

综述

小细胞外囊泡在乳腺癌诊断与治疗中的研究进展*

王尚志¹ 章 瑾¹ 杨明睿¹ 闫 滨^{2**}

(1 山东中医药大学药学院 济南 250355 2 山东中医药大学中医学院 济南 250355)

摘要 小细胞外囊泡 (small extracellular vesicles, sEVs) 是一类具有脂质双层膜结构的细胞外囊泡,能够参与细胞间通讯,是一种良好的药物递送载体。小细胞外囊泡中的微小 RNA (miRNA)、长链非编码 RNA (long non-coding RNA, lncRNA)、环状 RNA (circRNA) 和蛋白质等多种成分参与调控肿瘤发生发展的重要机制,能够反映细胞的生理状态与功能状态,且大量存在于患者的血浆、尿液、唾液,对小细胞外囊泡进行分析和检测可能成为肿瘤诊断的新型手段。除了作为肿瘤诊断的生物标志物,小细胞外囊泡还通过其内容物或作为特异性药物递送载体来调控肿瘤细胞的侵袭转移、机体耐药、细胞因子分泌表达与免疫应答,发挥其抗肿瘤作用。总结近五年来小细胞外囊泡中 RNA (miRNA、lncRNA、circRNA) 与蛋白质作为乳腺癌诊断的生物标志物以及在乳腺癌治疗中的潜力的相关研究,阐述小细胞外囊泡作为新型诊断与治疗方法的优势与不足,为小细胞外囊泡在乳腺癌诊疗领域的临床应用提供参考。

关键词 小细胞外囊泡 外泌体 乳腺癌 生物标志物 递送载体 诊疗

中图分类号 Q257

乳腺癌是女性中最常见的癌症,约占世界女性癌症病例的 25%,也是女性癌症相关死亡的主要原因之一^[1]。乳腺癌的治疗与诊断时间和方法密切相关。据报道,乳腺癌经早发现、早诊断、早治疗,预后效果较好^[2]。

细胞外囊泡 (extracellular vesicles, EVs) 是由磷脂双分子层分隔成纳米大小的颗粒,是细胞间通讯的关键介质^[3],包括外泌体 (exosomes)、核外颗粒体 (ectosomes)、微囊泡 (microvesicles)、凋亡小体 (apoptotic bodies) 与微囊泡 (microvesicles)^[4]。其中,外泌体是内体衍生的 40 ~ 150nm 的小细胞外囊泡 (small extracellular vesicles, sEVs)^[5],在绵羊网织红细胞中首次被发现^[6],1987 年 Johnstone 将其命名为

“exosome”^[7]。不同来源的小细胞外囊泡,其分子结构也不相同 (图 1)。小细胞外囊泡中含有多种蛋白质、核酸及其他功能分子^[8],能传递至受体细胞并介导细胞间通讯。此外,在小细胞外囊泡表面同样富含向靶细胞传递信号的蛋白分子,能够直接激活靶细胞表面的受体,产生信号复合体并激活细胞内信号通路,包括膜转运蛋白和膜融合蛋白 (RAB、flotillin)、热休克蛋白 (HSP60、HSP70、HSP90) 和四分子交联体家族成员 (CD9、CD63、CD81、CD82) 等^[9]。研究发现,与其他循环生物标志物相比,小细胞外囊泡在血液、尿液、唾液等几乎所有体液中都具有更好的稳定性^[10]。鉴于上述特征,小细胞外囊泡具有作为肿瘤诊断的生物标志物和抗肿瘤药物载体的潜能。

1 小细胞外囊泡的形成、分泌、摄取

与普通微泡直接通过细胞出芽形成不同,小细胞

收稿日期:2023-08-31 修回日期:2023-11-07

* 国家卫生部重大新药创制科技重大专项 (2014ZX09509001001) 资助项目

**通讯作者,电子信箱:60020078@sducm.edu.cn

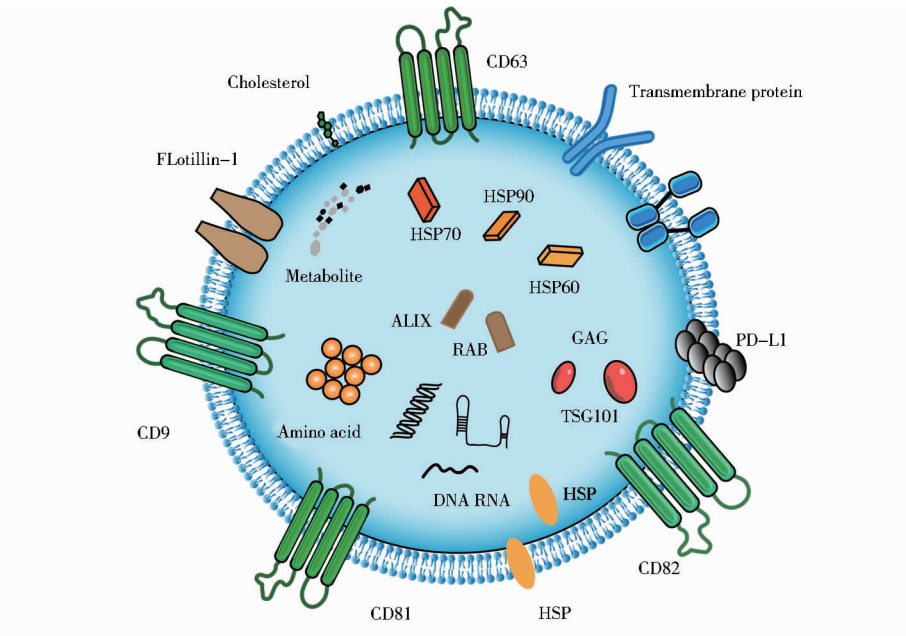


图1 小细胞外囊泡的分子结构
Fig.1 Molecular architecture of small extracellular vesicles

外囊泡通过细胞外刺激、微生物攻击及其他应激条件的诱导而形成^[11]。小细胞外囊泡最初由细胞内吞形成早期内体,在相关蛋白的调控下出芽形成多个由腔内小囊泡构成的多泡体(multivesicular body,MVB),最后在GTP酶家族中RAB酶的调节下与细胞膜融合,向外界分泌腔内囊泡,将其货物运输至受体细胞并介导细

胞间通讯^[12-13](图2)。研究发现,小细胞外囊泡一般通过三种方式介导细胞间通讯:(1)小细胞外囊泡膜与靶细胞膜融合,进而释放内容物;(2)小细胞外囊泡膜蛋白与靶细胞膜蛋白直接结合,激活信号通路;(3)小细胞外囊泡的跨膜蛋白直接作用于受体细胞膜表面的信号分子^[14]。

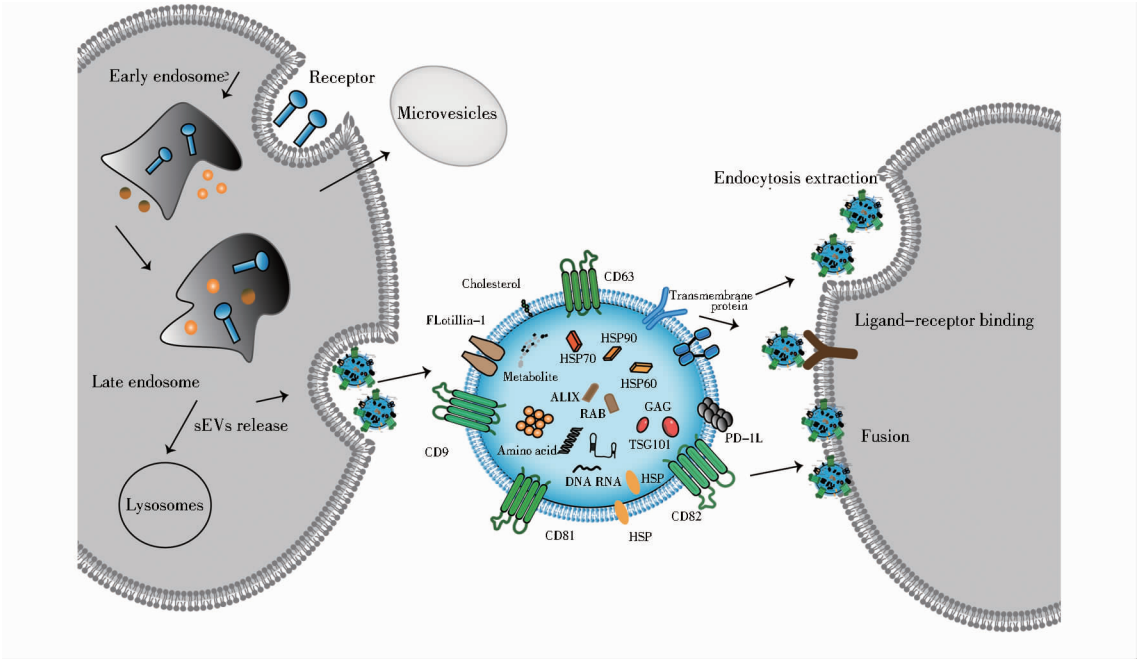


图2 小细胞外囊泡的合成、分泌、摄取
Fig.2 Synthesis, secretion and uptake of small extracellular vesicles

2 小细胞外囊泡的分离

近年来,越来越多的研究证实了小细胞外囊泡在不同肿瘤的诊断与治疗中具有标志性价值^[15]。为了得到大量高纯度的外泌体,分离技术的可靠性尤为重要^[16]。目前常用的分离方法包括差速离心法、密度梯

度离心法、超滤法、聚合物沉淀法、免疫亲和法等^[17](表1)。然而,这些方法无法得到高纯度、无损伤的小细胞外囊泡,影响了肿瘤的诊断与治疗。因此,小细胞外囊泡的大量提取和综合分析仍是影响临床应用、生物医学研究和生产成本的难题,未来研究应致力于开发更为简单、快速、标准化的分离方法以供临床使用。

表 1 常用小细胞外囊泡分离方法优缺点比较

方法	原理	优点	缺点	参考文献
差速离心法	通过逐渐提高离心速度的方法进行分离	操作简单,可以大批量处理,无需添加化学试剂	费时,得率不稳定,纯度低	[18]
密度梯度离心法	通过超速离心力在一定浓度梯度的介质中完成分离	与差速离心法相比,纯度更高	设备贵,工艺繁琐,费时,样品量小,不适合大规模使用	[19]
超滤法	通过超滤膜对不同截流分子量的生物样品进行分离	纯度高,操作简单	寿命短,超滤膜堵塞会降低效率	[17]
聚合物沉淀法	通过聚合物与外泌体作用形成疏水微环境完成分离	成本低,不需大型设备,操作简单	纯度低,易污染	[20]
免疫亲和法	通过抗体与小细胞外囊泡表面膜蛋白作用进行分离	纯度高,特异性强	成本高,费时	[21]

3 小细胞外囊泡在乳腺癌诊断中的潜力

早发现、早诊断对于肿瘤的治疗十分重要^[22]。目前,乳腺癌常用的诊断方法包括乳腺钼靶 X 线摄影^[23]、乳腺彩色多普勒超声检查^[24]、磁共振成像^[25]和

乳腺活检^[26]等。然而,上述方法均存在一定的局限性或副作用(表2)。近年来,基于小细胞外囊泡对乳腺癌诊断作用的研究不断增多,其中富含的致癌或抑癌 RNA 在肿瘤细胞和正常细胞中的表达不同,可能是人类生物流体液体活检中早期癌症诊断新的候选者^[27]。

表 2 常用乳腺癌诊断方法优缺点比较

方法	原理	优点	缺点	参考文献
乳腺钼靶 X 线摄影	通过软 X 线对乳腺组织进行照射成像	准确性高,对微小钙化敏感	有辐射,难以辨别腺体和病变重叠的病例	[23]
乳腺彩色多普勒超声检查	利用多普勒效应成像	操作简单,无辐射	难以识别过小的肿块,对微小钙化不敏感,可能遗漏病变	[24]
磁共振成像	氢原子核在磁场中产生信号,经过计算机重建处理成像	检查浸润性乳腺癌的敏感性(>98%)高于钼靶和超声	设备昂贵,检查时间久,假阳性较高,特异度低,不能显示微小钙化	[25]
乳腺活检	通过局部切除、穿刺针吸等方法从患者活体采取病变组织进行病理检查	对正常组织破坏小,可提供病理诊断、组织分级和激素受体等信息	可能引起活检部位的疼痛、感染、出血,导致癌细胞的扩散	[26]

3.1 小细胞外囊泡源性 miRNAs 在乳腺癌诊断中的研究

miRNA 是一类非编码小 RNA,参与近 30% 的蛋白质编码基因和几乎所有遗传途径的调控,还能调节靶基因的蛋白表达,参与肿瘤免疫过程,调控肿瘤细胞的生长、迁移、侵袭、血管生成与凋亡^[28]。近年来,大量研

究证实肿瘤细胞可以分泌小细胞外囊泡,其中包含的 miRNAs 能作为乳腺癌诊断的生物标志物^[29-30]。Li 等^[31]通过试剂盒从乳腺癌患者与健康对照者的血清样品中分离出小细胞外囊泡,采用实时荧光定量 PCR 评估不同样本中小细胞外囊泡 miR-148a 的表达水平,发现 miR-148a 在乳腺癌患者血清中显著降低,特异度为

80.0%,灵敏度为84.0%。另有研究将小细胞外囊泡中 miRNAs 进行筛选组合,对乳腺癌的诊断具有较高的灵敏度和特异度^[32]。Hirschfeld 等^[33]基于一项病例对照研究,对13种尿液来源的 miRNAs 进行了表达水平量化与生物统计学计算,通过多元统计评估并确认了四种尿液 miRNAs (miR-424、miR-423、miR-660 和 let7-1)是区分乳腺癌患者与健康对照者的高特异度组合,对乳腺癌非侵入性诊断的灵敏度为98.6%,特异度为100%。此外,小细胞外囊泡还能够诊断乳腺癌患者是否发生了远处转移。Shen 等^[18]收集了28例乳腺癌患者(无远处转移15例,有远处转移13例)的血浆标本,采用差速离心法分离小细胞外囊泡,通过微阵列和实时荧光定量 PCR 分析并验证了 miR-7641 在乳腺癌远处转移患者血浆中显著升高,提示小细胞外囊泡源性 miRNAs 可能是一种有前途的非侵入性诊断生物标志物。

3.2 小细胞外囊泡源性 lncRNAs 在乳腺癌诊断中的研究

lncRNA 是一种长链非编码 RNA,在患者体内的异常表达与肿瘤的发生发展相关^[34]。从血清中分离出的小细胞外囊泡 lncRNA H19 是一类监测肿瘤进展的生物标志物,在乳腺癌患者体内高表达,通过受试者工作特征曲线(receiver operator characteristic curve, ROC)分析,显示其在乳腺癌诊断中的准确性要优于传统标记物^[35]。此外,Wang 等^[36]通过试剂盒分离了23名乳腺癌患者体内的小细胞外囊泡,通过定量逆转录 PCR 发现小细胞外囊泡 HOTAIR 在患者血浆中高表达,且与人表皮生长因子受体-2(human epidermal growth factor receptor 2, HER2)的状态呈正相关,而 Tang 等^[37]发现 HOTAIR 的高表达可能与新辅助化疗和他莫昔芬治疗的反应较差有关,提示 HOTAIR 具有成为新型液体活检生物标志物的潜能。总之,小细胞外囊泡携带的多种 lncRNA 在肿瘤发展的过程中发挥重要作用,其稳定性高,易于从血浆、乳汁等体液中收集,提示小细胞外囊泡 lncRNA 可作为乳腺癌诊断的新型生物标志物。

3.3 小细胞外囊泡源性 circRNAs 在乳腺癌诊断中的研究

circRNA 是一类特殊的非编码 RNA,独特的环形结构提高了它们在生物样品中的稳定性和抗降解性,在人类血清中已发现1 000多种。尽管许多 circRNA 的作用仍不清楚,但一些 circRNA 已被发现是肿瘤生物学中的关键参与者^[38-39]。Wang 等^[40]收集了乳腺癌患者

及健康对照者的血清样本,采用超速离心法分离得到小细胞外囊泡,通过微阵列和实时定量 PCR 确定了五种上调表达的 circRNA,将其分别命名为 has_circ_0009634、has_circ_0020707、has_circ_0064923、has_circ_0104852 和 has_circ_0087064。此外, cirHIF1A 也被发现在乳腺癌患者血浆中高表达,可能是乳腺癌早期诊断潜在的生物标志物^[41]。Liang 等^[42]使用高通量微阵列技术鉴定了一种新的小细胞外囊泡 circKDM4C,发现其在乳腺癌组织中表达降低,且在体内外均显著抑制乳腺癌细胞增殖、转移和阿霉素耐药,有望成为乳腺癌患者新的潜在治疗靶点。

3.4 小细胞外囊泡源性蛋白质在乳腺癌诊断中的研究

小细胞外囊泡中含有丰富的特异性蛋白质,可直接作用于靶细胞,提供比其他货物更准确的信息。研究发现,血清来源的小细胞外囊泡 exo-AnxA2 能够促进血管生成,且在三阴乳腺癌(triple negative breast cancer, TNBC)患者中高表达^[43]。另有研究表明,小细胞外囊泡 Del-1 在乳腺癌术前患者体内高表达,术后恢复正常^[44],提示小细胞外囊泡 exo-AnxA2 和 Del-1 可能是两种潜在的乳腺癌诊断生物标志物,其具体调控机制还有待研究。

3.5 其他相关研究

为进一步提高乳腺癌诊断的效率,灵敏度高、选择性好的小细胞外囊泡传感器的开发成为国内外的研究热点^[45]。Zhou 等^[46]将高度特异性的粘蛋白1(MUC1)作为检测 MCF-7 乳腺细胞分泌的小细胞外囊泡的理想靶点,设计了一种操作简单、灵敏度高、成本低的比色适配体传感器。该传感器将 MUC1 适体与血红素/G-四链体相结合,可用于乳腺癌小细胞外囊泡的检测。此外,另有研究将 miR-21、miR-27a 和 miR-375 作为模型靶点,开发了一种能够同时原位检测多种 miRNAs 的传感器,进入小细胞外囊泡并与互补 miRNAs 靶标杂交,激活荧光信号,进而检测小细胞外囊泡内多种 miRNAs^[47]。该生物传感器可应用于临床血清样品 EmiRs 检测,能有效区分乳腺癌患者和健康人群,有助于乳腺癌的早期诊断。纳米探针是一种新型超微生物传感器,在肿瘤诊断方面有着广阔的前景。Qin 等^[48]设计了一种双循环纳米探针(dual-cycling nanoprobe),能够快速、灵敏地同时检测循环小细胞外囊泡表面程序性死亡配体(programmed death ligand, PD-L1)和内部 miR-21,从而实现乳腺癌诊断,为肿瘤诊断提供了新的思路。

拉曼光谱技术 (surface-enhanced raman spectroscopy, SERS) 具有灵敏度高、准确性好的特点, 可以检测不同细胞来源的小细胞外囊泡。Xie 等^[49] 设计了一种人工智能 SERS 策略, 对术前不同乳腺癌亚型患者的诊断准确率为 100%。该研究利用临床血清样本进行小细胞外囊泡的液体活检, 为乳腺癌的准确诊断和治疗评估提供了一种新的途径。此外, Li 等^[50] 提出

了一个磁 SERS 平台, 将小细胞外囊泡的分离和拉曼信号增强整合到一个系统, 该平台可完全识别乳腺癌患者和健康人群, 敏感性为 91.67%, 特异性为 100%。小细胞外囊泡作为有前途的生物标志物应用于乳腺癌的早期诊断是近几年的研究热点, 但结论仍需进一步验证, 以期能够应用于临床实践。外泌体作为生物标志物在乳腺癌诊断中的作用如表 3 所示。

表 3 小细胞外囊泡在乳腺癌中的诊断作用

Table 3 Diagnostic role of small extracellular vesicles in breast cancer

小细胞外囊泡货物	表达变化	外泌体来源	样本数量	诊断效果	参考文献
miR-18a-3p	上调	血清	12 名乳腺癌患者和 12 名乳腺纤维瘤患者	AUC = 0.83	[29]
miR-1246	上调	血浆	33 名乳腺癌患者和 37 名健康对照者	灵敏度 93.94% 特异度 97.30%	[30]
miR-148a	下调	血清	125 名乳腺癌患者和 50 名良性乳腺肿瘤患者	灵敏度 84.0% 特异度 80.0%	[31]
miR-7641	上调	血浆	13 名远处转移乳腺癌患者和 15 名无远处转移乳腺癌患者	-	[18]
miR-1246、miR-206、miR-24 和 miR-373	下调	血浆	226 名乳腺癌患者和 146 名健康对照者	灵敏度 98.0% 特异度 96.0%	[32]
miR-424、miR-423、miR-660 和 let7- I	上调、下调	尿液	69 名乳腺癌患者和 40 名健康对照者	灵敏度 98.6% 特异度 100%	[33]
XIST	上调	血清	91 名 TNBC 术后患者	灵敏度 84.2% 特异度 92.3%	[34]
H19	上调	血清	50 名乳腺癌患者、50 名良性乳腺肿瘤患者和 50 名健康对照者	灵敏度 87.0% 特异度 70.6%	[35]
HOTAIR	上调	血浆	23 名乳腺癌患者	-	[36]
HOTAIR	上调	血清	15 名手术治疗的乳腺癌患者和 15 名健康对照者	AUC = 0.917 8	[37]
hsa_circ_0005552、hsa_circ_0007177、hsa_circ_0002190、hsa_circ_0001439、hsa_circ_0000642、hsa_circ_0006404、hsa_circ_0000267、hsa_circ_0001073 和 hsa_circ_0001417	上调	血浆	144 名乳腺癌患者、72 名良性乳腺肿瘤患者和 43 名健康对照者	AUC = 0.80	[39]
has_circ_0009634、hsa_circ_0020707、hsa_circ_0064923、hsa_circ_0104852 和 hsa_circ_0087064	上调	血清	3 名局限性乳腺癌患者、3 名转移性乳腺癌患者和 3 名匹配的健康对照者	-	[40]
cirHIF1A	上调	血浆	24 名乳腺癌患者和 68 名健康对照者	AUC = 0.897	[41]
circKDM4C	下调	组织	乳腺癌患者肿瘤组织和正常组织	-	[42]
exo-AnxA2	上调	血清	169 名乳腺癌患者和 68 名健康对照者	AUC = 1.000	[43]
Del-1	上调	血浆	22 名乳腺癌患者	-	[44]
miR-150-5p	上调	血浆	27 名乳腺癌患者和 3 名健康对照者	AUC = 0.705	[51]
miR-576-3p				AUC = 0.691	
miR -4665-5p				AUC = 0.681	
miR-188-3p、miR-501-3p、miR-502-3p、miR-532-3p 和 miR-532-5p	上调	血清	204 名乳腺癌患者和 202 名健康对照者	AUC = 0.821 ~ 0.969	[52]
miR-188-3p、miR-500a-5p 和 miR-501-5p	上调	血浆	200 名乳腺癌患者和 190 名健康对照者	AUC = 0.805	[52]

(续表 3)

小细胞外囊泡货物	表达变化	外泌体来源	样本大小	诊断效果	参考文献
miR-363-5p	下调	血浆	10 名乳腺癌患者和 10 名健康对照者	AUC = 0.733 ~ 0.958	[53]
let-7b-5p、miR-106a-5p、miR-19a-3p、 miR-19b-3p、miR-25-3p、miR-425-5p、 miR-451a、miR-92a-3p、miR-93-5p、 miR-16-5p	上调	血清	216 名乳腺癌患者和 214 名健康对照者	灵敏度 91.6% 特异度 91.3%	[54]

4 小细胞外囊泡在乳腺癌治疗中的潜力

手术治疗、化学治疗、放射治疗是乳腺癌常用的治疗方法,但治疗后可能引起复发、免疫力低下等问题(表 4)。小细胞外囊泡作为一种天然载体,能够参与乳

腺癌细胞的侵袭转移、机体耐药、细胞因子分泌表达和免疫应答等发生发展过程^[55]。通过小细胞外囊泡治疗能够有效激活免疫系统,特异性地杀伤异常肿瘤细胞,同时增加药物传递的靶向性,具有更高的传递效率和更小的副作用,为乳腺癌治疗提供了新的思路^[56](图 3)。

表 4 常用乳腺癌治疗方法优缺点比较

Table 4 Comparison of advantages and disadvantages of common breast cancer treatment methods

方法	原理	优点	缺点	参考文献
手术治疗	切除肿瘤及周围的一些组织,尽可能保留乳房组织	较彻底地切除病灶,提高患者生存率	创伤大,恢复时间长,术后有转移和复发的风险	[57]
化学治疗	使用化学治疗药物杀灭癌细胞,达到治疗目的	有效杀灭早中期患者体内残留的癌细胞,提高治愈率,延缓肿瘤晚期患者的生存期	降低机体的免疫功能,诱发骨髓抑制,导致胃肠道不适	[58]
放射治疗	利用放射线治疗肿瘤的一种局部治疗	放射性破坏和杀死肿瘤,创伤小	对周围正常组织细胞有破坏作用,伤害皮肤,降低机体的免疫功能	[59]

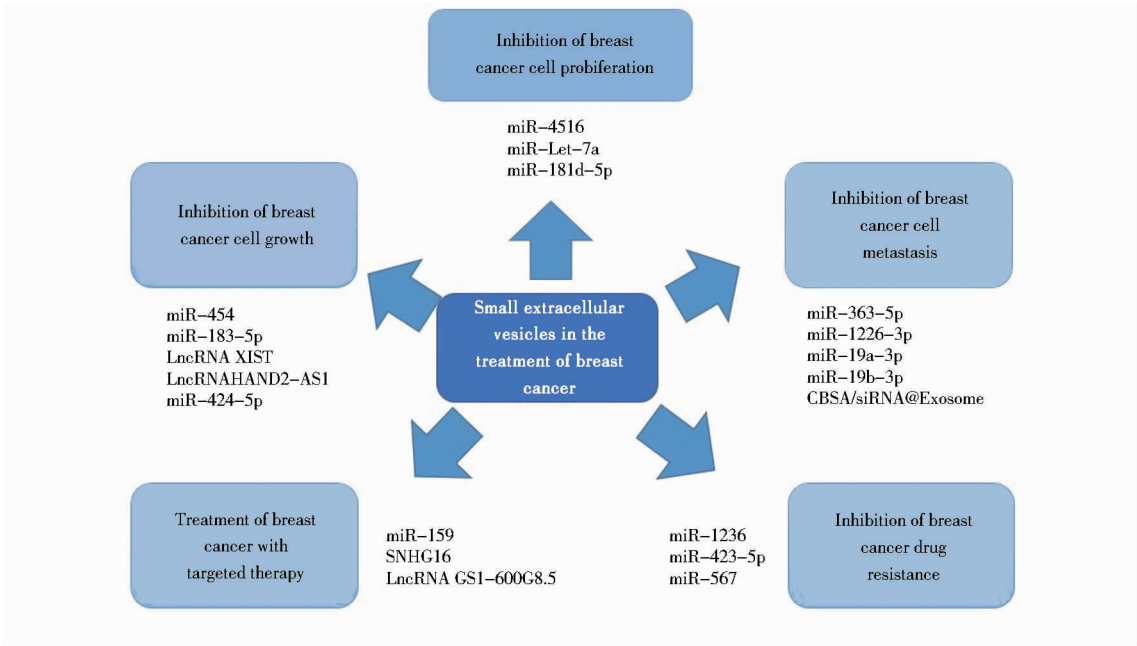


图 3 小细胞外囊泡在乳腺癌治疗中的潜力

Fig. 3 The potential of small extracellular vesicles in breast cancer treatment

4.1 小细胞外囊泡调节肿瘤微环境

4.1.1 小细胞外囊泡调控乳腺癌细胞生长 小细胞外囊泡能够介导肿瘤的发生发展,激活免疫细胞,引发机体的免疫应答。Li 等^[60]发现小细胞外囊泡 miR-454 与 lncRNA XIST 相互作用进而抑制肿瘤的生长。而 lncRNA HAND2-AS1 能够抑制 miR-106a-5p 在乳腺癌患者体内上调,从而抑制 TNBC 的发展^[61]。源于间皮素靶向 CAR-T 细胞的小细胞外囊泡可显著抑制间皮素阳性 TNBC 细胞的生长,且没有明显的副作用^[62]。据报道,肿瘤来源的小细胞外囊泡富含 PD-L1,而携带 PD-L1 的小细胞外囊泡能够抑制 T 细胞的激活,是肿瘤发展过程中的主要调节因子。Zhou 等^[63]发现小细胞外囊泡 miR-424-5p 能够增加促炎细胞因子 IFN- γ 、TNF- α 和 IL-6 的分泌,下调乳腺癌患者体内 PD-L1 的表达,进而促进肿瘤细胞凋亡。此外,小细胞外囊泡也能促进肿瘤的生长和发展。例如,小细胞外囊泡 miR-183-5p 可抑制 PPP2CA 的表达,增加促炎细胞因子的分泌,进而促进乳腺癌模型中的肿瘤进展^[64]。以上结果说明,调控小细胞外囊泡特定分子的表达对乳腺癌细胞生长具有一定影响。

4.1.2 小细胞外囊泡调节乳腺癌细胞增殖 肿瘤细胞增殖是影响致癌过程的重要因素。近年来,小细胞外囊泡在乳腺癌细胞增殖中的作用得到关注。研究发现,小细胞外囊泡 miR-Let-7a 能够沉默 c-Myc 的表达,进而抑制人乳腺癌细胞 (MDA-MB-231) 的增殖、迁移、侵袭和转移^[65],为乳腺癌的治疗提供了新的见解。肿瘤相关成纤维细胞 (cancer-associated fibroblasts, CAFs) 是肿瘤微环境的重要组成部分。Kim 等^[66]分析了源于 CAFs 的小细胞外囊泡,发现小细胞外囊泡 miR-4516 与 FOS 样抗原 1 (FOSL1) 的表达呈负相关,而 FOSL1 的过表达能够促进肿瘤细胞增殖,且 FOSL1 高表达的 TNBC 患者的生存率明显低于 FOSL1 低表达的 TNBC 患者,提示 miR-4516 可能是用于治疗 TNBC 的潜在抗癌药物。此外,同样源于 CAFs 的小细胞外囊泡 miR-181d-5p 能够抑制 CDX2 和 HOXA5 的表达,进而抑制乳腺癌细胞凋亡^[67]。由此可见,通过小细胞外囊泡阻断上述进程可能对乳腺癌细胞增殖具有一定的抑制作用,提示小细胞外囊泡 miR-181d-5p 可能是乳腺癌治疗的潜在候选。综上所述,小细胞外囊泡在乳腺癌细胞增殖过程中具有一定的作用。

4.1.3 小细胞外囊泡调节乳腺癌细胞转移 研究发现,近 20% ~ 30% 的乳腺癌患者发生了肿瘤转移,其五

年存活率仅有 22%,且高达 90% 的乳腺癌患者死亡与肿瘤转移相关^[68]。因此,抑制肿瘤转移是治疗恶性肿瘤的关键步骤,而小细胞外囊泡与其紧密相关。Wang 等^[53]发现小细胞外囊泡 miR-363-5p 能够下调 PDGFB 的表达,进而抑制乳腺癌细胞转移。另有研究发现,递送共表达 AQP5 靶向 miRNAs (miR-1226-3p、miR-19a-3p、miR-19b-3p) 和靶向 IL-4R 的肽的生物工程小细胞外囊泡,可以抑制乳腺癌细胞的转移^[69]。此外,自组装纳米颗粒是一种抑制乳腺癌术后转移有前景的方法。Zhao 等^[70]开发的仿生纳米颗粒 CBSA/siRNA @ Exosome 具有较高的肺亲和力,能够产生基因沉默,进而抑制 TNBC 的术后转移,是一种有前途的肿瘤预防和治疗临床策略。通过小细胞外囊泡抑制乳腺癌细胞转移,是未来探索的重要方向。

4.2 小细胞外囊泡靶向治疗乳腺癌

小细胞外囊泡是一类具有独特结构和生理特性的天然纳米生物载体,具有良好的生物相容性,可将药物递送至肿瘤细胞,在细胞间通讯和肿瘤发生中发挥关键作用^[71]。对小细胞外囊泡进行加工修饰,产物可用于靶向药物的开发,能够靶向杀灭肿瘤细胞并实现精准治疗^[72]。研究发现,小细胞外囊泡可将阿霉素等化疗药物传递到肿瘤组织,抑制肿瘤生长。Gong 等^[73]发现递送 miR-159 和阿霉素能够沉默 TCF-7 基因,进而对 TNBC 产生抗癌作用。另有研究表明,乳腺癌来源的小细胞外囊泡 SNHG16 通过调节 miR-16-5p 来促进 TGF- β 1/SMAD5 通路的激活,且能上调 V81 T 细胞中 CD73 + 表达,进而发挥免疫抑制作用^[74],这对研制抗癌特效药、靶向药具有很大价值。此外,Lu 等^[75]发现 lncRNA GS1-600G8.5 在脑转移乳腺癌细胞中高表达,能够促进癌细胞通过血脑屏障,可作为乳腺癌脑转移有前景的治疗靶点。此外,小细胞外囊泡亚群的蛋白质组学分析是揭示生物学特性和探索肿瘤标志物及治疗靶点的一种有效方法。Wang 等^[76]开发了名为 Sub-ExoProfile 芯片的集成微流控纳米器件,用于小细胞外囊泡亚群的分离和蛋白质分析,其所支持的 CD81-Exo、EpCAM-Exo 和 HER2-Exo 三种蛋白信息丰富,为不同类型的乳腺癌提供了更多潜在的治疗靶点。此外,小细胞外囊泡还能够转移内源性和外源性化合物,是纳米医学中递送药物的良好候选。Li 等^[77]利用 c-Met 亲和肽修饰巨噬细胞来源的小细胞外囊泡膜并包被聚乳酸乙醇酸纳米载体,用于 TNBC 的靶向化疗,能够显著提高化学治疗药物的抗肿瘤效率,是一种前景良好的

药物递送系统,为乳腺癌的治疗提供了临床相关的方法。Wang 等^[78]利用腺病毒载体转染树突状细胞的小细胞外囊泡制成疫苗,该疫苗刺激了细胞毒性 T 淋巴细胞的反应,可杀死癌细胞和根除肿瘤。综上所述,小细胞外囊泡靶向治疗相比其他的生物载体具有更好的疗效和更少的脱靶性,这对于乳腺癌的靶向治疗具有一定意义。

4.3 小细胞外囊泡调节乳腺癌细胞耐药

耐药是乳腺癌治疗的难题^[79],寻找克服或逆转乳腺癌细胞耐药的方法尤为重要。研究发现,小细胞外囊泡携带的蛋白质和核酸等物质与乳腺癌细胞的耐药密切相关^[80]。间充质干细胞来源的小细胞外囊泡 miR-1236 通过抑制 SLC9A1 的表达来抑制 Wnt/ β -catenin 通路活性,从而降低乳腺癌细胞对顺铂的耐药性^[81]。另有研究表明,小细胞外囊泡 miR-423-5p 的下调可能阻断乳腺癌细胞对顺铂的耐药性^[82],这可能是治疗顺铂耐药乳腺癌的一种潜在方法。此外, Han

等^[83]发现小细胞外囊泡 miR-567 在曲妥珠单抗耐药患者体内下调,通过抑制 ATG5 的表达来抑制自噬,进而逆转曲妥珠单抗耐药,可能是乳腺癌患者重要的治疗靶点。在临床试验中发现疏肝益肾方可能通过降低小细胞外囊泡 miR-221 的表达,从而上调 PREN 蛋白的表达来逆转乳腺癌内分泌耐药^[84]。

除了抑制肿瘤细胞耐药,小细胞外囊泡也能促进肿瘤细胞耐药。研究发现,CAFs 来源的小细胞外囊泡 miR-92 能上调乳腺癌细胞中 PD-L1 的表达,进而促进乳腺癌细胞耐药^[85]。另有研究表明,小细胞外囊泡 miR-9-5p 能够下调 ADIPOQ 表达,进而提高乳腺癌细胞对他莫昔芬的耐药性^[86]。此外,Chen 等^[87]发现源于耐药乳腺癌细胞的小细胞外囊泡 miR-222 能够激活 PTEN/Akt 通路,从而诱导巨噬细胞 M2 极化,促进耐药乳腺癌细胞在反馈回路中的进展,提示小细胞外囊泡可作为逆转乳腺癌耐药的潜在靶点。综上所述,小细胞外囊泡对治疗乳腺癌具有重要意义(表 5)。

表 5 小细胞外囊泡在乳腺癌中的治疗作用

Table 5 Therapeutic role of small extracellular vesicles in breast cancer

小细胞外囊泡货物	功能	机制	参考文献
miR-454	抑制肿瘤生长	与 lncRNA XIST 相互作用	[60]
HAND2-AS1	抑制 TNBC 发展	抑制 miR-106a-5p 上调	[61]
miR-424-5p	促进肿瘤细胞凋亡	增加促炎细胞因子分泌,下调 PD-L1 表达	[63]
miR-4516	抑制肿瘤增殖	抑制 FOSL1 表达	[66]
miR-Let-7a	抑制 MDA-MB-231 的增殖、迁移和侵袭转移	下调 c-Myc 表达	[65]
miR-1226-3p、miR-19a-3p 和 miR-19b-3p	抑制乳腺癌细胞迁移	共表达 AQP5 靶向 miRNAs 和靶向 IL-4R 的肽	[69]
miR-363-5p	抑制乳腺癌细胞迁移	下调 PDGFB	[53]
CBSA/siSI00A4@ Exosome	抑制 TNBC 的术后转移	产生基因沉寂	[70]
SNHG16	发挥免疫抑制作用	通过 miR-16-5p 促进 TGF- β 1/SMAD5 通路激活,上调 V δ 1 T 细胞中 CD73 + 表达	[74]
miR-159	对 TNBC 产生抗癌作用	和阿霉素一起沉默 TCF-7 基因	[73]
miR-1236	降低乳腺癌细胞对顺铂的耐药性	抑制 SLC9A1 表达来抑制 Wnt/ β -catenin 通路活性	[81]
miR-423-5p	阻断乳腺癌细胞对顺铂的耐药性	下调表达	[82]
miR-567	逆转曲妥珠单抗耐药	下调表达,直接抑制 ATG5 表达抑制自噬	[83]

5 结 论

小细胞外囊泡是由各种类型的活细胞分泌的纳米级颗粒,其特异度和敏感度优于传统的生物标志物,其各种功能也被广泛研究。一方面,小细胞外囊泡能够

装载与肿瘤血管生成、侵袭、转移以及耐药相关的蛋白质和核酸等物质,发挥重要的信号转导促进作用,可能成为肿瘤非侵入性诊断的新型手段。另一方面,小细胞外囊泡通过调节肿瘤微环境、逆转肿瘤耐药以及作为靶向治疗的药物载体来发挥抗肿瘤作用。然而,目

前小细胞外囊泡在乳腺癌治疗中的研究大多停留在细胞与动物层面,用于临床试验的极少,未来应对更多患者进行更全面的研究,才能真正向临床转化。此外,小细胞外囊泡体积小、密度低、提纯困难、分离技术不完善、检测和分析的灵敏度与可靠性提高困难,也是难以应用于临床的主要问题。未来研究应致力于开发更为简单、快速、标准化的分离方法来最大限度地分离和富集小细胞外囊泡。本文总结了近五年来小细胞外囊泡中 RNA 与蛋白质在乳腺癌的诊断与治疗中的研究,希望能够对未来小细胞囊泡在乳腺癌领域的研究提供一些思路。

参考文献

- [1] Sung H, Ferlay J, Siegel R L, et al. Global cancer statistics 2020: globocan estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. CA: A Cancer Journal for Clinicians, 2021, 71(3): 209-249.
- [2] Liang Y R, Zhang H W, Song X J, et al. Metastatic heterogeneity of breast cancer: molecular mechanism and potential therapeutic targets. Seminars in Cancer Biology, 2020, 60: 14-27.
- [3] Kalluri R, McAndrews K M. The role of extracellular vesicles in cancer. Cell, 2023, 186(8): 1610-1626.
- [4] Théry C, Ostrowski M, Segura E. Membrane vesicles as conveyors of immune responses. Nature Reviews Immunology, 2009, 9: 581-593.
- [5] Jeppesen D K, Fenix A M, Franklin J L, et al. Reassessment of exosome composition. Cell, 2019, 177(2): 428-445, e18.
- [6] Pan B T, Johnstone R M. Fate of the transferrin receptor during maturation of sheep reticulocytes *in vitro*: selective externalization of the receptor. Cell, 1983, 33(3): 967-978.
- [7] Johnstone R M, Adam M, Hammond J R, et al. Vesicle formation during reticulocyte maturation. Association of plasma membrane activities with released vesicles (exosomes). Journal of Biological Chemistry, 1987, 262(19): 9412-9420.
- [8] Pegtel D M, Gould S J. Exosomes. Annual Review of Biochemistry, 2019, 88: 487-514.
- [9] Doyle L M, Wang M Z. Overview of extracellular vesicles, their origin, composition, purpose, and methods for exosome isolation and analysis. Cells, 2019, 8(7): 727.
- [10] Song F T, Wang C, Wang C H, et al. Enrichment-detection integrated exosome profiling biosensors promising for early diagnosis of cancer. Analytical Chemistry, 2021, 93(11): 4697-4706.
- [11] De Toro J, Herschlik L, Waldner C, et al. Emerging roles of exosomes in normal and pathological conditions: new insights for diagnosis and therapeutic applications. Frontiers in Immunology, 2015, 6: 203.
- [12] Kalluri R, LeBleu V S. The biology, function, and biomedical applications of exosomes. Science, 2020, 367(6478): eaau6977.
- [13] Wortzel I, Dror S, Kenific C M, et al. Exosome-mediated metastasis: communication from a distance. Developmental Cell, 2019, 49(3): 347-360.
- [14] Sharma P, Schiapparelli L, Cline H T. Exosomes function in cell-cell communication during brain circuit development. Current Opinion in Neurobiology, 2013, 23(6): 997-1004.
- [15] Mao Y P, Zhang M T, Wang L F, et al. Role of microRNA carried by small extracellular vesicles in urological tumors. Frontiers in Cell and Developmental Biology, 2023, 11: 1192937.
- [16] Witwer K W, Goberdhan D C, O'Driscoll L, et al. Updating miSEV: evolving the minimal requirements for studies of extracellular vesicles. Journal of Extracellular Vesicles, 2021, 10(14): e12182.
- [17] Yang D B, Zhang W H, Zhang H Y, et al. Progress, opportunity, and perspective on exosome isolation - efforts for efficient exosome-based theranostics. Theranostics, 2020, 10(8): 3684-3707.
- [18] Shen S J, Song Y, Zhao B, et al. Cancer-derived exosomal miR-7641 promotes breast cancer progression and metastasis. Cell Communication and Signaling, 2021, 19(1): 20.
- [19] Zhang L, Li S M, Cong M H, et al. Lemon-derived extracellular vesicle-like nanoparticles block the progression of kidney stones by antagonizing endoplasmic reticulum stress in renal tubular cells. Nano Letters, 2023, 23(4): 1555-1563.
- [20] Liu J F, Li W Z, Bian Y P, et al. Garlic-derived exosomes regulate PFKFB3 expression to relieve liver dysfunction in high-fat diet-fed mice via macrophage-hepatocyte crosstalk. Phytomedicine, 2023, 112: 154679.
- [21] Suharta S, Barlian A, Hidajah A C, et al. Plant-derived exosome-like nanoparticles: a concise review on its extraction methods, content, bioactivities, and potential as functional food ingredient. Journal of Food Science, 2021, 86(7): 2838-2850.
- [22] Cao W, Chen H D, Yu Y W, et al. Changing profiles of cancer burden worldwide and in China: a secondary analysis of the global cancer statistics 2020. Chinese Medical Journal, 2021, 134(7): 783-791.
- [23] Zhu Z J, Chen H, Xie S, et al. Classification and reconstruction of biomedical signals based on convolutional neural network. Computational Intelligence and Neuroscience, 2022, 2022: 6548811.

- [24] Demirci B Ö, Buğdaycı O, Ertas G, et al. Linear regression modeling based scoring system to reduce benign breast biopsies using multi-parametric US with color doppler and SWE. *Academic Radiology*, 2023, 30: S143-S153.
- [25] Pesapane F, Nicosia L, Tantrige P, et al. Inter-reader agreement of breast magnetic resonance imaging and contrast-enhanced mammography in breast cancer diagnosis: a multi-reader retrospective study. *Breast Cancer Research and Treatment*, 2023, 202(3): 451-459.
- [26] Chang J M, Yoen H. Breast biopsy and hematoma associated with antithrombotic therapy. *Radiology*, 2023, 306(1): 87-89.
- [27] Tatischeff I. Current search through liquid biopsy of effective biomarkers for early cancer diagnosis into the rich cargoes of extracellular vesicles. *International Journal of Molecular Sciences*, 2021, 22(11): 5674.
- [28] He B X, Zhao Z Y, Cai Q D, et al. MiRNA-based biomarkers, therapies, and resistance in cancer. *International Journal of Biological Sciences*, 2020, 16(14): 2628-2647.
- [29] Chen W W, Cao R K, Su W T, et al. Simple and fast isolation of circulating exosomes with a chitosan modified shuttle flow microchip for breast cancer diagnosis. *Lab on a Chip*, 2021, 21(9): 1759-1770.
- [30] Chen Y, Zhai L Y, Zhang L M, et al. Breast cancer plasma biopsy by *in situ* determination of exosomal microRNA-1246 with a molecular beacon. *The Analyst*, 2021, 146(7): 2264-2276.
- [31] Li D, Wang J, Ma L J, et al. Identification of serum exosomal miR-148a as a novel prognostic biomarker for breast cancer. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 2020, 24(13): 7303-7309.
- [32] Jang J Y, Kim Y S, Kang K N, et al. Multiple microRNAs as biomarkers for early breast cancer diagnosis. *Molecular and Clinical Oncology*, 2021, 14(2): 31.
- [33] Hirschfeld M, Rücker G, Weiß D, et al. Urinary exosomal microRNAs as potential non-invasive biomarkers in breast cancer detection. *Molecular Diagnosis & Therapy*, 2020, 24(2): 215-232.
- [34] Lan F M, Zhang X D, Li H B, et al. Serum exosomal lncRNA XIST is a potential non-invasive biomarker to diagnose recurrence of triple-negative breast cancer. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 2021, 25(16): 7602-7607.
- [35] Zhong G B, Wang K Q, Li J W, et al. Determination of serum exosomal H19 as a noninvasive biomarker for breast cancer diagnosis. *OncoTargets and Therapy*, 2020, 13: 2563-2571.
- [36] Wang Y L, Liu L C, Hung Y, et al. Long non-coding RNA HOTAIR in circulatory exosomes is correlated with ErbB2/HER2 positivity in breast cancer. *The Breast*, 2019, 46: 64-69.
- [37] Tang S C, Zheng K, Tang Y Y, et al. Overexpression of serum exosomal HOTAIR is correlated with poor survival and poor response to chemotherapy in breast cancer patients. *Journal of Biosciences*, 2019, 44(2): 37.
- [38] Gopikrishnan M, R H C, R G, et al. Therapeutic and diagnostic applications of exosomal circRNAs in breast cancer. *Functional & Integrative Genomics*, 2023, 23(2): 184.
- [39] Lin L, Cai G X, Zhai X M, et al. Plasma-derived extracellular vesicles circular RNAs serve as biomarkers for breast cancer diagnosis. *Frontiers in Oncology*, 2021, 11: 752651.
- [40] Wang J Y, Zhang Q, Zhou S Y, et al. Circular RNA expression in exosomes derived from breast cancer cells and patients. *Epigenomics*, 2019, 11(4): 411-421.
- [41] Chen T, Wang X L, Li C, et al. CircHIF1A regulated by FUS accelerates triple-negative breast cancer progression by modulating NFIB expression and translocation. *Oncogene*, 2021, 40(15): 2756-2771.
- [42] Liang Y R, Song X J, Li Y M, et al. CircKDM4C suppresses tumor progression and attenuates doxorubicin resistance by regulating miR-548p/PBLD axis in breast cancer. *Oncogene*, 2019, 38(42): 6850-6866.
- [43] Chaudhary P, Gibbs L D, Maji S, et al. Serum exosomal-annexin A2 is associated with African-American triple-negative breast cancer and promotes angiogenesis. *Breast Cancer Research*, 2020, 22(1): 11.
- [44] Lee S J, Lee J, Jung J H, et al. Exosomal del-1 as a potent diagnostic marker for breast cancer: prospective cohort study. *Clinical Breast Cancer*, 2021, 21(6): e748-e756.
- [45] Mei K N, Yan T H, Wang Y, et al. Magneto-nanomechanical array biosensor for ultrasensitive detection of oncogenic exosomes for early diagnosis of cancers. *Small*, 2023, 19(9): e2205445.
- [46] Zhou Y, Xu H Y, Wang H, et al. Detection of breast cancer-derived exosomes using the horseradish peroxidase-mimicking DNzyme as an aptasensor. *The Analyst*, 2019, 145(1): 107-114.
- [47] Wang H Z, He D G, Wan K J, et al. *In situ* multiplex detection of serum exosomal microRNAs using an all-in-one biosensor for breast cancer diagnosis. *The Analyst*, 2020, 145(9): 3289-3296.
- [48] Qin X L, Xiang Y H, Li N, et al. Simultaneous detection of cancerous exosomal miRNA-21 and PD-L1 with a sensitive dual-cycling nanoprobe. *Biosensors and Bioelectronics*, 2022, 216: 114636.
- [49] Xie Y, Su X M, Wen Y, et al. Artificial intelligent label-free SERS profiling of serum exosomes for breast cancer diagnosis and postoperative assessment. *Nano Letters*, 2022, 22(19): 7910-7918.
- [50] Li G H, Zhu N H, Zhou J, et al. A magnetic surface-enhanced

- Raman scattering platform for performing successive breast cancer exosome isolation and analysis. *Journal of Materials Chemistry B*, 2021, 9(11): 2709-2716.
- [51] Wu H M, Wang Q M, Zhong H, et al. Differentially expressed microRNAs in exosomes of patients with breast cancer revealed by next-generation sequencing. *Oncology Reports*, 2020, 43(1): 240-250.
- [52] Zou X, Li M H, Huang Z B, et al. Circulating miR-532-502 cluster derived from chromosome X as biomarkers for diagnosis of breast cancer. *Gene*, 2020, 722: 144104.
- [53] Wang X, Qian T Y, Bao S Q, et al. Circulating exosomal miR-363-5p inhibits lymph node metastasis by downregulating PDGFB and serves as a potential noninvasive biomarker for breast cancer. *Molecular Oncology*, 2021, 15(9): 2466-2479.
- [54] Zou X, Xia T S, Li M H, et al. MicroRNA profiling in serum: potential signatures for breast cancer diagnosis. *Cancer Biomarkers*, 2021, 30(1): 41-53.
- [55] Fan Y, Wang J, Jin W, et al. CircNR3C2 promotes HRD1-mediated tumor-suppressive effect via sponging miR-513a-3p in triple-negative breast cancer. *Molecular Cancer*, 2021, 20(1): 25.
- [56] 毛露珈, 史恩宇, 王瀚平, 等. 细菌外膜囊泡在抗肿瘤治疗方面的研究进展. *中国生物工程杂志*, 2022, 42(5): 100-105.
- Mao L J, Shi E Y, Wang H P, et al. Research progress of bacterial outer membrane vesicles in anti-tumor therapy. *China Biotechnology*, 2022, 42(5): 100-105.
- [57] Zhang J Q, Dos Anjos C H, Sevilimedu V, et al. Association of moderate-risk breast cancer genes with contralateral prophylactic mastectomy and bilateral disease. *Annals of Surgical Oncology*, 2023, 30(12): 6990-6999.
- [58] He J, Yu Y R, He Y L, et al. Chemotherapy induces breast cancer stem cell enrichment through repression of glutathione S-transferase Mu. *Genes & Diseases*, 2024, 11(2): 528-531.
- [59] Diao K, Lei X D, He W G, et al. Patient-reported quality of life after breast-conserving surgery with radiotherapy versus mastectomy and reconstruction. *Annals of Surgery*, 2023, 278(5): e1096-e1102.
- [60] Li X H, Hou L L, Yin L, et al. LncRNA XIST interacts with miR-454 to inhibit cells proliferation, epithelial mesenchymal transition and induces apoptosis in triple-negative breast cancer. *Journal of Biosciences*, 2020, 45(1): 45.
- [61] Xing L, Tang X L, Wu K K, et al. LncRNA HAND2-AS1 suppressed the growth of triple negative breast cancer via reducing secretion of MSCs derived exosomal miR-106a-5p. *Aging*, 2020, 13(1): 424-436.
- [62] Yang P X, Cao X J, Cai H L, et al. The exosomes derived from CAR-T cell efficiently target mesothelin and reduce triple-negative breast cancer growth. *Cellular Immunology*, 2021, 360: 104262.
- [63] Zhou Y Y, Yamamoto Y, Takeshita F, et al. Delivery of miR-424-5p via extracellular vesicles promotes the apoptosis of MDA-MB-231 TNBC cells in the tumor microenvironment. *International Journal of Molecular Sciences*, 2021, 22(2): 844.
- [64] Guo J, Duan Z J, Zhang C, et al. Mouse 4T1 breast cancer cell-derived exosomes induce proinflammatory cytokine production in macrophages via miR-183. *Journal of Immunology*, 2020, 205(10): 2916-2925.
- [65] Du J, Fan J J, Dong C, et al. Inhibition effect of exosomes-mediated Let-7a on the development and metastasis of triple negative breast cancer by down-regulating the expression of c-Myc. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 2019, 23(12): 5301-5314.
- [66] Kim J E, Kim B G, Jang Y, et al. The stromal loss of miR-4516 promotes the FOSL1-dependent proliferation and malignancy of triple negative breast cancer. *Cancer Letters*, 2020, 469: 256-265.
- [67] Wang H B, Wei H, Wang J S, et al. MicroRNA-181d-5p-containing exosomes derived from CAFs promote EMT by regulating CDX2/HOXA5 in breast cancer. *Molecular Therapy - Nucleic Acids*, 2020, 19: 654-667.
- [68] Nelson R A, Guye M L, Luu T, et al. Survival outcomes of metaplastic breast cancer patients: results from a US population-based analysis. *Annals of Surgical Oncology*, 2015, 22(1): 24-31.
- [69] Park E J, Jung H J, Choi H J, et al. Exosomes co-expressing AQP5-targeting miRNAs and IL-4 receptor-binding peptide inhibit the migration of human breast cancer cells. *FASEB Journal*, 2020, 34(2): 3379-3398.
- [70] Zhao L W, Gu C Y, Gan Y, et al. Exosome-mediated siRNA delivery to suppress postoperative breast cancer metastasis. *Journal of Controlled Release*, 2020, 318: 1-15.
- [71] 吕慧中, 赵晨辰, 朱链, 等. 外泌体靶向递药在肿瘤治疗中的进展. *中国生物工程杂志*, 2021, 41(5): 79-86.
- Lv H Z, Zhao C C, Zhu L, et al. Progress of using exosome for drug targeted delivery in tumor therapy. *China Biotechnology*, 2021, 41(5): 79-86.
- [72] Liang Y J, Duan L, Lu J P, et al. Engineering exosomes for targeted drug delivery. *Theranostics*, 2021, 11(7): 3183-3195.
- [73] Gong C N, Tian J, Wang Z, et al. Functional exosome-mediated co-delivery of doxorubicin and hydrophobically modified microRNA 159 for triple-negative breast cancer therapy. *Journal of Nanobiotechnology*, 2019, 17(1): 93.
- [74] Ni C, Fang Q Q, Chen W Z, et al. Breast cancer-derived exosomes transmit lncRNA SNHG16 to induce CD73 + $\gamma\delta$ 1 Treg cells. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 2020, 5

- (1): 41.
- [75] Lu Y H, Chen L, Li L D, et al. Exosomes derived from brain metastatic breast cancer cells destroy the blood-brain barrier by carrying lncRNA GS1-600G8.5. *BioMed Research International*, 2020, 2020: 7461727.
- [76] Wang Y Q, Wang S R, Chen A P, et al. Efficient exosome subpopulation isolation and proteomic profiling using a Sub-ExoProfile chip towards cancer diagnosis and treatment. *The Analyst*, 2022, 147(19): 4237-4248.
- [77] Li S, Wu Y J, Ding F, et al. Engineering macrophage-derived exosomes for targeted chemotherapy of triple-negative breast cancer. *Nanoscale*, 2020, 12(19): 10854-10862.
- [78] Wang L, Xie Y F, Ahmed K A, et al. Exosomal pMHC-I complex targets T cell-based vaccine to directly stimulate CTL responses leading to antitumor immunity in transgenic FVBneuN and HLA-A2/HER2 mice and eradicating trastuzumab-resistant tumor in athymic nude mice. *Breast Cancer Research and Treatment*, 2013, 140(2): 273-284.
- [79] Dong X L, Bai X P, Ni J, et al. Exosomes and breast cancer drug resistance. *Cell Death & Disease*, 2020, 11(11): 987.
- [80] Chinnappan M, Srivastava A, Amreddy N, et al. Exosomes as drug delivery vehicle and contributor of resistance to anticancer drugs. *Cancer Letters*, 2020, 486: 18-28.
- [81] Jia Z M, Zhu H M, Sun H G, et al. Adipose mesenchymal stem cell-derived exosomal microRNA-1236 reduces resistance of breast cancer cells to cisplatin by suppressing SLC9A1 and the Wnt/ β -catenin signaling. *Cancer Management and Research*, 2020, 12: 8733-8744.
- [82] Wang B, Zhang Y Z, Ye M N, et al. Cisplatin-resistant MDA-MB-231 cell-derived exosomes increase the resistance of recipient cells in an exosomal miR-423-5p-dependent manner. *Current Drug Metabolism*, 2019, 20(10): 804-814.
- [83] Han M L, Hu J G, Lu P W, et al. Exosome-transmitted miR-567 reverses trastuzumab resistance by inhibiting ATG5 in breast cancer. *Cell Death & Disease*, 2020, 11(1): 43.
- [84] 常磊, 卓至丽, 卢雯平, 等. 疏肝益肾方治疗乳腺癌内分泌耐药的临床观察及对外泌体 miR-221 的影响. *北京中医药大学学报*, 2022, 45(12): 1295-1302.
- Chang L, Zhuo Z L, Lu W P, et al. Clinical observation of Shugan Yishen Recipe on the patients of endocrine resistance in breast cancer and effects on exosome miR-221. *Journal of Beijing University of Traditional Chinese Medicine*, 2022, 45(12): 1295-1302.
- [85] Dou D W, Ren X Y, Han M L, et al. Cancer-associated fibroblasts-derived exosomes suppress immune cell function in breast cancer via the miR-92/PD-L1 pathway. *Frontiers in Immunology*, 2020, 11: 2026.
- [86] Liu J H, Zhu S L, Tang W, et al. Exosomes from tamoxifen-resistant breast cancer cells transmit drug resistance partly by delivering miR-9-5p. *Cancer Cell International*, 2021, 21(1): 55.
- [87] Chen W X, Wang D D, Zhu B, et al. Exosomal miR-222 from adriamycin-resistant MCF-7 breast cancer cells promote macrophages M2 polarization via PTEN/Akt to induce tumor progression. *Aging*, 2021, 13(7): 10415-10430.

Research Progress of Small Extracellular Vesicles in the Diagnosis and Treatment of Breast Cancer

WANG Shangzhi¹ ZHANG Jin¹ YANG Mingrui¹ YAN Bin²

(1 School of Pharmacy, Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250355, China)

(2 College of Traditional Chinese Medicine, Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250355, China)

Abstract Small extracellular vesicles (sEVs) are a class of extracellular vesicles with a lipid bilayer membrane structure, which can participate in intercellular communication and be used as nanovesicles for drug delivery. The microRNA (miRNA), long non-coding RNA (lncRNA), circular RNA (circRNA), and proteins in sEVs are important mechanisms to regulate the development of tumors, and reflect the physiological and functional states of cells. They are present in large quantities in the plasma, urine, and saliva of patients, so the analysis and detection of sEVs may become a novel means of tumor diagnosis. In addition to being a biomarker for tumor diagnosis, sEVs can also regulate the invasion and metastasis of tumor cells, drug resistance, cytokine

secretion and expression, and immune response via their contents or as specific drug delivery carriers to exert their anti-tumor effects. This paper summarizes the last five years of research on the use of RNAs (miRNAs, lncRNAs, circRNAs) and proteins in sEVs as biomarkers for breast cancer diagnosis and their therapeutic potential in breast cancer, and describes the advantages and shortcomings of sEVs as a new type of diagnostic and therapeutic method to provide references for the future clinical application of sEVs in the field of breast cancer diagnosis and treatment.

Key words Small extracellular vesicles Exosomes Breast cancer Biomarkers Delivery carrier
Diagnosis and treatment