

• 专家述评 • doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2018.05.001

细胞外囊泡——肝脏疾病诊断中的重要标志物和潜在治疗靶点*

龚俊华, 游 逾, 龚建平[△]

(重庆医科大学附属第二医院肝胆外科 400010)

[中图法分类号] R575

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2018)05-0577-03



龚建平

1 细胞外囊泡(extracellular vesicles, EVs)概述

随着对 EVs 生物学特性的深入理解,描述 EVs 的术语已经发生了很大变化,过去常互换使用的“微泡”、“外泌体”和“微粒”等术语已被重新定义^[1]。现在认为外泌体、微泡和微粒都是属于 EVs 的亚群,它们共同组成了 EVs 群体^[1]。外泌体是起源于多泡体、直径为 50~150 nm 的匀质小囊泡^[2];微泡则是由细胞膜直接产生,直径为

100~1 000 nm^[3];凋亡小体形态类似细胞碎片,直径为 500~2 000 nm^[3]。在这些亚群的相互鉴别方面,一些蛋白质,如脂筏结构蛋白 1、热休克蛋白 70 或主要组织相容性复合物(major histocompatibility complex, MHC) I 类和 II 类蛋白质等,曾被视为区分不同 EVs 亚群的标记物,然而新近研究表明这些标记物并不具有特异性^[4]。随着组织化学技术的迅速发展,特定的分子模式未来将有助于对不同类型囊泡的认识和鉴别,但由于提取技术、鉴定方法及命名学的混乱等原因,现在区分这些亚群仍然很困难。因此,在本文中统一使用术语“EVs”来特指微泡和外泌体^[1]。

EVs 由囊内内容物(蛋白质、脂质和核酸)和其外围包裹的磷脂双分子层组成^[1]。在肝脏中,肝细胞分泌的 EVs 可通过细胞外液而进入血液循环。EVs 携带的内容物信息代表了分泌之初其亲代细胞的细胞状态,且这些内容物会随着亲代细胞分泌 EVs 时的状态 and 所处环境的改变而发生动态的变化^[5]。虽然 EVs 最初被认为不具备生物学研究价值而并未引起重视,但近年研究表明,EVs 是细胞间信息传递的重要纽带,肝脏和其他组织分泌的 EVs 为临床诊断各种肝脏疾病提供了重要的生物标志物,并可能成为肝脏疾病潜在的治疗靶点。

2 肝源 EVs 及其作用靶点

2.1 源于肝脏的 EVs

肝细胞既可以分泌 EVs,同时也是其自身分泌的或者其他器官产生的 EVs 的作用靶点^[6]。在体外实验中发现,肝脏中的大多数细胞,包括肝细胞、胆管细胞、肝星状细胞(hepatic stellate cells, HSCs)、内皮细胞(sinusoidal endothelial cells, SECs)、库普弗细胞及其他免疫细胞群如巨噬

细胞等,都可以分泌 EVs^[1]。各种肝细胞(包括小鼠和人类原代肝细胞及肝癌细胞系)都能分泌外泌体和微泡。在不同的肝脏疾病中,这些囊泡的数量和内容物均可不同,且都能对细胞间的信息传递进行调控^[7]。蛋白质组学分析表明,大鼠肝细胞源 EVs 中大约 251 种蛋白产自原代的肝细胞^[8]。在对包括 EVs 中所描述的四旋蛋白及其他类型的细胞表面标记(包括 CD63、CD81 和 CD82)及脱唾液酸糖蛋白受体 1 跨细胞膜蛋白进行研究后发现,由肝细胞分泌的 EVs 可引起上述蛋白中肝细胞特异性受体水平增多。肝细胞源 EVs 携带的内容物涉及多种功能的蛋白质,如细胞色素蛋白、凝血相关蛋白和载脂蛋白类,此外肝细胞分泌的 EVs 还参与了肝脏解毒过程^[1]。在肝硬化中,有研究发现,肝硬化患者与健康个体相比血浆中肝细胞衍生的 EVs 含有较高的细胞角蛋白 18,而且相关白细胞内皮衍生物和肝细胞性 EVs 的数量与肝硬化程度密切相关^[1]。除了肝细胞,SECs 也可分泌功能性 EVs,被内吞摄取后的 SECs 源性 EVs 可触发依赖 1-磷酸鞘氨醇(sphingosine-1-phosphate, S1P)的 HSCs 迁移,表明 EVs 在 SECs 和 HSCs 之间起着调节沟通作用^[9]。肝脏中丰富的免疫细胞群为 EVs 提供了另一个重要的来源:体外研究表明,免疫细胞来源的 EVs 可以介导肝脏中不同类型的免疫细胞和实质细胞之间进行信息传递^[10]。

虽然有关外泌体介导肝脏细胞间信息传递已有大量报道,但其所涉及的肝脏生物学进程及其具体机制还未阐明,有待进一步探索。比如在缺血再灌注损伤或部分肝切除小鼠模型中,肝细胞来源的 EVs 可调节肝脏修复,并通过转移神经鞘氨醇酶和鞘氨醇激酶 2 促进肝脏再生,同时增加靶细胞中 S1P 的产生^[11]。另一项研究发现,肝细胞在乙醇暴露后通过外泌体转移 miRNA-27a 可造成 M2 表型巨噬细胞活化,实现巨噬细胞与巨噬细胞间的信息传递^[9]。以上研究表明,EVs 可由肝脏中一种细胞释放而由另一种细胞摄取,由此完成生物信息分子(如 miRNAs)介导的细胞间信息传递,最终引起受体细胞的功能变化^[1]。此外由于 EVs 的内容物会随着肝脏细胞所处环境和状态的变化而改变,所以 EVs 可作为一种生物标记物用于肝脏疾病的检测^[1,8]。

2.2 肝脏是 EVs 的作用靶点

目前主流观点认为,肝脏是机体 EVs 分布和作用的主要靶点之一,而这与肝脏摄取了大量非肝细胞源 EVs 有一定关系^[12]。虽然有研究表明,特定的 EVs 配体,如跨膜四蛋白或 MCH I 和 MCH II,可以通过不同的信号通路与靶细胞直接进行信息交流而不需要摄取 EVs,但大多数 EVs 功能的发挥还是通过 EVs 摄取后的信息释放^[13]。细

* 基金项目:国家自然科学基金资助项目(81702357)。 专家简介:龚建平,肝胆外科主任,博士后、教授、主任医师,博士研究生和博士后指导教师。国家新世纪“百、千、万”人才工程国家级人选、国务院特殊津贴获得者、国家自然科学基金评审专家、重庆市首席专家工作室(肝胆外科)领衔专家、重庆市“322”人才工程第一层次人选等。主持国家自然科学基金项目 10 余项和多项省部级科研项目,主持或参加的研究项目先后获得国家科技进步一等奖 1 项、省部级科技进步奖二等奖 3 项。近十年来在国内外学术期刊发表论文 300 余篇,其中被美国科学引文索引(SCI)收录 100 余篇。 作者简介:龚俊华(1990—),在读硕士研究生,主要从事肝脏疾病新型诊疗方法研究。 △ 通信作者, E-mail: gongjianping11@126.com。

胞摄取 EVs 的方式主要是通过内吞途径,包括网格蛋白依赖和非网格蛋白依赖的内吞^[14]。而肝脏正是 EVs 细胞内吞的高活性区域:IMAI 等^[15]报道源自小鼠黑色素瘤细胞系 B16BL6 并标记了 PKH26 的外泌体能被肝脏和脾脏中的巨噬细胞吞噬摄取,但却不能被肺的巨噬细胞摄取。此外,BALA 等^[16]对 miRNA-155 基因敲除的小鼠静脉注射含 miRNA-155 外泌体丰富的血浆并进行相关检测后发现:肝脏中 miRNA-155 的表达明显增加,而肾脏却增加不明显,提示肝脏细胞中确实发生了外源性外泌体内信息分子的摄取;在肝脏中 miRNA-155 表达变化最明显的是肝细胞和肝脏单核细胞,表明机体外泌体的快速摄取和清除主要是由肝脏完成的;在该实验中,血清外泌体浓度峰值在注射 5 min 后,而 30 min 后循环中已几乎测不到外泌体,表明了外泌体在体内的快速生物学分布和代谢过程。此外还有研究表明,EVs 携带的 miRNA-146a 和 miRNA-155 可调节小鼠对内毒素引发的炎症反应^[17]。总之,这些研究表明以肝脏细胞为靶点的外泌体广泛参与了肝脏多项生物学进程。

3 EVs 在各种肝脏疾病中的作用

关于 EVs 在各种肝脏疾病如病毒性肝炎、酒精肝、脂肪肝、药物性肝损伤(DILI)、肝纤维化及肝癌等中的作用已有多篇报道,本文不再赘述。

4 EVs 可作为肝脏疾病诊断的生物标志物

4.1 以 EVs 作为生物标志物的优势 寻找生物标志物是肝脏疾病的一种早期诊断方法,可用于监测和评价各种肝脏疾病的诊疗情况。虽然肝脏活检仍然是诊断肝脏疾病的金标准,但生物标志物在肝脏疾病的无创检测和判断分期方面仍有很广泛的应用,如利用“体液活检”寻找生物标志物,可以减少或者避免对肝脏的有创检查。目前,肝损伤程度评估多基于血液肝酶谱检查,如丙氨酸转氨酶(ALT)、天冬氨酸转氨酶(AST)、碱性磷酸酶(ALP)和 γ -谷氨酰转氨酶(GGT)。然而,这些传统酶类标记物对肝脏疾病诊断特异性欠佳,也不能反应肝病的进展阶段或肝细胞损伤程度。因此,寻找新的诊断肝脏疾病的生物标志物很有必要。

EVs 在肝脏疾病中作为生物标志物有以下优点:(1)由于外层有膜覆盖,EVs 可保护其内的蛋白质和核酸不被降解。(2)EVs 富含特异性选择标记物,这些标记物在体液的总蛋白组中只占了很少的一部分($<0.01\%$)^[18]。这种诊断分子富集的优势使 EVs 有能力检测到现有检测手段难以检测到的低丰度核酸或蛋白质生物标记。(3)EVs 作为生物标志物,与总血浆或血清相比,将降低化验分析的复杂性。(4)EVs 的数量反映了组织中细胞新陈代谢的快慢,对其携带物进行分析可以为疾病进展、恢复和药物反应提供直接的信息。因此,探索新的 EVs 中核酸和蛋白生物标志物可为评估疾病进展、预后和治疗反应开辟新的途径。EVs 中特定蛋白质或核酸水平也可作为生物标志物用于检测不同的肝脏疾病,然而在现有的独立研究中还无一种生物标志物在临床上得到验证,亦少见关于这些生物标志物在肝病中敏感性和特异性的研究报道,相关应用仍有待进一步研究。

4.2 外泌体中蛋白质作为肝脏疾病生物标志物的潜在应用

有关将 EVs 中蛋白质信息应用于肝脏疾病生物标志方面,已有数种蛋白获得了认可,包括全长可溶性受体型酪氨酸蛋白磷酸酶 γ (sPTGRG)、结缔组织生长因子(GTGF)和 S-腺苷甲硫氨酸合成酶(SAMS)等。在人和大鼠的血浆中,与 EVs 有关的 sPTGRG 亚型已经被认定为肝脏损伤的生物标志物^[19]。分别对低 ALT 水平($ALT < 40$ U/mL)或高 ALT 水平($ALT > 450$ U/mL)人血浆样品观察后发现,血浆中 sPTGRG 水平与肝脏

的损伤程度呈正相关^[19]。EVs 还被证明是 CFGT 的传递器:其可在 HSCs 间传递 CTGF 并放大纤维增生信号。有研究发现,含有 CTGF 的 EVs 可作为一种非侵入性的蛋白质生物标志物来评估肝纤维化的严重程度^[20]。在一项蛋白质组学研究中,从人工培养的肝细胞中分泌以及肝损伤的小鼠血清中提取的 EVs,一些肝脏特异性蛋白的水平有所增加,如氨甲酰磷酸合成酶 1(CPS1)、SMAS 和儿茶酚-O-甲基转移酶(COMT);通过对部分肝切除的小鼠进行观察后发现,SAMS 的上调是肝脏组织再生的必要条件^[21]。利用亲和力分离的方法,可以从肝细胞癌患者血液循环的 EVs 中分离出特异性单克隆抗体。这些肝脏特异性循环 EVs 的水平在患者体内有所增加,并与肝癌的大小密切相关。在另一项对急性肝损伤动物模型尿液样本的研究中,发现差异表达蛋白质 CD26、CD81、SLC3A1 和 CD10,可作为肝病的生物标志物。在对 D-氨基半乳糖急性肝损伤患者进行治疗时,通过对小鼠尿液中 EVs 检测发现,一些通常可在尿中明确地检测到的蛋白质数量明显减少,表明尿中 EVs 的蛋白质携带物可以反映肝脏的损伤程度^[22]。

4.3 外泌体中核酸作为肝脏疾病生物标志物的潜在应用 与 EVs 相关的核酸,特别是 miRNAs 作为多种肝脏疾病的生物标志物,已引起了广泛关注。研究表明 miRNAs 可以为肝癌的潜在生物标志物,与肝癌经肝切除术后未复发的患者相比,肝癌术后复发的患者血浆中外泌体内 miRNA-718 表达明显减少。对一个独立患者队列进行的研究表明,miRNA-718 水平的下降与肝细胞肝癌(HCC)肿瘤的高侵袭性相关^[23]。肝癌患者含有 miRNA-21 的血清 EVs 水平与 EVs 耗竭血清相比有所增加,和健康人及慢性乙型肝炎患者相比,HCC 患者血清外泌体中的 miRNA-21 的水平较高。虽然血清 miRNA-21 表达水平在肝硬化后肝癌中的诊断价值早已获得认可,但 EVs 中 miRNA-21 相较而言具有更高的诊断敏感性^[24]。

不同程度的乙醇性肝损害,或者对乙酰氨基酚或 Toll 样受体(TLR)9 配体[胞嘧啶鸟嘌呤二核苷酸(CpG)和脂多糖(LPS)]肝损害模型中,血清和血浆中 miRNA-122 的水平随着血清 ALT 水平的升高而增加。患有与炎症相关的肝病(如乙醇性肝损害或 CpG 和 LPS 处理后的肝损害)的小鼠体内,miRNA-155 和 miRNA-146a 等炎症相关 miRNAs 在血清和血浆中均有升高^[25]。在模拟乙醇介导的肝损害如乙醇性肝损害或 CpG 和 LPS 处理后的肝损害模型中,血清及血浆 miRNA-122 和 miRNA-155 则主要与小鼠体内的 EVs 丰度有关;与健康的个体相比,急性酒精性肝炎患者循环 EVs 的数量也有所增加。通过与健康个体对比并针对每个人分别建立的基础基线水平后发现,酒精性肝炎患者或酗酒后,EVs 的数量和囊泡中 miRNA-122 的水平均大幅提高。miRNA-192 和 miRNA-30a 在长期饲养乙醇的小鼠或慢性酒精性肝炎患者的血清中提取的 EVs 中表达均升高。在这些 miRNAs 中,miRNA-192 对酒精性肝炎的诊断准确性最高^[26]。综上所述,EVs 中核酸水平可以作为各种肝脏疾病诊断及判断其严重损害程度的生物学标志物。

5 EVs 作为肝脏疾病的治疗方法

使用 EVs 特别是外泌体,可作为药物干扰 RNA(RNAi)的潜在有效载体。生物相容性和对核糖核酸酶、酯酶类的抗性,及转移的稳定性使 EVs 成为药品的理想载体,否则蛋白质、miRNA、沉默 RNA(siRNA)等其他分子会迅速降解。EVs 为组织针对性的 siRNA 和 miRNAs 调控基因在靶细胞中表达提供了一条新途径。研究证实肝脏是静脉注射后 EVs 主要的摄取部位^[16],表明 EVs 在信息传递中的潜在用途及以 RNA 为基础的靶向 RNA 干预疗法在肝脏疾病中的应用潜力。有研

究发现, EVs 在体内外均可有效地向巨噬细胞和肝细胞提供 miRNA-155 过表达或抑制信号^[16]。miRNA-155 早已被证明是一种调解人酒精性肝病和肝脏炎症的重要物质, 但如何靶向运送 miRNA-155 仍是相关应用的主要障碍。一项新近研究选取来自 B 细胞源的 EVs (其 miRNA-155 的天然水平很低, 被视为外源 miRNA-155 合成模拟信号并抑制 RAW 巨噬细胞的理想载体) 并传递 miRNA-155 至靶细胞, 发现对 miRNA-155 的干预诱导了 RAW 巨噬细胞的抑制, 并使肿瘤坏死因子 (TNF) 蛋白活性产物下降超过大于 50%^[27]。提取 miRNA-155 敲除小鼠体内的肝细胞后发现, EVs 能成功地向肝脏传递一个外源性的 miRNA-155 模拟信号^[16,27]。

有研究表明, EVs 参与了修复组织和器官损伤, 这也可以解释其在干细胞治疗中的旁分泌效应^[28]。EVs 的内容物可以引起细胞的聚集、分化和增殖, 在动物模型中, 间充质干细胞 (MSC) 衍生的 EVs 可在 DILI 诱导白细胞介素 6 (IL-6)-转录激活因子 3 (STAT3) 通路及细胞周期进程中促进肝细胞再生^[28]。在四氯化碳诱导的小鼠肝纤维化模型中, 源于人脐带 MSC 的 EVs 可减轻肝纤维化, 其机制可能与减少表面纤维形成, 减少 I 型胶原和 III 型胶原的产生, 降低血清转化生长因子 β (TGF- β) 与血清 AST 的水平有关^[29]。利用干细胞衍生的 EVs 替代干细胞植入物可能为肝脏再生疗法提供了一种新手段, 其优点包括: (1) 使用来自于肝细胞的 EVs, 而不是细胞本身, 避免了对异常干细胞的诱导分化, 避免高免疫反应的风险。(2) 与免疫抑制相关的某些类型的 EVs 可以促进肝组织再生。(3) EVs 和外泌体可从血液中分离出来并储存, 保持其长久以来的生物学特性, 促进其在后期肝再生中发挥作用。尽管 EVs 为避免在再生医学中使用活细胞而引发的并发症提供了希望, 但是 MSC 衍生的 EVs 在已知的前致癌物及其抗癌特性等方面还有待进一步研究。

6 问题与展望

EVs 是一种新近发现的潜在生物标记物, 但在肝脏疾病诊断、预后判断和预测价值中的作用尚缺乏足够的证据。有必要进行独立的综合研究及具有良好特征患者群体的整体评价, 这样才能充分证明 EVs 生物标志物在临床应用中的敏感性和特异性。有关肝脏疾病中 EVs 生物标志物的相关研究不应该仅局限于 miRNAs, 还应涉及包括长链非编码 RNA 在内的其他核酸及蛋白质和脂质标记物。关于 EVs 生物标记物的提取、鉴定和处理分析方面的挑战仍然存在, 充分利用现有的不同提取技术并对这些技术的优化是下一步研究的重要方向。

以 EVs 为媒介进行信息传递并干预肝脏疾病进程还存在许多问题: (1) 在 EVs 用于人体治疗之前, EVs 的标准化和质量控制将必须考虑到工业生产及监管的标准, 同时还要兼顾大规模生产的制造成本; (2) 因为 EVs 的内容物不同于亲代细胞的类型和状态, 对所提供外泌体类型的选择将至关重要, 应根据受体细胞的类型和目标分子进行筛选; (3) 虽然临床试验已经证明自体 EVs 在重复使用后仍有很好的耐受性, 但 EVs 在肝脏疾病临床治疗的效果依然缺乏随机对照试验的评价, 此外 EVs 介导的信号转导在肝脏疾病发生和发展中的相关性研究也须证明其有独特的治疗靶点。

综上所述, EVs 含有多功能性生物大分子, 包括蛋白质、核酸和脂类等, 在肝脏不同细胞间的传递信息过程中具有举足轻重的作用。EVs 可以通过激活受体细胞中不同的信号通路来改变其功能, 从而对各种肝脏疾病的发生和进展机制产生影响。体液中的 EVs 正在发展为一种潜在的肝病生物学标

志物与治疗监测的新手段。此外, 在不久的将来, EVs 也许会成为一种治疗各种肝脏疾病的新方法。

参考文献

- [1] SZABO G, MOMENHERAVI F. Extracellular vesicles in liver disease and potential as biomarkers and therapeutic targets [J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2017, 14(8): 455-466.
- [2] COCCUCCI E, MELDOLESI J. Ectosomes and exosomes: shedding the confusion between extracellular vesicles [J]. *Trends Cell Biol*, 2015, 25(6): 364-372.
- [3] SATO K, MENG F, GLASER S, et al. Exosomes in liver pathology [J]. *J Hepatol*, 2016, 65(1): 213-221.
- [4] KOWAL J, ARRAS G, COLOMBO M, et al. Proteomic comparison defines novel markers to characterize heterogeneous populations of extracellular vesicle subtypes [J]. *Proc Nati Acade Sci U S A*, 2016, 113(8): E968-977.
- [5] SAHA B, MOMEN-HERAVI F, KODYS K, et al. MicroRNA cargo of extracellular vesicles from alcohol-exposed monocytes signals naive monocytes to differentiate into M2 macrophages [J]. *J Biol Chem*, 2016, 291(1): 149-159.
- [6] MASYUK A I, MASYUK T V, LARUSSO N F. Exosomes in the pathogenesis, diagnostics and therapeutics of liver diseases [J]. *J Hepatol*, 2013, 59(3): 621-625.
- [7] ZHEN Q, WU J, WU J, et al. Exosomes derived from HCC cells induce sorafenib resistance in hepatocellular carcinoma both in vivo and in vitro [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2016, 35(1): 159.
- [8] MOMEN-HERAVI F, BALA S, KODYS K, et al. Exosomes derived from alcohol-treated hepatocytes horizontally transfer liver specific miRNA-122 and sensitize monocytes to LPS [J]. *Sci Rep*, 2015(5): 9991.
- [9] WANG R, DING Q, YAQOOB U, et al. Exosome adherence and internalization by hepatic stellate cells triggers sphingosine 1-phosphate-dependent migration [J]. *J Biol Chem*, 2015, 290(52): 30684-30696.
- [10] ROBBINS P D, MORELLI A E. Regulation of immune responses by extracellular vesicles. [J]. *Nat Rev Immunol* 2014, 14(3): 195-208.
- [11] NOJIMA H, FREEMAN C M, SCHUSTER R M, et al. Hepatocyte exosomes mediate liver repair and regeneration via sphingosine-1-phosphate [J]. *J Hepatol*, 2016, 64(1): 60-68.
- [12] 于乐成, 何长伦, 陈成伟. 外泌体在肝病发病机制、诊断和治疗中的作用 [J]. *肝脏*, 2014(3): 211-214.
- [13] YÁÑEZ-MÓ M, SILJANDER R M, ANDREU Z, et al. Biological properties of extracellular vesicles and their physiological functions [J]. *J Extracell Vesicles*, 2015(4): 27066.
- [14] MULCAHY L A, PINK R C, CARTER D R. Routes and mechanisms of extracellular vesicle uptake. [J]. *J Extracell Vesicles*, 2014, 3(1): 24641.
- [15] IMAI T, TAKAHASHI Y, NISHIKAWA M, et al. Macrophage-dependent clearance of systemically administered B16BL6-derived exosomes from the blood circulation in mice [J]. *J Extracell Vesicles*, 2015, 4(2014): 1-23.
- [16] BALA S, CSAK T, MOMENHERAVI F, (下转第 583 页)

- [15] CORREA M M, THUME E, DE OLIVEIRA E R, et al. Performance of the waist-to-height ratio in identifying obesity and predicting non-communicable diseases in the elderly population: A systematic literature review [J]. Arch Gerontol Geriatr, 2016, 31(65): 174-182.
- [16] 汪宏莉, 韩延柏, 刘宇, 等. 代谢综合征肥胖指标诊断及切点研究[J]. 中国公共卫生, 2011, 27(4): 440-442.
- [17] NAMBIAR S, HUGHES I, DAVIES P S. Developing waist-to-height ratio cut-offs to define overweight and obesity in children and adolescents [J]. Public Health Nutr, 2010, 13(10): 1566-1574.
- [18] 徐林发, 叶林军, 汪素珍, 等. 腰围身高比值在成人代谢综合征中诊断价值的研究 [J]. 中国慢性病预防与控制, 2010, 18(3): 235-237, 240.
- [19] 曾伟, 黄晓波, 贾勇, 等. 不同肥胖指标对糖尿病风险预测效果分析 [J]. 中国公共卫生, 2010, 26(9): 1095-1097.
- [20] WU F W, TAJAR A, PYE S R, et al. Hypothalamic-pituitary-testicular axis disruptions in older men are differentially linked to age and modifiable risk factors: the European Male Aging Study [J]. J Clin Endocrinol Metab, 2008, 93(7): 2737-2745.
- [21] 刘太华, 杨瑞峰, 孔祥斌, 等. 不同年龄段男性血清总睾酮和游离睾酮水平分析 [J]. 中国计划生育和妇产科, 2014, 6(9): 16-18.
- [22] 余纳, 申旭波, 郑懿, 等. 基于社区人群的吸烟与男性睾酮水平关系的初步研究 [J]. 环境与健康杂志, 2015, 32(8): 684-687.
- [23] FILLO J, LEVCIKOVA M, ONDRUSOVA M, et al. Importance of different grades of abdominal obesity on testosterone level, erectile dysfunction, and clinical coincidence [J]. Am J Mens Health, 2017, 11(2): 240-245.
- [24] FUKAI S, AKISHITA M, MIYAO M, et al. Age-related changes in plasma androgen levels and their association with cardiovascular risk factors in male Japanese office workers [J]. Geriatr Gerontol Int, 2010, 10(1): 32-39.
- [25] SVARTBERG J, MIDTBY M, BONAA K H, et al. The associations of age, lifestyle factors and chronic disease with testosterone in men: the Tromsø Study [J]. Eur J Endocrinol, 2003, 149(2): 145-152.
- [26] 翟玲玲, 赵剑, 白英龙, 等. 肥胖对小鼠生殖功能影响及与性激素关系 [J]. 中国公共卫生, 2011, 27(2): 204-205.
- [27] PITTELOUD N, HARDIN M, DWYER A A, et al. Increasing insulin resistance is associated with a decrease in Leydig cell testosterone secretion in men [J]. J Clin Endocrinol Metab, 2005, 90(5): 2636-2641.
- [28] 庞晓虹. 2 型糖尿病患者血清 SHBG 水平及吡格列酮干预研究 [D]. 杭州: 浙江大学, 2001.
- [29] 彭进强, 姜涛, 郑磊, 等. TT、TSI、FTI 评估男性雄激素水平价值的初步研究 [J]. 中国性科学, 2013, 22(10): 45-49.

(收稿日期: 2017-06-18 修回日期: 2017-09-26)

(上接第 579 页)

- et al. Biodistribution and function of extracellular miRNA-155 in mice [J]. Sci Rep, 2015, 5(5): 10721.
- [17] ALEXANDER M, HU R, RUNTSCH M C, et al. Exosome-delivered microRNAs modulate the inflammatory response to endotoxin [J]. Nat Commun, 2015(6): 7321.
- [18] PANT S, HILTON H, BURCZYNSKI M E. The multifaceted exosome: biogenesis, role in normal and aberrant cellular function, and frontiers for pharmacological and biomarker opportunities [J]. Biochem Pharmacol, 2012, 83(11): 1484-1494.
- [19] MORATTI E, VEZZALINI M, TOMASELLO L, et al. Identification of protein tyrosine phosphatase receptor gamma extracellular domain (sPTPRG) as a natural soluble protein in plasma [J]. PLoS One, 2015, 10(3): e0119110.
- [20] CHARRIER A, CHEN R, CHEN L, et al. Exosomes mediate intercellular transfer of pro-fibrogenic connective tissue growth factor (CCN2) between hepatic stellate cells, the principal fibrotic cells in the liver [J]. Surg, 2014, 156(3): 548-555.
- [21] RODRÍGUEZSUÁREZ E, GONZALEZ E, HUGHES C, et al. Quantitative proteomic analysis of hepatocyte-secreted extracellular vesicles reveals candidate markers for liver toxicity [J]. J Proteomics, 2014, 103(3): 227-240.
- [22] JAVIER C V, EVA R S, ESPERANZA G, et al. Candidate biomarkers in exosome-like vesicles purified from rat and mouse urine samples [J]. Proteomics Clin Appl, 2010, 4(4): 416-425.
- [23] SUGIMACHI K, MATSUMURA T, HIRATA H, et al. Identification of a bona fide microRNA biomarker in serum exosomes that predicts hepatocellular carcinoma recurrence after liver transplantation [J]. Br J Cancer, 2015, 112(3): 532-538.
- [24] WANG H, HOU L, LI A, et al. Expression of serum exosomal microRNA-21 in human hepatocellular carcinoma [J]. Biomed Res Int, 2014, 2014(2): 864894.
- [25] SZABO G, BALA S. MicroRNAs in liver disease [J]. Nat Rev Gastroenterol Hepatol, 2013, 10(9): 542-552.
- [26] MOMEN-HERAVI F, SAHA B, KODYS K, et al. Increased number of circulating exosomes and their microRNA cargos are potential novel biomarkers in alcoholic hepatitis [J]. J Transl Med, 2015, 13(1): 1-13.
- [27] MOMENHERAVI F, BALA S, BUKONG T, et al. Exosome-mediated delivery of functionally active miRNA-155 inhibitor to macrophages [J]. Nanomedicine, 2014, 10(7): 1517-1527.
- [28] TAN C Y, LAI R C, WONG W, et al. Mesenchymal stem cell-derived exosomes promote hepatic regeneration in drug-induced liver injury models [J]. Stem Cell Res Ther, 2014, 5(3): 1-14.
- [29] LI T, YAN Y, WANG B, et al. Exosomes Derived from Human Umbilical Cord Mesenchymal Stem Cells Alleviate Liver Fibrosis [J]. Stem Cells Dev, 2013, 22(6): 845-854.

(收稿日期: 2017-11-20 修回日期: 2017-12-28)