

·综述·

DOI: 10.13865/j.cnki.cjbmb.2018.12.04

外泌体作为疾病诊断标志物及药物载体的应用前景

程显达, 王浩*, 李庆伟*

(辽宁师范大学生命科学学院, 辽宁师范大学七鳃鳗研究中心, 辽宁大连 116081)

摘要 作为一种纳米级别的囊泡, 外泌体的相关研究近年来逐渐成为热点。外泌体来源于细胞内的多囊泡胞内体, 经由细胞膜释放到细胞外。由于来自特定细胞类型的外泌体含有多种特异性的蛋白质和 microRNA, 使其成为了可以广泛用于疾病诊断及预后的新型生物标志物。相较于其他外源性药物载体, 外泌体具有更低的免疫原性, 并能够靶向作用于病变细胞。这使得由细胞天然产生或经过人工改造的外泌体作为一种新兴的药物载体具有良好的发展前景。特别是近几年, 外泌体在临床应用领域的发展潜力不断获得拓展, 针对肿瘤、糖尿病、心脑血管疾病、神经退行性病变等重大疾病, 以外泌体为基础的疾病诊断和药物的研发都取得了快速的进步。本篇综述重点介绍了外泌体作为一种生物标志物在疾病诊断和预后中的应用, 同时阐述了外泌体作为一种新兴的药物载体所具有的优势以及存在的问题。

关键词 外泌体; 疾病诊断; 药物载体

中图分类号 Q734; Q28; R446; R915

Prospects for Exosomes as Diagnostic Markers and Drug Carriers

CHENG Xian-Da, WANG Hao*, LI Qing-Wei*

(School of Life Sciences, Lamprey Research Center, Liaoning Normal University, Dalian 116081, Liaoning, China)

Abstract As a kind of nano-scale vesicles, related research on exosomes has become a hot topic in recent years. Exosomes are derived from multi-vesicular endosomes (MVBs) and are released into extracellular space after the MVBs fused with the cell membrane. Because exosomes from specific cell types contain a variety of specific proteins and microRNAs, they can be widely used as innovative biomarkers for disease diagnosis and prognosis. Compared with other exogenous drug carriers, exosomes have lower immunogenicity and can target the diseased cells. The application potential of exosomes in clinics has been continuously expanded, such as that exosomes produced naturally or artificially by cells may be potentially developed as a new drug carrier. In addition, rapid progress has been made on exosomes-based diagnostic methods and drug development for major diseases such as cancer, diabetes, cardiovascular, cerebrovascular, and neurodegenerative diseases. This review focuses on the role of exosomes as biomarkers in disease diagnosis and prognosis, as well as the advantages and problems of exosomes as emerging drug delivery vehicles.

Key words exosomes; disease diagnosis; drug delivery vehicles

收稿日期: 2018-09-12; 修回日期: 2018-09-30; 接受日期: 2018-10-15

国家自然科学基金项目(No. 31601150); 中国博士后科学基金(No. 165592)和辽宁省博士科研启动基金(No. 201601241)资助

* 通讯作者 Tel: 0411-85827065, 0411-85827799; E-mail: haow_6@hotmail.com, liqw@263.com

Received: September 12, 2018; Revised: September 30, 2018; Accepted: October 15, 2018

Supported by National Natural Science Foundation of China (No. 31601150); Postdoctoral Science Foundation of China (No. 165592) and Doctoral Scientific Research Foundation of Liaoning Province (No. 201601241)

* Corresponding author Tel: 0411-85827065, 0411-85827799; E-mail: haow_6@hotmail.com; liqw@263.com

1 外泌体的生物学特征及功能

作为一种新近发现的细胞间通讯媒介,外泌体(exosomes)的相关研究在最近几年逐渐成为热点。外泌体最早是从羊网织红细胞培养上清中分离出来,随后的研究确认了这种膜泡的特征、分泌途径及其重要功能^[1, 2]。外泌体是直径为 30 ~ 100 纳米的膜泡结构,密度约为 1.15 ~ 1.19 g/mL^[1, 3]。外泌体的形成过程相对复杂^[4]:首先,在胞外环境刺激下,细胞发生内吞,其细胞膜向内凹陷出芽形成一个封闭的囊泡,称为早期胞内体(early endosomes)。随后,早期胞内体逐渐成熟为晚期胞内体(late endosomes)。在此过程中,其膜再次向内出芽并脱落,形成一系列内囊泡(intraluminal vesicles, ILVs),将细胞质基质中相应的蛋白质与核酸选择性包裹其中。这种含有许多囊泡的胞内体称为多囊泡胞内体(multi-vesicular endosomes, MVBs)。多囊泡胞内体与质膜融合后,其中的内囊泡被释放至细胞外,从而形成外泌体。当外泌体分泌之后,一般遵从以下 3 种通路 with 靶细胞互相作用:(1)被邻近的细胞捕获(或者被将它们分泌出去的细胞捕获);(2)被距离很远的细胞摄入;(3)参与到系统循环并被其他组织吸收^[5]。

无论哪种细胞释放的外泌体都携带若干标志性的蛋白质分子^[6]。例如,参与多囊泡胞内体生物发生的分子 TSG101 (tumor susceptibility gene 101 protein) 和 ALIX (ALG-2 interacting protein X)、热休克蛋白 70 与 90 (heat shock protein 70, HSP70; Heat shock protein 90, HSP90)、膜联蛋白(annexin V)、Rab 家族蛋白质、四次跨膜蛋白质(CD9, CD63, CD81)等。外泌体中还存在一些与其细胞来源相关的特定蛋白质,例如抗原呈递细胞(B 细胞或树突状细胞)所释放外泌体中含有 II 类主要组织相容性复合体(major histocompatibility complex class II, MHC II),或肿瘤细胞来源外泌体中含有肿瘤抗原,例如 MLANA / MART1 (melanoma antigen recognized by T-cells 1)^[1]。除了含有蛋白质外,外泌体还携带诸如 mRNA、非编码 RNA 包括 microRNA 分子等,并且将这些分子转运到靶细胞中。这一特点使得遗传信息通过外泌体转移到距离很远的靶细胞成为了可能。外泌体以上的这些性质,为外泌体作为疾病诊断的分子标记物,以及用于生物治疗的药物载体提供了广泛的理论基础^[7]。

2 外泌体作为诊断标记物的潜能

外泌体的特征之一是其中富集了其来源细胞特异性的蛋白质或 miRNA^[8]。此外,外泌体可以从血液、尿液、唾液、羊水、恶性腹水、支气管肺泡灌洗液和母乳等体液中分离出来。这些特征是外泌体作为疾病诊断和预后的潜在生物标志物的研究起点^[9, 10]。

2.1 外泌体所含 miRNA 作为诊断标记物的应用

miRNA 是一种小型 RNA 分子,广泛参与细胞中各种转录后的基因表达调控,也存在于外泌体中^[11]。当机体被疾病侵染时,引起血液、组织液等体液中特定 miRNA 高度表达,这些 miRNA 能够借助外泌体的保护,防止被体液中广泛存在的核酸酶降解。而这一特点也使得通过检测外泌体中特定 miRNA 的含量来诊断疾病成为了可能。此前,诸多研究都致力于将外泌体中的 miRNA 作为一种生物标记物来诊断癌症。例如,在鼻咽癌、胰腺癌等多种癌症中,都有关于将外泌体携带的 miRNA 用以癌症诊断的报告^[12, 13]。外泌体作为分子标记物的潜力不仅限于肿瘤。近年来,越来越多的研究旨在揭示外泌体所携带的 miRNA 与肌肉、脂肪等其他组织所涉及疾病的相关性。例如, Mateescu 等^[14]研究发现,胰腺细胞释放的外泌体所携带的 miR-15a,通过诱导氧化应激增加糖尿病并发症的发生率。该研究进一步指出,2 型糖尿病患者的胰腺细胞外泌体中的 miR-15a 可以作为糖尿病的并发症,如视网膜损伤等疾病的诊断标记物。而在血液循环系统中的外泌体携带的多种 miRNA 都能作为疾病诊断的分子标记物。例如,血浆中的外泌体所携带的 miR126-5p,在获得性再生障碍性贫血和骨髓增生异常综合征患者体内有显著的上调趋势,其表达量越高,患者生命周期越短,可以作为诊断这类疾病预后的生物标记物^[15]。而在扩张型心肌病引起的急性心力衰竭的患者血清外泌体中,存在着 miR-92b-5p 明显上调的现象,并且与患者疾病的严重程度呈现正相关的趋势,是急性心力衰竭诊断的潜在标志物^[16]。同时,血清外泌体所携带的 miR-122-5p、miR-196b-5p、miR-301a-3p 和 miR-532-5p 在多发性硬化症疾病患者中明显下调。而同样的现象也出现在患者的外周血单个核细胞(peripheral blood mononuclear cell, PBMC)所释放的外泌体中。这表明,外泌体中 miRNA 可能是预测多发性硬化症复发的潜在生物标志物^[17]。这些研究表明,诸多疾病都会引起细胞

释放的外泌体所携带的 miRNA 出现特异性表达上调/下调,而这些特点揭示了外泌体可以作为疾病诊断的潜在分子标记物^[18]。

2.2 外泌体所含蛋白质作为诊断标记物的应用

除了外泌体所含 miRNA 可以作为疾病诊断潜在的分子标记物之外,在疾病进展中的某些病理性高表达蛋白质也会在外泌体中有所富集,使其能够作为一种分子标记物进行疾病诊断^[8, 19]。例如 Tan 等^[20]研究发现,在女性妊娠期血浆中的外泌体所含有的组织金属蛋白酶抑制因子 1 (tissue inhibitor of metalloproteinase-1, TIMP-1)、纤溶酶原激活物抑制因子 1 (plasminogen activator inhibitor-1, PAI-1)、胎盘生长因子(placental growth factor, PLGF) 3 种标记物能用于对先兆子痫的预测和筛查。与现有先兆子痫生物标志物相比,外泌体生物标志物具有更强的预测稳定性,足以在低风险的普通妊娠期人群中进行有效的先兆子痫筛查。在神经退行性疾病方面, Sardar 等^[21]研究指出,阿尔茨海默症认知功能的恶化与 β 淀粉样蛋白在脑神经元中的高表达有关,而在阿尔茨海默症患者大脑的神经元来源的外泌体中,存在 β 淀粉样蛋白高度富集的现象。由于神经元外泌体在血液等体液中易于分离,并且含有特异性标记分子易于鉴定,因此,神经元外泌体可作为阿尔茨海默症的诊断标记物。此外,在癌症治疗过程中,外泌体所携带的糖原磷酸化酶 (glycogen phosphorylase, GP) 也可作为化疗过程中多柔比星 (Doxorubicin) 对心损伤的标志物^[22]。以上发现均指出,外泌体作为一种细胞外微囊泡,在诸多疾病的诊断和预后中都发挥了关键性作用,外泌体在细胞间通讯所携带的诸多特异性蛋白质和 miRNA,都为疾病早期诊断提供了潜在的标记物和靶点 (Fig. 1A)。

2.3 以外泌体为标记物的临床检测平台的发展

将外泌体作为诊断标记物的首要条件之一是建立一套准确、快速和灵敏度高的临床检测平台。一直以来,外泌体检测平台都是围绕流式细胞术为核心,对外泌体表面一系列特异蛋白质标记分子进行筛选和检测^[23]。而近年来,随着外泌体在疾病诊断中的重要作用逐渐引起关注,对于外泌体的临床检测手段也取得了一系列创新性的发展。Guo 等^[24]提供了一种基于微流控芯片进行外泌体检测的新思路。在疾病诊断和检测方面,相较于传统的检测方法,这类芯片具有体积小、高通量和高精度的特点,更适用于个体化医疗。而 Lee 等^[25]研究发现,通过

拉曼光谱学分析手段可将人血液来源的细胞外囊泡进行分类,进而对前列腺癌等癌症进行诊断。此外,针对由大脑分泌进入血清中的外泌体,通过表面等离子体共振成像技术 (surface plasmon resonance imaging, SPRI) 能对其表征进行精准测量^[26]。而针对外泌体的量化研究, Kabe 团队开发了一种名为 ExoCounter 的新型装置,用于检测各种类型癌症患者血清中外泌体的确切数量,同时,对于外泌体中一些特异性标记分子进行量化检测^[27]。作者利用预先交联在一个光盘表面的抗体去识别并结合外泌体表面抗原,从而将外泌体捕获在光盘凹槽中,通过抗体偶联的磁性纳米珠进一步标记被捕获的外泌体,并用光盘驱动器对被标记的外泌体进行计数。该系统的检测灵敏度和线性度均高于 ELISA 或流式细胞术等传统检测方法,实现了准确可靠的液体活检。总之,以外泌体为核心的临床检测平台正处于快速发展之中,未来有望准确测定外泌体表面蛋白质的分布情况,并通过外泌体追踪其来源细胞的病理状态,从而为建立高效的以外泌体为基础的疾病诊断体系提供强有力的技术支撑。

3 外泌体作为靶向药物载体的应用

外泌体的内源性及其纳米级别的体积,加之在细胞通讯中的重要作用,使得外泌体作为药物载体拥有着其他载体分子难以企及的两大优势^[28]。首先是其内源性,使得外泌体能够通过血液循环系统顺畅地到达身体的各个组织与器官,并可在不引发机体免疫反应的情况下释放内容物^[29]。其次是对疾病发生期间细胞释放的外泌体,其成分发生一系列变化,使外泌体膜表面或者囊泡内携带靶向识别病变细胞的蛋白质,这也使得利用外泌体进行靶向治疗成为了可能^[30]。总之,外泌体作为一种内源性的靶向药物载体,有着广阔的应用前景。

3.1 天然产生的外泌体作为药物治疗疾病

部分细胞所自然产生的外泌体对于治疗疾病有着巨大的潜质。Dong 团队研究发现,人血清外泌体在体外能恢复缺血性肌营养不良细胞的细胞功能^[31]。除此之外,间充质干细胞来源的外泌体能够通过促进增殖,抑制细胞凋亡和调节免疫反应来介导软骨修复^[32]。同时,脐带来源的间充质干细胞外泌体,通过活化血小板衍生的生长因子 D (platelet derived growth factor D, PDGF-D) 来改善心肌细胞再生和促进血管生成^[33]。值得注意的是,外泌体作为一种纳米级载体,可不经修饰穿过血脑屏障。这使

得将外泌体作为一种药物载体治疗部分脑损伤疾病成为了可能。Yang 等^[34]研究指出,间充质干细胞释放的外泌体可能用于治疗创伤性脑损伤及其引发的神经性炎症。而 Yuan 等通过研究发现,巨噬细胞来源的外泌体可以将大脑衍生的神经营养因子 (brain-derived neurotrophic factor, BDNF) 输送到脑神经元中,并且这一现象随着脑炎症的加剧而增强。这一发现为治疗神经中枢疾病提供了一种潜在的载体^[35]。而同样作为载体的还有血红细胞来源的外泌体,针对疟原虫感染过后的人体,血红细胞将数百种 miRNA 复合物通过外泌体转移到寄生虫内,这为靶向消灭恶性疟原虫感染提供了一种思路^[36, 37]。

3.2 外泌体作为载体搭载药物治疗疾病

外泌体不仅本身能作为药物治疗部分疾病,而且外泌体的结构为内容物的高效和靶向性的运输提供了保障,这是不同于外源药物的先天优势。近年来,对于外泌体靶向药物的研究已经不仅局限于将天然条件下的外泌体作为药物载体,而是对外泌体进行一定程度的改造,增强其作为药物载体的靶向性,并延长其半衰期,从而持续有效的治疗特定疾病。Liu 等^[38]通过对干细胞外泌体进行改造,利用光诱导亚胺交联水凝胶胶原蛋白作为外泌体支架,可以诱导其持续不断地刺激软骨再生。Wang 等^[39]成功设计出一种针对性的 miRNA,其通过外泌体靶向运输,从而

阻断疱疹病毒的复制。Haney 团队^[40]通过皂化、超声等方法,获得了长时间携带过氧化氢酶的外泌体,从而更有效地靶向治疗帕金森病。此外,对于目前已有的一些物理性治疗手段,外泌体因其高度的靶向性也提升了其治疗的准确度和精度。例如,在肿瘤治疗方面,由磁性材料介导的热疗是一种用于消除目前难以治疗的肿瘤的有效微创策略。而 Altanerova 等^[41]研究指出,将间充质干细胞用特殊的氧化铁纳米颗粒标记后,可以释放含有氧化铁的外泌体,这种外泌体可以被肿瘤细胞内吞。当使用外部交变磁场诱导热疗后,能有效地消融肿瘤细胞。这种方法比传统的磁热疗法精度更高。除此之外,针对如何大量制备低毒或无毒的用于靶向治疗的外泌体,Usman 等的研究为人们提供了一种新型的给药策略^[42]。作者选取了人类成熟红细胞来源的外泌体,由于人成熟红细胞具有大量获得的特性,因此,其释放的外泌体可能用于大规模制备靶向给药的通用载体。同时,由于成熟红细胞没有细胞核,并且其外泌体不含有 DNA 的特性,这种外泌体相较于其他的靶向药物载体有两个优势:一是当其携带具有 DNA 或 RNA 编辑功能的药物时,不存在其他遗传物质的干扰;二是不同于来自有核细胞类型的外泌体,红细胞外泌体的囊泡膜结构及受体也相对简单,作为靶向给药载体对于机体的毒性也更小 (Fig. 1B)。

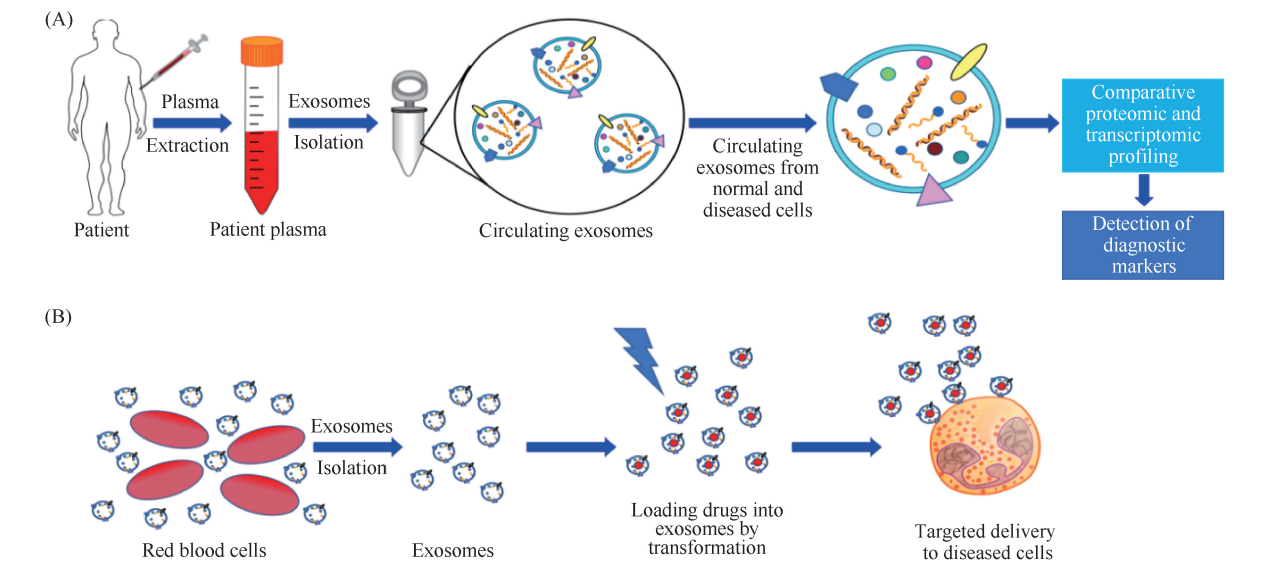


Fig. 1 Applications of exosomes in diagnostic markers and drug delivery vehicles (A) Plasma from patients contains circulating exosomes derived from a variety of cells including normal and diseased cells. After purification of circulating exosomes, comparative proteomic or transcriptomic analysis of proteins and miRNAs enriched in exosomes from patients and normal controls were performed, which makes it possible to discover novel biomarkers for disease diagnosis and prognosis. (B) It is easier to obtain blood in large quantities than other body fluids, and red blood cells – derived exosomes can be a rich source for drug delivery vehicles. By loading drugs into exosomes, they can be delivered to diseased cells with high targeting accuracy

4 问题与展望

外泌体作为一种新兴的诊断标记物及药物载体,在应用方面还存在着许多挑战。目前,将外泌体作为疾病诊断的分子标记物所存在的主要问题有两个:一是传统方法获得的外泌体纯度和得率都较低,难以实现高通量的检测;二是目前缺少有效的快速检测外泌体表征的技术方法。除此之外,外泌体在体外长时间储存的方法也有待优化^[43]。

在靶向给药方面,前文提到,目前利用外泌体进行靶向给药的主要策略有两种。一是使用天然外泌体作为药物载体进行靶向给药,但是这一方法的缺陷在于天然外泌体囊泡表面含有多种不同配体或受体分子,意味着其可能同时作用于多种受体细胞,在临床上可能导致靶向性较低,可控性较低。二是对天然外泌体进行特定的改造,这一方法无疑会使得外泌体的靶向性得到一定的提升。但是,在一定程度上也丧失了外泌体内源性的先天优势,改造后的外泌体是否可以避免机体的免疫应答,也是这一策略所面临的重要难题。而对外泌体的进一步研究和技術上的进一步革新,将有助于这些问题的解决,推动外泌体作为诊断标记物或者靶向药物载体在临床上的广泛深度应用。

参考文献 (References)

[1] 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 [J]. *Front Immunol*, 2015, **6**: 203

[2] Shah R, Patel T, Freedman JE. Circulating extracellular vesicles in human disease [J]. *N Engl J Med*, 2018, **379** (10): 958-966

[3] Takeuchi T, Suzuki M, Fujikake N, *et al.* Intercellular chaperone transmission via exosomes contributes to maintenance of protein homeostasis at the organismal level [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2015, **112**(19): E2497-2506

[4] Zomer A, Maynard C, Verweij FJ, *et al.* In Vivo imaging reveals extracellular vesicle-mediated phenocopying of metastatic behavior [J]. *Cell*, 2015, **161**(5): 1046-1057

[5] Pugholm LH, Revenfeld AL, Sondergaard EK, *et al.* Antibody-based assays for phenotyping of extracellular vesicles [J]. *Biomed Res Int*, 2015, **2015**: 524817

[6] Van Niel G, D'angelo G, Raposo G. Shedding light on the cell biology of extracellular vesicles [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2018, **19**(4): 213-228

[7] Kourembanas S. Exosomes: vehicles of intercellular signaling, biomarkers, and vectors of cell therapy [J]. *Annu Rev Physiol*, 2015, **77**: 13-27

[8] Momen-Heravi F, Getting SJ, Moschos SA. Extracellular vesicles and their nucleic acids for biomarker discovery [J]. *Pharmacol Ther*, 2018, pii: S0163-7258(18)30134-7

[9] An T, Qin S, Xu Y, *et al.* Exosomes serve as tumour markers for personalized diagnostics owing to their important role in cancer metastasis [J]. *J Extracell Vesicles*, 2015, **4**: 27522

[10] Li W, Li C, Zhou T, *et al.* Role of exosomal proteins in cancer

diagnosis [J]. *Mol Cancer*, 2017, **16**(1): 145

[11] Fleshner M, Crane CR. Exosomes, DAMPs and miRNA: features of stress physiology and immune homeostasis [J]. *Trends Immunol*, 2017, **38**(10): 768-776

[12] Lu J, Liu QH, Wang F, *et al.* Exosomal miR-9 inhibits angiogenesis by targeting MDK and regulating PDK/AKT pathway in nasopharyngeal carcinoma [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2018, **37**(1): 147

[13] Binenbaum Y, Fridman E, Yaari Z, *et al.* Transfer of miRNA in macrophage-derived exosomes induces drug resistance of pancreatic adenocarcinoma [J]. *Cancer Res*, 2018, **78** (18): 5287-5299

[14] Mateescu B, Kowal EJ, Van Balkom BW, *et al.* Obstacles and opportunities in the functional analysis of extracellular vesicle RNA - an ISEV position paper [J]. *J Extracell Vesicles*, 2017, **6**(1): 1286095

[15] Castro-Marrero J, Serrano-Pertierra E, Oliveira-Rodriguez M, *et al.* Circulating extracellular vesicles as potential biomarkers in chronic fatigue syndrome/myalgic encephalomyelitis: an exploratory pilot study [J]. *J Extracell Vesicles*, 2018, **7** (1): 1453730

[16] Wu T, Chen Y, Du Y, *et al.* Serum exosomal MiR-92b-5p as a potential biomarker for acute heart failure caused by dilated cardiomyopathy [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2018, **46** (5): 1939-1950

[17] Selmaj I, Cichalewska M, Namiecinska M, *et al.* Global exome transcriptome profiling reveals biomarkers for multiple sclerosis [J]. *Ann Neurol*, 2017, **81**(5): 703-717

[18] Zinoviev A, Goyal A, Jindal S, *et al.* Functions of unconventional mammalian translational GTPases GTPBP1 and GTPBP2 [J]. *Genes Dev*, 2018, **32**(17-18): 1226-1241

[19] Wu K, Xing F, Wu SY, *et al.* Extracellular vesicles as emerging targets in cancer: Recent development from bench to bedside [J]. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer*, 2017, **1868**(2): 538-563

[20] Tan KH, Tan SS, Ng MJ, *et al.* Extracellular vesicles yield predictive pre-eclampsia biomarkers [J]. *J Extracell Vesicles*, 2017, **6**(1): 1408390

[21] Sardar Sinha M, Ansell-Schultz A, Civitelli L, *et al.* Alzheimer's disease pathology propagation by exosomes containing toxic amyloid-beta oligomers [J]. *Acta Neuropathol*, 2018, **136**(1): 41-56

[22] Zhu Y, Gius D. Glycogen phosphorylase: A novel biomarker in doxorubicin-induced cardiac injury [J]. *Clin Cancer Res*, 2018, **24**(7): 1516-1517

[23] Tian Y, Ma L, Gong M, *et al.* Protein profiling and sizing of extracellular vesicles from colorectal cancer patients via flow cytometry [J]. *ACS Nano*, 2018, **12**(1): 671-680

[24] Guo SC, Tao SC, Dawn H. Microfluidics-based on-a-chip systems for isolating and analysing extracellular vesicles [J]. *J Extracell Vesicles*, 2018, **7**(1): 1508271

[25] Lee W, Nanou A, Rikkert L, *et al.* Label-free prostate cancer detection by characterization of extracellular vesicles using raman spectroscopy [J]. *Anal Chem*, 2018, **90**(19): 11290-11296

[26] Picciolini S, Gualerzi A, Vanna R, *et al.* Detection and characterization of different brain-derived subpopulations of plasma exosomes by surface plasmon resonance imaging [J]. *Anal Chem*, 2018, **90**(15): 8873-8880

[27] Kabe Y, Suematsu M, Sakamoto S, *et al.* Development of a highly sensitive device for counting the number of disease-specific exosomes in human sera [J]. *Clin Chem*, 2018, **64**(10): 1463-1473

[28] Shang M, Ji JS, Song C, *et al.* Extracellular vesicles: a brief overview and its role in precision medicine [J]. *Methods Mol Biol*, 2017, **1660**: 1-14

[29] Farooqi AA, Desai NN, Qureshi MZ, *et al.* Exosome biogenesis, bioactivities and functions as new delivery systems of natural compounds [J]. *Biotechnol Adv*, 2018, **36**(1): 328-334

[30] Wang J, Yeung BZ, Cui M, *et al.* Exosome is a mechanism of

- intercellular drug transfer: Application of quantitative pharmacology [J]. *J Control Release*, 2017, **268**: 147-158
- [31] Dong X, Gao X, Dai Y, *et al.* Serum exosomes can restore cellular function in vitro and be used for diagnosis in dysferlinopathy [J]. *Theranostics*, 2018, **8**(5): 1243-1255
- [32] Zhang S, Chuah SJ, Lai RC, *et al.* MSC exosomes mediate cartilage repair by enhancing proliferation, attenuating apoptosis and modulating immune reactivity [J]. *Biomaterials*, 2018, **156**: 16-27
- [33] Ma J, Zhao Y, Sun L, *et al.* Exosomes derived from Akt-modified human umbilical cord mesenchymal stem cells improve cardiac regeneration and promote angiogenesis via activating platelet-derived growth factor D [J]. *Stem Cells Transl Med*, 2017, **6**(1): 51-59
- [34] Yang Y, Ye Y, Su X, *et al.* MSCs-derived exosomes and neuroinflammation, neurogenesis and therapy of traumatic brain injury [J]. *Front Cell Neurosci*, 2017, **11**: 55
- [35] Yuan D, Zhao Y, Banks WA, *et al.* Macrophage exosomes as natural nanocarriers for protein delivery to inflamed brain [J]. *Biomaterials*, 2017, **142**: 1-12
- [36] Wang Z, Xi J, Hao X, *et al.* Red blood cells release microparticles containing human argonaute 2 and miRNAs to target genes of *Plasmodium falciparum* [J]. *Emerg Microbes Infect*, 2017, **6**(8): e75
- [37] Zhang W, Jiang X, Bao J, *et al.* Exosomes in pathogen infections: a bridge to deliver molecules and link functions [J]. *Front Immunol*, 2018, **9**: 90
- [38] Liu X, Yang Y, Li Y, *et al.* Integration of stem cell-derived exosomes with in situ hydrogel glue as a promising tissue patch for articular cartilage regeneration [J]. *Nanoscale*, 2017, **9**(13): 4430-4438
- [39] Wang L, Chen X, Zhou X, *et al.* miRNAs targeting ICP4 and delivered to susceptible cells in exosomes block HSV-1 replication in a dose-dependent manner [J]. *Mol Ther*, 2018, **26**(4): 1032-1039
- [40] Haney MJ, Klyachko NL, Zhao Y, *et al.* Exosomes as drug delivery vehicles for Parkinson's disease therapy [J]. *J Control Release*, 2015, **207**: 18-30
- [41] Altanerova U, Babincova M, Babinec P, *et al.* Human mesenchymal stem cell-derived iron oxide exosomes allow targeted ablation of tumor cells via magnetic hyperthermia [J]. *Int J Nanomedicine*, 2017, **12**: 7923-7936
- [42] Usman WM, Pham TC, Kwok YY, *et al.* Efficient RNA drug delivery using red blood cell extracellular vesicles [J]. *Nat Commun*, 2018, **9**(1): 2359
- [43] He C, Zheng S, Luo Y, *et al.* Exosome theranostics: biology and translational medicine [J]. *Theranostics*, 2018, **8**(1): 237-255