trials.gov 数据库的结果显示对癌症患者有效^[128]。

3.3.9 其他 ICM

TIM-3 属于 T 细胞/TIM 基因家族, 可介导 T 淋巴细胞、DCs、巨噬细胞和肥大细胞表达抑制信号。TIM-3 与其配体半乳糖凝集素 9 (galectin-9) 结合, 负调节 T 淋巴细胞, 抑制肿瘤免疫。其在胶质瘤的肿瘤浸润淋巴细胞(tumor infiltrating lymphocyte, TIL)上的表达水平与疾病严重程度呈正相关, 与卡诺夫斯基体能状态(Karnofsky performance status, KPS)评分呈负相关, 表明其参与了胶质瘤的进展调控。从 NSCLC 患者的血浆中分离得到的总外泌体蛋白、外泌体 TIM-3 和外泌体 Galectin-9 与肿瘤大小、进展和转移呈正相关^[129]。来自脑脊液的 GBM-exo 含有一种独特的蛋白质 LGALS9 配体, 它与 DCs 的 TIM-3 受体结合, 抑制 DCs 的抗原识别、加工和呈递, 导致细胞毒性 T 细胞介导的抗肿瘤免疫反应, 阻断 GBM 肿瘤分泌外泌体 Lgals9 可导致小鼠表现出持续的 DCs 抗原呈递活性和持久的抗肿瘤免疫^[130]。

淋巴细胞活化基因 3 (lymphocyte activation gene-3, LAG-3) 和具有 IG 结构和 ITIM 结构域的 T 细胞免疫受体(T cell immunoreceptor with Ig and ITIM domains, TIGIT)等免疫检查点也被证实存在于肿瘤的外泌体中^[129], 但鲜有关于其在外泌体中转移、表达和参与肿瘤免疫调节的相关报道, 仍需进一步探索。

3.4 对抗耐药性

3.4.1 GBM 产生耐药性的分子机制

GBM 高复发和难治愈的原因主要是其对常

规放疗和化疗存在高度抵抗力,并且不适合有效的手术切除。究其耐药机制,首先是大脑中存在 BBB 和 BBTB,几乎所有的大分子量治疗剂(例如:重组蛋白和肽、抗体和病毒载体)以及 98% 的低分子量药物都难以穿过 BBB^[131];其次,GBM 的耐药性与其异质性、超突变、Warburg 效应、免疫逃避和肿瘤激活中选择性剪接途径等有关。虽然 GSCs 在 GBM 细胞中仅占 1%,但其干细胞群体干性为形成具有生长优势和传播突变的特定克隆细胞群创造了条件,导致再生肿瘤异质性,对标准化疗药物和靶向治疗产生耐药性,致使大多数肿瘤复发^[132]。

约 90% 的 GBM 存在 RTK 失调,常导致 PDGFR 和 EGFR 的扩增或突变;RTK 异常激活主要启动和维持 MAPK 与 Akt 两条下游通路的信号传导;88% 的 GBM 发生 PI3K/Akt 通路失调,Akt 在促进 GBM 细胞的化学抗性中起关键作用,其下游靶标丙酮酸脱氢酶激酶 1 (pyruvate dehydrogenase kinase-I, PDK1)、HIF-1、FoxO3a 和 NK- κ B 具有累积效应,当它们突变或受到上游失调的干扰时,容易产生耐药性^[132]。

超突变主要有 DNA 聚合酶结构缺陷和错配修复基因等途径,后者与 GBM 的化疗获得性耐药相关。O⁶-甲基鸟嘌呤 DNA 甲基转移酶(O⁶-methylguanine-DNA methyltransferase, MGMT)为一种内源性 DNA 修复酶,其在胶质瘤组织中的表达与对烷化剂的耐药性相关。例如:烷化剂类抗肿瘤药物——替莫唑胺 (temozolomide, TMZ)的烷化活性优先发生在鸟嘌呤的 N⁷、腺嘌呤的 O³ 和鸟嘌呤的 O⁶ 处,导致碱基配对不当和 DNA 双链断裂,胶质瘤组织中内源性 DNA 修复酶(包括 MGMT)的作用机制可抵消 TMZ 引起的这种 DNA 损伤,从而对烷化剂产生耐药。MGMT 的表达由其启动子区域的 CpG 岛甲基化决定,MGMT 启动子的高甲基化会导致 MGMT 蛋白表

达降低,从而增强 TMZ 的疗效,延长 GBM 患者的生存期^[132]。

3.4.2 外泌体对抗 GBM 耐药性的机制

外泌体 miR-301a 有助于 GBM 对放疗的抵抗。在缺氧条件下,GBM-exo 中的 miR-301a 可以直接靶向抑制 GBM 细胞抑癌基因 *tceal7* 的表达,*tceal7* 水平的下降有助于促进 β -catenin 从细胞质到细胞核的易位,激活 Wnt/ β -catenin 信号通路,促进 GBM 的发展。且 miR-301a 参与调节 GBM 细胞的放射增敏作用,下调 miR-301a 或过表达 *tceal7* 能增加 GBM 细胞对辐射的敏感性,经辐射处理的 GBM 细胞与外泌体 miR-301a 或 *tceal7* 共孵育能恢复细胞凋亡能力。因此,Exo-miR-301a/*tceal7* 信号轴可能是逆转 GBM 细胞对放疗耐药的新靶点^[133]。

癌症干细胞(cancer stem cells, CSCs)通过优先激活 DNA 损伤检查点反应和增加 DNA 修复能力来促进 GBM 的抗辐射性。CD133 (prominin-1)是 GBM 的预后生物标志物,在电离辐射下,CD133⁺ GBM 细胞的存活率增加;生物传感器检测到血清和脑脊液衍生的外泌体中存在大量 CD133^[134],CD133⁺肿瘤细胞可能是放疗后 GBM 复发的原因。因此,靶向 CSCs 中 DNA 损伤检查点反应和外泌体生物标记物有望克服这种放疗抗性^[135]。

TMZ 是目前临床上治疗 GBM 常用的化学药物,GBM 细胞的耐药性降低了其疗效。以持续低剂量的 TMZ 刺激 GBM,能促进 GSCs 的产生和含有 PD-L1 的外泌体分泌,外泌体的 PD-L1 能够激活 AMPK/ULK1 信号级联,介导抑制细胞凋亡,促进细胞自噬以增加对 TMZ 的细胞抗性^[136]。通过来自 GBM 细胞的重组外泌体携带 TMZ 和二氢丹参酮(dihydrotanshinone, DHT)能够克服 BBB 障碍,靶向肿瘤部位,达到增强药物递送和逆转耐药性的效果^[137]。此外,miRNA

(miR-21 和 miR-1238)、lncRNA (*malat1*、*sbf2 as1* 和 *h19*) 和 circRNA (*circnfix*、*circ0043949*、*circasap1*、*circchipk3* 和 *circ0000936*)可能诱导 GBM 细胞对 TMZ 的耐药性,然而,miR-139、miR-143、miR-29c、miR-603、miR-181d 和 miR-151a 等 miRNA 以及 lncRNA *casc2* 则能抑制 GBM 细胞的 TMZ 耐药性^[138]。

组蛋白脱乙酰酶 (histone deacetylase, HDAC)1/2/6/特异性蛋白 1 (specificity protein 1, Sp1)通路能够通过上调 B 细胞淋巴瘤滤过性病毒插入位点 1 (B cell-specific Mo-MLV integration site-1, Bmi1) 和人端粒酶反转录酶 (human telomerase reverse transcriptase, hTERT)的水平,调节 G2/M 进程和 DNA 修复等途径促进恶性肿瘤细胞的增殖,与 GBM 的临床疗效差密切相关^[139]。组蛋白去乙酰化酶抑制剂 (histone deacetylases inhibitors, HDACis)可以通过抑制胰岛素样生长因子结合蛋白 3 (insulin-like growth factor-binding protein 3, IGFBP-3)、p21、增殖细胞核抗原 (proliferating cell nuclear antigen, PCNA) 和 *c-myc* 介导的细胞增殖,下调细胞周期蛋白 D1/周期蛋白依赖性激酶 4 (cyclin-dependent kinase 4, CDK4)、CDK6、细胞周期蛋白 E/CDK2 而使细胞周期停滞,上调凋亡相关因子 caspases-3、caspases-7、caspases-8、caspases-9、B 淋巴细胞瘤-2 基因 (B-cell lymphoma-2, bcl-2)、Fas 相关死亡域蛋白 (Fas-associated with death domain protein, Fadd)、肿瘤坏死因子受体 1 型相关死亡结构域蛋白质 (tumor necrosis factor receptor type 1-associated death domain protein, Tradd)、Tra1 和衰老相关 β -半乳糖苷酶 (senescence-associated beta-galactosidase, SA- β -gal) 诱导癌细胞凋亡或衰老,抑制 VEGF 活性而阻碍血管生成等途径,作为新兴的抗癌药^[140]。HDAC1/2/6 抑制剂 MPT0B291 能够诱导 G2 期向 M 期过渡停滞,使

对替莫唑胺耐药的 GBM 细胞和 GSCs 衰老^[139]; HDACi RGFP109 可通过下调转录因子 κ B 调节的抗凋亡蛋白表达,减弱 p65 与 κ B-DNA 之间的结合,逆转 GBM 细胞系 U251 细胞对替莫唑胺的耐药^[141]。

4 小结与展望

GBM 独特的肿瘤免疫微环境和传统疗法难以有效克服 BBB 阻碍了其新疗法的开发,患者的不良预后和总体生存率低下仍需亟待解决。外泌体因能跨越 BBB,在治疗脑癌方面具有药物安全、药物释放可控和有效靶向等优势,而且,外泌体作为脑肿瘤的诊断和预后标志物也已取得重大进展。GBM-exo 在调控 GBM 细胞增殖、血管生成、肿瘤生长免疫抑制微环境和对抗肿瘤耐药性等方面发挥重要作用,有望成为治疗 GBM 的靶标。但是,关于 GBM-exo 的生成及分离策略、所携带物质成分及其相关作用机制解析,以及其在细胞间发挥作用的分子机制等尚未完全清晰。因此,开发基于外泌体的精准靶向个性化 GBM 疗法还需进一步研究。

REFERENCES

- [1] LOUIS DN, PERRY A, WESSELING P, BRAT DJ, CREE IA, FIGARELLA-BRANGER D, HAWKINS C, NG HK, PFISTER SM, REIFENBERGER G, SOFFIETTI R, von DEIMLING A, ELLISON DW. The 2021 WHO classification of tumors of the central nervous system: a summary[J]. *Neuro-Oncology*, 2021, 23(8): 1231-1251.
- [2] OSTROM QT, PATIL N, CIOFFI G, WAITE K, KRUCHKO C, BARNHOLTZ-SLOAN JS. CBTRUS statistical report: primary brain and other central nervous system tumors diagnosed in the United States in 2013-2017[J]. *Neuro-Oncology*, 2020, 22(supplement_1): iv1-iv96.
- [3] STUPP R, LUKAS RV, HEGI ME. Improving survival in molecularly selected glioblastoma[J]. *Lancet* (London, England), 2019, 393(10172): 615-617.

- [4] YANG Q, WEI B, PENG C, WANG L, LI C. Identification of serum exosomal miR-98-5p, miR-183-5p, miR-323-3p and miR-19b-3p as potential biomarkers for glioblastoma patients and investigation of their mechanisms[J]. *Current Research in Translational Medicine*, 2022, 70(1): 103315.
- [5] NARYZHNY S, VOLNITSKIY A, KOPYLOV A, ZORINA E, KAMYSHINSKY R, BAIRAMUKOV V, GARAEVA L, SHLIKHT A, SHTAM T. Proteome of glioblastoma-derived exosomes as a source of biomarkers[J]. *Biomedicines*, 2020, 8(7): 216.
- [6] WONG QHW, LI KKW, WANG WW, MALTA TM, NOUSHMEHR H, GRABOVSKA Y, JONES C, CHAN AKY, KWAN JSH, HUANG QJQ, WONG GCH, LI WC, LIU XZ, CHEN H, CHAN DTM, MAO Y, ZHANG ZY, SHI ZF, NG HK. Molecular landscape of IDH-mutant primary astrocytoma grade IV/glioblastomas[J]. *Modern Pathology*, 2021, 34(7): 1245-1260.
- [7] GUSYATINER O, HEGI ME. Glioma epigenetics: from subclassification to novel treatment options[J]. *Seminars in Cancer Biology*, 2018, 51: 50-58.
- [8] TAN AC, ASHLEY DM, LÓPEZ GY, MALINZAK M, FRIEDMAN HS, KHASRAW M. Management of glioblastoma: state of the art and future directions[J]. *CA: a Cancer Journal for Clinicians*, 2020, 70(4): 299-312.
- [9] GIERYNG A, PSZCZOLKOWSKA D, WALENTYNOWICZ KA, RAJAN WD, KAMINSKA B. Immune microenvironment of gliomas[J]. *Laboratory Investigation*, 2017, 97(5): 498-518.
- [10] KALLURI R, LeBLEU VS. The biology, function, and biomedical applications of exosomes[J]. *Science*, 2020, 367(6478): eaau6977.
- [11] BĂLAȘA A, ȘERBAN G, CHINEZU R, HURGHİȘ C, TĂMAȘ F, MANU D. The involvement of exosomes in glioblastoma development, diagnosis, prognosis, and treatment[J]. *Brain Sciences*, 2020, 10(8): 553.
- [12] GURUNATHAN S, KANG MH, JEYARAJ M, QASIM M, KIM JH. Review of the isolation, characterization, biological function, and multifarious therapeutic approaches of exosomes[J]. *Cells*, 2019, 8(4): 307.
- [13] YANG DB, ZHANG WH, ZHANG HY, ZHANG FQ, CHEN LM, MA LX, LARCHER LM, CHEN SX, LIU N, ZHAO QX, TRAN PHL, CHEN CY, VEEDU RN, WANG T. Progress, opportunity, and perspective on exosome isolation-efforts for efficient exosome-based theranostics[J]. *Theranostics*, 2020, 10(8): 3684-3707.
- [14] COUGHLAN C, BRUCE KD, BURG Y O, BOYD TD, MICHEL CR, GARCIA-PEREZ JE, ADAME V, ANTON P, BETTCHER BM, CHIAL HJ, KÖNIGSHOFF M, HSIEH EWY, GRANER M, POTTER H. Exosome isolation by ultracentrifugation and precipitation and techniques for downstream analyses[J]. *Current Protocols in Cell Biology*, 2020, 88(1): e110.
- [15] SIDHOM K, OBI PO, SALEEM A. A review of exosomal isolation methods: is size exclusion chromatography the best option?[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2020, 21(18): 6466.
- [16] CHEN JC, LI PL, ZHANG TY, XU ZP, HUANG XW, WANG RM, DU LT. Review on strategies and technologies for exosome isolation and purification[J]. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 2022, 9: 811971.
- [17] SHAO NY, XUE L, WANG R, LUO KM, ZHI F, LAN Q. MiR-454-3p is an exosomal biomarker and functions as a tumor suppressor in glioma[J]. *Molecular Cancer Therapeutics*, 2019, 18(2): 459-469.
- [18] SHARIF S, GHAREMANI MH, SOLEIMANI M. Delivery of exogenous miR-124 to glioblastoma multiform cells by Wharton's jelly mesenchymal stem cells decreases cell proliferation and migration, and confers chemosensitivity[J]. *Stem Cell Reviews and Reports*, 2018, 14(2): 236-246.
- [19] AUGER C, BRUNEL A, DARBAS T, AKIL H, PERRAUD A, BÉGAUD G, BESSETTE B, CHRISTOU N, VERDIER M. Extracellular vesicle measurements with nanoparticle tracking analysis: a different appreciation of up and down secretion[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2022, 23(4): 2310.
- [20] LYU TS, AHN Y, IM YJ, KIM SS, LEE KH, KIM J, CHOI Y, LEE D, KANG E, JIN G, HWANG J, LEE SI, CHO JA. The characterization of exosomes from fibrosarcoma cell and the useful usage of dynamic light scattering (DLS) for their evaluation[J]. *PLoS One*, 2021, 16(1): e0231994.
- [21] JIA R, ROTENBERG SA, MIRKIN MV. Electrochemical resistive-pulse sensing of extracellular vesicles[J]. *Analytical Chemistry*, 2022, 94(37): 12614-12620.
- [22] ZHANG Y, JU TY, GAO MY, SONG ZX, XU HM, WANG ZB, WANG Y. Electrical characterization of tumor-derived exosomes by conductive atomic force microscopy[J]. *Nanotechnology*, 2022, 33(29): 295103.

- [23] ZHANG YH, WANG J. Inflammasome-derived exosomes isolation and imaging by transmission electron microscopy[J]. *Methods in Molecular Biology*(Clifton, N J), 2022, 2459: 131-136.
- [24] THEODORAKI MN, HONG CS, DONNENBERG VS, DONNENBERG AD, WHITESIDE TL. Evaluation of exosome proteins by on-bead flow cytometry[J]. *Cytometry Part A: the Journal of the International Society for Analytical Cytology*, 2021, 99(4): 372-381.
- [25] MASHOURI L, YOUSEFI H, AREF AR, AHADI AM, MOLAEI F, ALAHARI SK. Exosomes: composition, biogenesis, and mechanisms in cancer metastasis and drug resistance[J]. *Molecular Cancer*, 2019, 18(1): 75.
- [26] GU WJ, SHEN YW, ZHANG LJ, ZHANG H, NAGLE DG, LUAN X, LIU SH. The multifaceted involvement of exosomes in tumor progression: induction and inhibition[J]. *MedComm*, 2021, 2(3): 297-314.
- [27] XU R, RAI A, CHEN MS, SUWAKULSIRI W, GREENING DW, SIMPSON RJ. Extracellular vesicles in cancer—implications for future improvements in cancer care[J]. *Nature Reviews Clinical Oncology*, 2018, 15(10): 617-638.
- [28] LI KY, CHEN YH, LI A, TAN CL, LIU XB. Exosomes play roles in sequential processes of tumor metastasis[J]. *International Journal of Cancer*, 2019, 144(7): 1486-1495.
- [29] HAN L, -F LAM EW, SUN Y. Extracellular vesicles in the tumor microenvironment: old stories, but new tales[J]. *Molecular Cancer*, 2019, 18(1): 59.
- [30] MONTEMURRO N. Glioblastoma multiforme and genetic mutations: the issue is not over yet. an overview of the current literature[J]. *Journal of Neurological Surgery Part A, Central European Neurosurgery*, 2020, 81(1): 64-70.
- [31] QUEZADA C, TORRES Á, NIECHI I, URIBE D, CONTRERAS-DUARTE S, TOLEDO F, SAN MARTÍN R, GUTIÉRREZ J, SOBREVIA L. Role of extracellular vesicles in glioma progression[J]. *Molecular Aspects of Medicine*, 2018, 60: 38-51.
- [32] CHOI D, MONTERMINI L, KIM DK, MEEHAN B, ROTH FP, RAK J. The impact of oncogenic EGFRvIII on the proteome of extracellular vesicles released from glioblastoma cells[J]. *Molecular & Cellular Proteomics: MCP*, 2018, 17(10): 1948-1964.
- [33] BENITEZ JA, MA JH, D'ANTONIO M, BOYER A, CAMARGO MF, ZANCA C, KELLY S, KHODADADI-JAMAYRAN A, JAMESON NM, ANDERSEN M, MILETIC H, SABERI S, FRAZER KA, CAVENEE WK, FURNARI FB. PTEN regulates glioblastoma oncogenesis through chromatin-associated complexes of DAXX and histone H3.3[J]. *Nature Communications*, 2017, 8: 15223.
- [34] DAVIS ME. Glioblastoma: overview of disease and treatment[J]. *Clinical Journal of Oncology Nursing*, 2016, 20(5 suppl): S2-S8.
- [35] LITMANOVICH A, KHAZIM K, COHEN I. The role of interleukin-1 in the pathogenesis of cancer and its potential as a therapeutic target in clinical practice[J]. *Oncology and Therapy*, 2018, 6(2): 109-127.
- [36] HÜBNER M, EFFINGER D, WU T, STRAUß G, POGODA K, KRETH FW, KRETH S. The IL-1 antagonist anakinra attenuates glioblastoma aggressiveness by dampening tumor-associated inflammation[J]. *Cancers*, 2020, 12(2):433.
- [37] KAI K, KOMOHARA Y, ESUMI S, FUJIWARA Y, YAMAMOTO T, UEKAWA K, OHTA K, TAKEZAKI T, KURODA J, SHINOJIMA N, HAMASAKI T, MUKASA A. Macrophage/microglia-derived IL-1 β induces glioblastoma growth *via* the STAT3/NF- κ B pathway[J]. *Human Cell*, 2022, 35(1): 226-237.
- [38] SAREEN H, GARRETT C, LYNCH D, POWTER B, BRUNGS D, COOPER A, PO J, KOH ES, VESSEY JY, McKECHNIE S, BAZINA R, SHERIDAN M, GELDER JV, DARWISH B, JAEGER M, ROBERTS TL, de SOUZA P, BECKER TM. The role of liquid biopsies in detecting molecular tumor biomarkers in brain cancer patients[J]. *Cancers*, 2020, 12(7): 1831.
- [39] MATARREDONA ER, PASTOR AM. Extracellular vesicle-mediated communication between the glioblastoma and its microenvironment[J]. *Cells*, 2019, 9(1): 96.
- [40] KIM H, HUANG W, JIANG XL, PENNICOOKE B, PARK PJ, JOHNSON MD. Integrative genome analysis reveals an oncomir/oncogene cluster regulating glioblastoma survivorship[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2010, 107(5): 2183-2188.
- [41] ABELS ER, MAAS SLN, NIELAND L, WEI ZY, CHEAH PS, TAI E, KOLSTEEG CJ, DUSOSWA SA, TING DT, HICKMAN S, EL KHOURY J, KRICHEVSKY AM, BROEKMAN MLD, BREAKEFIELD XO. Glioblastoma-associated microglia reprogramming is mediated by functional transfer of extracellular miR-21[J]. *Cell Reports*, 2019, 28(12): 3105-3119.e7.
- [42] CAI Q, ZHU A, GONG L. Exosomes of glioma cells

- deliver miR-148a to promote proliferation and metastasis of glioblastoma *via* targeting CADM1[J]. *Bulletin Du Cancer*, 2018, 105(7/8): 643-651.
- [43] AILI Y, MAIMAITIMING N, MAHEMUTI Y, QIN H, WANG YX, WANG ZL. The role of exosomal miRNAs in glioma: biological function and clinical application[J]. *Frontiers in Oncology*, 2021, 11: 686369.
- [44] THURINGER D, CHANTELOUP G, BOUCHER J, PERNET N, BOUDESCO C, JEGO G, CHATELIER A, BOIS P, GOBBO J, CRONIER L, SOLARY E, GARRIDO C. Modulation of the inwardly rectifying potassium channel Kir4.1 by the pro-invasive miR-5096 in glioblastoma cells[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(23): 37681-37693.
- [45] CHEN X, YANG F, ZHANG TZ, WANG W, XI WJ, LI YF, ZHANG D, HUO Y, ZHANG JN, YANG AG, WANG T. MiR-9 promotes tumorigenesis and angiogenesis and is activated by MYC and OCT4 in human glioma[J]. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research: CR*, 2019, 38(1): 99.
- [46] ZHAO K, WANG LL, LI T, ZHU M, ZHANG C, CHEN L, ZHAO PF, ZHOU H, YU SP, YANG XJ. The role of miR-451 in the switching between proliferation and migration in malignant glioma cells: AMPK signaling, mTOR modulation and Rac1 activation required[J]. *International Journal of Oncology*, 2017, 50(6): 1989-1999.
- [47] XU HY, ZHAO GF, ZHANG Y, JIANG H, WANG WY, ZHAO DH, HONG J, YU HQ, QI L. Mesenchymal stem cell-derived exosomal microRNA-133b suppresses glioma progression *via* Wnt/ β -catenin signaling pathway by targeting EZH2[J]. *Stem Cell Research & Therapy*, 2019, 10(1): 381.
- [48] YU L, GUI S, LIU YW, QIU XY, ZHANG GZ, ZHANG XA, PAN J, FAN J, QI ST, QIU BH. Exosomes derived from microRNA-199a-overexpressing mesenchymal stem cells inhibit glioma progression by down-regulating AGAP2[J]. *Aging*, 2019, 11(15): 5300-5318.
- [49] SHEN L, SUN CM, LI YY, LI XT, SUN T, LIU CJ, ZHOU YX, DU ZW. MicroRNA-199a-3p suppresses glioma cell proliferation by regulating the AKT/mTOR signaling pathway[J]. *Tumor Biology*, 2015, 36(9): 6929-6938.
- [50] KIM R, LEE S, LEE J, KIM M, KIM WJ, LEE HW, LEE MY, KIM J, CHANG W. Exosomes derived from microRNA-584 transfected mesenchymal stem cells: novel alternative therapeutic vehicles for cancer therapy[J]. *BMB Reports*, 2018, 51(8): 406-411.
- [51] YAN TF, WU MJ, LV SG, HU Q, XU WH, ZENG AL, HUANG K, ZHU XG. Exosomes derived from microRNA-512-5p-transfected bone mesenchymal stem cells inhibit glioblastoma progression by targeting JAG1[J]. *Aging*, 2021, 13(7): 9911-9926.
- [52] SHI L, CAO Y, YUAN W, GUO J, SUN G. Exosomal circRNA BTG2 derived from RBP-J overexpressed-macrophages inhibits glioma progression *via* miR-25-3p/PTEN[J]. *Cell Death & Disease*, 2022, 13: 506.
- [53] WANG H, FENG JG, AO F, TANG YQ, XU PL, WANG M, HUANG M. Tumor-derived exosomal microRNA-7-5p enhanced by verbascoside inhibits biological behaviors of glioblastoma *in vitro* and *in vivo*[J]. *Molecular Therapy Oncolytics*, 2020, 20: 569-582.
- [54] MONFARED H, JAHANGARD Y, NIKKHAH M, MIRNAJAFI-ZADEH J, MOWLA SJ. Potential therapeutic effects of exosomes packed with a miR-21-sponge construct in a rat model of glioblastoma[J]. *Frontiers in Oncology*, 2019, 9: 782.
- [55] LI L, SHAO MY, ZOU SC, XIAO ZF, CHEN ZC. MiR-101-3p inhibits EMT to attenuate proliferation and metastasis in glioblastoma by targeting TRIM44[J]. *Journal of Neuro-Oncology*, 2019, 141(1): 19-30.
- [56] LIU N, ZHANG L, WANG Z, CHENG YD, ZHANG PX, WANG X, WEN WH, YANG HW, LIU H, JIN WL, ZHANG YS, TU YY. MicroRNA-101 inhibits proliferation, migration and invasion of human glioblastoma by targeting SOX9[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(12): 19244-19254.
- [57] CAO QC, SHI YG, WANG XX, YANG J, MI Y, ZHAI G, ZHANG MZ. Circular METRN RNA hsa_circ_0037251 promotes glioma progression by sponging miR-1229-3p and regulating mTOR expression[J]. *Scientific Reports*, 2019, 9: 19791.
- [58] WANG XX, CAO QC, SHI YG, WU XL, MI Y, LIU K, KAN QC, FAN RT, LIU ZS, ZHANG MZ. Identification of low-dose radiation-induced exosomal circ-METRN and miR-4709-3p/GRB14/PDGFR α pathway as a key regulatory mechanism in glioblastoma progression and radioresistance: functional validation and clinical theranostic significance[J]. *International Journal of Biological Sciences*, 2021, 17(4): 1061-1078.
- [59] MA WJ, ZHOU Y, LIU M, QIN QL, CUI Y. Long

- non-coding RNA LINC00470 in serum derived exosome: a critical regulator for proliferation and autophagy in glioma cells[J]. *Cancer Cell International*, 2021, 21(1): 149.
- [60] TAN SK, PASTORI C, PENAS C, KOMOTAR RJ, IVAN ME, WAHLESTEDT C, AYAD NG. Serum long noncoding RNA HOTAIR as a novel diagnostic and prognostic biomarker in glioblastoma multiforme[J]. *Molecular Cancer*, 2018, 17(1): 74.
- [61] 曹永胜, 何昊沅, 陈丹, 郭洪波, 姚亮. lncRNA FAM95B1 在胶质瘤中的表达及其影响 LN382 细胞增殖和迁移的可能机制[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2021, 28(8): 790-795.
- CAO YS, HE HY, CHEN D, GUO HB, YAO L. Expression of lncRNA FAM95B1 in glioma and the possible mechanism of its effect on the proliferation and migration of LN382 cells[J]. *Chinese Journal of Cancer Biotherapy*, 2021, 28(8): 790-795 (in Chinese).
- [62] LIANG SF, ZUO FF, YIN BC, YE BC. Delivery of siRNA based on engineered exosomes for glioblastoma therapy by targeting STAT3[J]. *Biomaterials Science*, 2022, 10(6): 1582-1590.
- [63] PACE KR, DUTT R, GALILEO DS. Exosomal L1CAM stimulates glioblastoma cell motility, proliferation, and invasiveness[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2019, 20(16): 3982.
- [64] SUN Z, WANG L, ZHOU YL, DONG LH, MA WC, LV L, ZHANG J, WANG XJ. Glioblastoma stem cell-derived exosomes enhance stemness and tumorigenicity of glioma cells by transferring Notch1 protein[J]. *Cellular and Molecular Neurobiology*, 2020, 40(5): 767-784.
- [65] AZAMBUJA JH, LUDWIG N, YERNENI SS, BRAGANHOL E, WHITESIDE TL. Arginase-1+ exosomes from reprogrammed macrophages promote glioblastoma progression[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2020, 21(11): 3990.
- [66] 谢登峰, 邱小燕, 熊春霞, 李云鑫, 褚新月, 黄云, 李彤, OTIENO Edward, 姜江, 肖雄. 哺乳动物少突胶质细胞分化、成熟和功能化的研究进展[J]. *中国细胞生物学学报*, 2020, 42(8): 1443-1456.
- XIE DF, QIU XY, XIONG CX, LI YX, CHU XY, HUANG Y, LI T, OTIENO E, JIANG J, XIAO X. Research progress in differentiation, maturation, and functionalization of oligodendrocytes in mammal[J]. *Chinese Journal of Cell Biology*, 2020, 42(8): 1443-1456 (in Chinese).
- [67] MUKHERJEE S, TUCKER-BURDEN C, KAISSI E, NEWSAM A, DUGGIREDDY H, CHAU M, ZHANG CM, DIWEDI B, RUPJI M, SEBY S, KOWALSKI J, KONG J, READ R, BRAT DJ. CDK5 inhibition resolves PKA/cAMP-independent activation of CREB1 signaling in glioma stem cells[J]. *Cell Reports*, 2018, 23(6): 1651-1664.
- [68] HAO QY, WU Y, WU YY, WANG PW, VADGAMA JV. Tumor-derived exosomes in tumor-induced immune suppression[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2022, 23(3): 1461.
- [69] VAIDYA M, SUGAYA K. DNA associated with circulating exosomes as a biomarker for glioma[J]. *Genes*, 2020, 11(11): 1276.
- [70] SALAUD C, ALVAREZ-ARENAS A, GERALDO F, BELMONTE-BEITIA J, CALVO GF, GRATAS C, PECQUEUR C, GARNIER D, PÉREZ-GARCÍA V, VALLETTE FM, OLIVER L. Mitochondria transfer from tumor-activated stromal cells (TASC) to primary glioblastoma cells[J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2020, 533(1): 139-147.
- [71] SHI J, ZHANG Y, YAO B, SUN PX, HAO YY, PIAO HZ, ZHAO X. Role of exosomes in the progression, diagnosis, and treatment of gliomas[J]. *Medical Science Monitor: International Medical Journal of Experimental and Clinical Research*, 2020, 26: e924023.
- [72] FENG JB, REN X, FU HJ, LI D, CHEN XG, ZU XY, LIU Q, WU MH. LRRC4 mediates the formation of circular RNA CD44 to inhibit GBM cell proliferation[J]. *Molecular Therapy Nucleic Acids*, 2021, 26: 473-487.
- [73] CHEN JK, WANG HD, WANG JJ, NIU WH, DENG CL, ZHOU ML. LncRNA NEAT1 enhances glioma progression via regulating the miR-128-3p/ITGA5 axis[J]. *Molecular Neurobiology*, 2021, 58(10): 5163-5177.
- [74] QIAN MY, WANG SB, GUO XF, WANG J, ZHANG ZP, QIU W, GAO X, CHEN ZH, XU JY, ZHAO RR, XUE H, LI G. Hypoxic glioma-derived exosomes deliver microRNA-1246 to induce M2 macrophage polarization by targeting TERF2IP via the STAT3 and NF- κ B pathways[J]. *Oncogene*, 2020, 39(2): 428-442.
- [75] XIE P, LI X, CHEN R, LIU Y, LIU DC, LIU WG, CUI G, XU JJ. Upregulation of HOTAIRM1 increases migration and invasion by glioblastoma cells[J]. *Aging*, 2020, 13(2): 2348-2364.
- [76] WEN J, LI X, DING Y, ZHENG SH, XIAO Y. Lidocaine inhibits glioma cell proliferation, migration

- and invasion by modulating the circEZH2/miR-181b-5p pathway[J]. *Neuroreport*, 2021, 32(1): 52-60.
- [77] FENG ZY, ZHANG LP, ZHOU JC, ZHOU S, LI L, GUO XY, FENG GY, MA Z, HUANG WH, HUANG F. Mir-218-2 promotes glioblastomas growth, invasion and drug resistance by targeting CDC27[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(4): 6304-6318.
- [78] YANG ZY, WANG Y, LIU Q, WU M. MicroRNA cluster MC-let-7a-1~let-7d promotes autophagy and apoptosis of glioma cells by down-regulating STAT3[J]. *CNS Neuroscience & Therapeutics*, 2020, 26(3): 319-331.
- [79] KATAKOWSKI M, BULLER B, ZHENG XG, LU Y, ROGERS T, OSOBAMIRO O, SHU W, JIANG F, CHOPP M. Exosomes from marrow stromal cells expressing miR-146b inhibit glioma growth[J]. *Cancer Letters*, 2013, 335(1): 201-204.
- [80] WANG JX, LI TX, WANG B. Exosomal transfer of miR-25-3p promotes the proliferation and temozolomide resistance of glioblastoma cells by targeting FBXW7[J]. *International Journal of Oncology*, 2021, 59(2): 64.
- [81] PENG G, SU J, XIAO SH, LIU Q. *LINC00152* acts as a potential marker in gliomas and promotes tumor proliferation and invasion through the *LINC00152/miR-107/RAB10* axis[J]. *Journal of Neuro-Oncology*, 2021, 154(3): 285-299.
- [82] CHEN L, WANG YH, HE JQ, ZHANG CL, CHEN JH, SHI DL. Long noncoding RNA H19 promotes proliferation and invasion in human glioma cells by downregulating miR-152[J]. *Oncology Research*, 2018, 26(9): 1419-1428.
- [83] CHAI Y, WU HT, LIANG CD, YOU CY, XIE MX, XIAO SW. Exosomal lncRNA ROR1-AS1 derived from tumor cells promotes glioma progression via regulating miR-4686[J]. *International Journal of Nanomedicine*, 2020, 15: 8863-8872.
- [84] ZHANG SD, GUAN N, MAO X, CUI JW, SUI X, GUO WS. Exosomal circRNA_104948 enhances the progression of glioma by regulating miR-29b-3p and DNMT3B/MTSS1 signaling[J]. *Journal of Environmental Pathology, Toxicology and Oncology: Official Organ of the International Society for Environmental Toxicology and Cancer*, 2022, 41(2): 47-59.
- [85] WANG D, FU CW, FAN DQ. Participation of tumor suppressors long non-coding RNA MEG3, microRNA-377 and PTEN in glioma cell invasion and migration[J]. *Pathology-Research and Practice*, 2019, 215(10): 152558.
- [86] ZHENG J, LI XD, WANG P, LIU XB, XUE YX, HU Y, LI Z, LI ZQ, WANG ZH, LIU YH. CRNDE affects the malignant biological characteristics of human glioma stem cells by negatively regulating miR-186[J]. *Oncotarget*, 2015, 6(28): 25339-25355.
- [87] ZHANG XY, WANG SY, LIN GH, WANG D. Down-regulation of circ-PTN suppresses cell proliferation, invasion and glycolysis in glioma by regulating miR-432-5p/RAB10 axis[J]. *Neuroscience Letters*, 2020, 735: 135153.
- [88] BOUZARI B, MOHAMMADI S, BOKOV DO, KRASNYUK II, HOSSEINI-FARD SR, HAJIBABA M, MIRZAEI R, KARAMPOOR S. Angioregulatory role of miRNAs and exosomal miRNAs in glioblastoma pathogenesis[J]. *Biomedicine & Pharmacotherapy=Biomedecine & Pharmacotherapie*, 2022, 148: 112760.
- [89] BALANDEH E, MOHAMMADSHAFIE K, MAHMOUDI Y, HOSSEIN POURHANIFEH M, RAJABI A, BAHABADI ZR, MOHAMMADI AH, RAHIMIAN N, HAMBLIN MR, MIRZAEI H. Roles of non-coding RNAs and angiogenesis in glioblastoma[J]. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 2021, 9: 716462.
- [90] YADAV J, AGGARWAL N, CHAUDHARY A, TRIPATHI T, BARUAH D, CHHAKARA S, JANJUA D, CHHOKAR A, THAKUR K, SENRUNG A, CHANDRA BHARTI A. Role of Exosomes in Tumor induced Neo-Angiogenesis[A]//*Tumor Angiogenesis and Modulators[M]*. London: IntechOpen, 2022.
- [91] LI JJ, YUAN HL, XU H, ZHAO HY, XIONG NX. Hypoxic cancer-secreted exosomal miR-182-5p promotes glioblastoma angiogenesis by targeting kruppel-like factor 2 and 4[J]. *Molecular Cancer Research: MCR*, 2020, 18(8): 1218-1231.
- [92] OLEJARZ W, KUBIAK-TOMASZEWSKA G, CHRZANOWSKA A, LORENC T. Exosomes in angiogenesis and anti-angiogenic therapy in cancers[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2020, 21(16): 5840.
- [93] WANG ZM, YUAN YF, JI X, XIAO X, LI ZJ, YI X, ZHU Y, GUO TN, WANG Y, CHEN L, LIU Y. The hippo-TAZ axis mediates vascular endothelial growth factor C in glioblastoma-derived exosomes to promote angiogenesis[J]. *Cancer Letters*, 2021, 513: 1-13.

- [94] MONTEFORTE A, LAM B, SHERMAN MB, HENDERSON K, SLIGAR AD, SPENCER A, TANG B, DUNN AK, BAKER AB. Glioblastoma exosomes for therapeutic angiogenesis in peripheral ischemia[J]. *Tissue Engineering Part A*, 2017, 23(21/22): 1251-1261.
- [95] WANG M, ZHAO Y, YU ZY, ZHANG RD, LI S, ZHANG P, SHAN TK, LIU XY, WANG ZM, ZHAO PC, SUN HW. Glioma exosomal microRNA-148a-3p promotes tumor angiogenesis through activating the EGFR/MAPK signaling pathway *via* inhibiting ERRF1[J]. *Cancer Cell International*, 2020, 20: 518.
- [96] DAI DW, HUANG W, LU Q, CHEN HC, LIU JM, HONG B. miR-24 regulates angiogenesis in gliomas[J]. *Molecular Medicine Reports*, 2018, 18(1): 358-368.
- [97] WANG ZF, LIAO F, WU H, DAI J. Glioma stem cells-derived exosomal miR-26a promotes angiogenesis of microvessel endothelial cells in glioma[J]. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research: CR*, 2019, 38(1): 201.
- [98] SUN X, MA XT, WANG JJ, ZHAO YH, WANG Y, BIHL JC, CHEN YF, JIANG CL. Glioma stem cells-derived exosomes promote the angiogenic ability of endothelial cells through miR-21/VEGF signal[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(22): 36137-36148.
- [99] TAKEDA Y, KOBAYASHI S, KITAKAZE M, YAMADA D, AKITA H, ASAI A, KONNO M, ARAI T, KITAGAWA T, OFUSA K, YABUMOTO M, HIROTSU T, VECCHIONE A, TANIGUCHI M, DOKI Y, EGUCHI H, ISHII H. Immuno-surgical management of pancreatic cancer with analysis of cancer exosomes[J]. *Cells*, 2020, 9(7): 1645.
- [100] RAIMONDO S, PUCCI M, ALESSANDRO R, FONTANA S. Extracellular vesicles and tumor-immune escape: biological functions and clinical perspectives[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2020, 21(7): 2286.
- [101] PREUSSER M, LIM M, HAFLER DA, REARDON DA, SAMPSON JH. Prospects of immune checkpoint modulators in the treatment of glioblastoma[J]. *Nature Reviews Neurology*, 2015, 11(9): 504-514.
- [102] LITAK J, MAZUREK M, GROCHOWSKI C, KAMIENIAK P, ROLIŃSKI J. PD-L1/PD-1 axis in glioblastoma multiforme[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2019, 20(21): 5347.
- [103] SZOPA W, CZEKAJ P, MALARZ K, MROZEK-WILCZKIEWICZ A, PLEWKA D, NIEDBAŁA M, de MEZER M, KRAMER-MAREK G, KASPERA W. Molecular EGFR/PD-L1 profile of glioblastoma: hints for therapeutic strategies[J]. *Annals of Oncology*, 2019, 30: v156.
- [104] WANG J, ZENG H, ZHANG HW, HAN YW. The role of exosomal PD-L1 in tumor immunotherapy[J]. *Translational Oncology*, 2021, 14(5): 101047.
- [105] GABRUSIEWICZ K, LI X, WEI J, HASHIMOTO Y, MARISSETTY AL, OTT M, WANG F, HAWKE D, YU J, HEALY LM, HOSSAIN A, AKERS JC, MAITI SN, YAMASHITA S, SHIMIZU Y, DUNNER K, ZAL MA, BURKS JK, GUMIN J, NWAJEI F, et al. Glioblastoma stem cell-derived exosomes induce M2 macrophages and PD-L1 expression on human monocytes[J]. *OncoImmunology*, 2018, 7(4): e1412909.
- [106] GRIMALDI A, SERPE C, CHECE G, NIGRO V, SARRA A, RUZICKA B, RELUCENTI M, FAMILIARI G, RUOCCO G, PASCUCCI GR, GUERRIERI F, LIMATOLA C, CATALANO M. Microglia-derived microvesicles affect microglia phenotype in glioma[J]. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 2019, 13: 41.
- [107] LAWLER SE, NOWICKI MO, RICKLEFS FL, CHIOCCA EA. Immune escape mediated by exosomal PD-L1 in cancer[J]. *Advanced Biosystems*, 2020, 4(12): e2000017.
- [108] POGGIO M, HU TY, PAI CC, CHU B, BELAIR CD, CHANG A, MONTABANA E, LANG UE, FU Q, FONG L, BLELLOCH R. Suppression of exosomal PD-L1 induces systemic anti-tumor immunity and memory[J]. *Cell*, 2019, 177(2): 414-427.e13.
- [109] DANBARAN GR, ASLANI S, SHARAFKANDI N, HEMMATZADEH M, HOSSEINZADEH R, AZIZI G, JADIDI-NIARAGH F, BABAIE F, MOHAMMADI H. How microRNAs affect the PD-L1 and its synthetic pathway in cancer[J]. *International Immunopharmacology*, 2020, 84: 106594.
- [110] ZENG J, SEE AP, PHALLEN J, JACKSON CM, BELCAID Z, RUZEVIK J, DURHAM N, MEYER C, HARRIS TJ, ALBESIANO E, PRADILLA G, FORD E, WONG J, HAMMERS HJ, MATHIOS D, TYLER B, BREM H, TRAN PT, PARDOLL D, DRAKE CG, et al. Anti-PD-1 blockade and stereotactic radiation produce long-term survival in mice with intracranial gliomas[J]. *International Journal of Radiation Oncology Biology Physics*, 2013, 86(2): 343-349.
- [111] HUANG BY, ZHAN YP, ZONG WJ, YU CJ, LI JF, QU YM, HAN S. The PD-1/B7-H1 pathway modulates the natural killer cells versus mouse glioma stem cells[J].

- PLoS One, 2015, 10(8): e0134715.
- [112] REARDON DA, OMURO A, BRANDES AA, RIEGER J, WICK A, SEPULVEDA J, PHUPHANICH S, de SOUZA P, AHLUWALIA MS, LIM M, VLAHOVIC G, SAMPSON J. OS10.3 randomized phase 3 study evaluating the efficacy and safety of nivolumab vs. bevacizumab in patients with recurrent glioblastoma: checkmate 143[J]. *Neuro-Oncology*, 2017, 19(suppl_3): iii21.
- [113] 李彤. KRP203联合硫酸软骨素酶ABC和外泌体治疗小鼠自身免疫性脑脊髓炎的研究[D]. 重庆: 西南大学硕士学位论文, 2022.
- LI T. Study on KRP203 combined with chondroitinase ABC and exosomes in the treatment of autoimmune encephalomyelitis in mice[D]. Chongqing: Master's Thesis of Southwest University, 2022 (in Chinese).
- [114] TIAN T, LIANG RY, EREL-AKBABA G, SAAD L, OBEID PJ, GAO J, CHIOCCA EA, WEISSELEDER R, TANNOUS BA. Immune checkpoint inhibition in GBM primed with radiation by engineered extracellular vesicles[J]. *ACS Nano*, 2022, 16(2): 1940-1953.
- [115] AZAMBUJA JH, LUDWIG N, YERNENI S, RAO A, BRAGANHOL E, WHITESIDE TL. Molecular profiles and immunomodulatory activities of glioblastoma-derived exosomes[J]. *Neuro-Oncology Advances*, 2020, 2(1): vdaa056.
- [116] ZHANG H, DAI ZY, WU WT, WANG ZY, ZHANG N, ZHANG LY, ZENG WJ, LIU ZX, CHENG Q. Regulatory mechanisms of immune checkpoints PD-L1 and CTLA-4 in cancer[J]. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research: CR*, 2021, 40(1): 184.
- [117] SKAFI N, FAYYAD-KAZAN M, BADRAN B. Immunomodulatory role for microRNAs: regulation of PD-1/PD-L1 and CTLA-4 immune checkpoints expression[J]. *Gene*, 2020, 754: 144888.
- [118] PREDDY I, NANDOLIYA K, MISKA J, AHMED AU. Checkpoint: inspecting the barriers in glioblastoma immunotherapies[J]. *Seminars in Cancer Biology*, 2022, 86(Pt 3): 473-481.
- [119] WANG M, JIA JY, CUI Y, PENG Y, JIANG YG. CD73-positive extracellular vesicles promote glioblastoma immunosuppression by inhibiting T-cell clonal expansion[J]. *Cell Death & Disease*, 2021, 12: 1065.
- [120] LOUSTAU M, ANNA F, DRÉAN R, LECOMTE M, LANGLADE-DEMOYEN P, CAUMARTIN J. HLA-G neo-expression on tumors[J]. *Frontiers in Immunology*, 2020, 11: 1685.
- [121] DUMONT C, JACQUIER A, VERINE J, NOEL F, GOUJON A, WU CL, HUNG TM, DESGRANDCHAMPS F, CULINE S, CAROSELLA ED, ROUAS-FREISS N, LeMAOULT J. CD8⁺PD-1⁻ILT2⁺ T cells are an intratumoral cytotoxic population selectively inhibited by the immune-checkpoint HLA-G[J]. *Cancer Immunology Research*, 2019, 7(10): 1619-1632.
- [122] MARTÍN-VILLA JM, VAQUERO-YUSTE C, MOLINA-ALEJANDRE M, JUAREZ I, SUÁREZ-TRUJILLO F, LÓPEZ-NARES A, PALACIO-GRUBER J, BARRERA-GUTIÉRREZ L, FERNÁNDEZ-CRUZ E, RODRÍGUEZ-SAINZ C, ARNAIZ-VILLENA A. HLA-G: too much or too little? Role in cancer and autoimmune disease[J]. *Frontiers in Immunology*, 2022, 13: 796054.
- [123] KAMINSKI V, ELLWANGER JH, CHIES JAB. Down-regulation of *HLA-G* gene expression as an immunogenetic contraceptive therapy[J]. *Medical Hypotheses*, 2017, 102: 146-149.
- [124] XU HH, LIN AF, YAN WH. HLA-G-Mediated Immunological Tolerance and Autoimmunity[A]//*Translational Autoimmunity[M]*. Amsterdam: Elsevier, 2022: 265-295.
- [125] FENG ES, LIANG TY, WANG XY, DU J, TANG K, WANG XX, WANG F, YOU G. Correlation of alteration of HLA-F expression and clinical characterization in 593 brain glioma samples[J]. *Journal of Neuroinflammation*, 2019, 16(1): 33.
- [126] ZHAI LJ, LADOMERSKY E, LAUING KL, WU MJ, GENET M, GRITSINA G, GYÖRFFY B, BRASTIANOS PK, BINDER DC, SOSMAN JA, GILES FJ, JAMES CD, HORBINSKI C, STUPP R, WAINWRIGHT DA. Infiltrating T cells increase IDO1 expression in glioblastoma and contribute to decreased patient survival[J]. *Clinical Cancer Research: an Official Journal of the American Association for Cancer Research*, 2017, 23(21): 6650-6660.
- [127] HOSSEINI R, ASEF-KABIRI L, YOUSEFI H, SARVNAZ H, SALEHI M, AKBARI ME, ESKANDARI N. The roles of tumor-derived exosomes in altered differentiation, maturation and function of dendritic cells[J]. *Molecular Cancer*, 2021, 20(1): 83.
- [128] TANG K, WU YH, SONG YH, YU B. Indoleamine 2,3-dioxygenase 1 (IDO1) inhibitors in clinical trials for cancer immunotherapy[J]. *Journal of Hematology & Oncology*, 2021, 14(1): 68.

- [129] XING C, LI H, LI RJ, YIN L, ZHANG HF, HUANG ZN, CHENG Z, LI J, WANG ZH, PENG HL. The roles of exosomal immune checkpoint proteins in tumors[J]. *Military Medical Research*, 2021, 8(1): 56.
- [130] WANG M, CAI Y, PENG Y, XU B, HUI WT, JIANG YG. Exosomal LGALS9 in the cerebrospinal fluid of glioblastoma patients suppressed dendritic cell antigen presentation and cytotoxic T-cell immunity[J]. *Cell Death & Disease*, 2020, 11: 896.
- [131] PANDIT R, CHEN LY, GÖTZ J. The blood-brain barrier: physiology and strategies for drug delivery[J]. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2020, 165/166: 1-14.
- [132] SINGH N, MINER A, HENNIS L, MITTAL S. Mechanisms of temozolomide resistance in glioblastoma-a comprehensive review[J]. *Cancer Drug Resistance(Alhambra, Calif)*, 2021, 4(1): 17-43.
- [133] YUE X, LAN F, XIA T. Hypoxic glioma cell-secreted exosomal miR-301a activates Wnt/ β -catenin signaling and promotes radiation resistance by targeting TCEAL7[J]. *Molecular Therapy*, 2019, 27(11): 1939-1949.
- [134] THAKUR A, XU C, LI WK, QIU GY, HE B, NG SP, WU CM L, LEE Y. *In vivo* liquid biopsy for glioblastoma malignancy by the AFM and LSPR based sensing of exosomal CD44 and CD133 in a mouse model[J]. *Biosensors & Bioelectronics*, 2021, 191: 113476.
- [135] BAO SD, WU QL, McLENDON RE, HAO YL, SHI Q, HJELMELAND AB, DEWHIRST MW, BIGNER DD, RICH JN. Glioma stem cells promote radioresistance by preferential activation of the DNA damage response[J]. *Nature*, 2006, 444(7120): 756-760.
- [136] ZHENG Y, LIU L, WANG Y, XIAO S, MAI RK, ZHU ZF, CAO YY. Glioblastoma stem cell (GSC)-derived PD-L1-containing exosomes activates AMPK/ULK1 pathway mediated autophagy to increase temozolomide-resistance in glioblastoma[J]. *Cell & Bioscience*, 2021, 11(1): 63.
- [137] WANG RN, LIANG QF, ZHANG XR, DI ZN, WANG XH, DI LQ. Tumor-derived exosomes reversing TMZ resistance by synergistic drug delivery for glioma-targeting treatment[J]. *Colloids and Surfaces B, Biointerfaces*, 2022, 215: 112505.
- [138] MOVAHEDPOUR A, KHATAMI SH, KHORSAND M, SALEHI M, SAVARDASHTAKI A, MIRMAJIDI SH, NEGAHDARI B, KHANJANI N, NAELI P, VAKILI O, TAHERI-ANGANEH M. Exosomal noncoding RNAs: key players in glioblastoma drug resistance[J]. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 2021, 476(11): 4081-4092.
- [139] YANG WB, HSU CC, HSU TI, LIOU JP, CHANG KY, CHEN PY, LIU JJ, YANG ST, WANG JY, YEH SH, CHEN RM, CHANG WC, CHUANG JY. Increased activation of HDAC1/2/6 and Sp1 underlies therapeutic resistance and tumor growth in glioblastoma[J]. *Neuro-Oncology*, 2020, 22(10): 1439-1451.
- [140] QIU XY, XIAO X, LI N, LI YM. Histone deacetylases inhibitors (HDACis) as novel therapeutic application in various clinical diseases[J]. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 2017, 72: 60-72.
- [141] 管晨峰, 李玉珍, 张开礼, 李宗阳, 黄国栋. 组蛋白去乙酰化酶抑制剂 RGFP109 逆转胶质母细胞瘤 U251 细胞对替莫唑胺耐药性的机制研究[J]. *中国药房*, 2017, 28(22): 3091-3095.
GUAN CF, LI YZ, ZHANG KL, LI ZY, HUANG GD. Study on the mechanism of histone deacetylase inhibitor RGFP109 in reversing resistance of glioma U251 cells to temozolomide[J]. *China Pharmacy*, 2017, 28(22): 3091-3095 (in Chinese).

(本文责编 陈宏宇)