

级脂质双层膜囊性小泡,呈球形或杯状,直径在40~100 nm 之间,广泛分布在体液中^[5]。各种免疫细胞如T淋巴细胞、B淋巴细胞、单核细胞、巨噬细胞、树突状细胞、干细胞等和非免疫细胞均可释放外泌体^[7-8]。外泌体的形成首先是由细胞膜内陷形成早期内体,内体的膜再向内出芽形成含有许多小泡的多囊泡体,当多囊泡体的泡膜与细胞膜融合时将外泌体释放到细胞外。外泌体可通过内吞、直接膜融合或者受体配体相互作用进入受体细胞,作为一种运输工具可将内含物信息稳定地传递给靶细胞。近10 a 研究已经明确证实,细胞外液中的外泌体可通过细胞膜受体直接与细胞膜融合或者被内吞而释放其内含物进而作用于靶细胞,这些过程已通过R18 标记的外泌体和PKH-67 标记的细胞共培养实验所证实,且在荧光显微镜下能够观察到外泌体膜和细胞膜融合的过程^[9-10]。此外,通过荧光标记实验发现外泌体微RNA (microRNA, miRNA) 可转移到靶细胞^[11]。以上研究结果提示,外泌体转运过程体现细胞间信息物质交流,与人体生理调节和病理过程进展密切相关。

2 外泌体生物学特征

外泌体作为近年来新发现的一种细胞间信息物质传递的工具,具有以下特征:(1)外泌体内含物十分丰富。外泌体内含物包含细胞因子、三磷酸鸟苷(gross domestic product, GTP)酶、四跨膜蛋白超家族、热休克蛋白、整合素等各种蛋白,磷酸甘油酯、胆固醇等脂类,以及信使RNA (messenger RNA, mRNA)、环状RNA、非编码RNA、转运RNA、miRNA、单链DNA、基因组DNA等^[5]。通过对各种组织进行大规模分析,已粗略地建立了外泌体内含物数据库,包括11 261 个蛋白质条目、2 375 个mRNA 条目和764 个miRNA 条目^[11-12]。(2)外泌体质膜囊泡结构稳定。外泌体质膜囊泡具有牢固的双分子磷脂结构,内腔可负载水溶性物质,磷脂中间的疏水区可包裹疏水性物质,这种特殊结构能保护miRNA、mRNA 等内含物长期存在于体液中而不被降解,同时也可避免被免疫系统捕获和清除,稳定地将这些物质携带的信息传递给靶细胞^[13-14]。(3)外泌体具有快速传递信号及信号放大功能。外泌体的作用方式并不局限于细胞间的直接接触,而是代表了一种新的远距离作用模式,具有快速传递信号及信号放大的功能^[15]。

3 外泌体在SS 病理机制中的作用

外泌体中含有细胞产生的众多信息物质,在抗

原呈递、凋亡、炎症及分子通讯中发挥着关键作用。一般来说,外泌体的功能取决于原本宿主细胞和组织的状态,除了参与生理过程外,还参与病理过程,包括癌症、感染和自身免疫性疾病等^[5,16]。SS 的病理特点主要是淋巴细胞浸润到外分泌腺,而浸润的淋巴细胞中主要为T 细胞,尤其是辅助性T 细胞(helper T cell, Th) 1、Th2、Th17、调节性T 细胞(regulatory T cell, Treg) 等细胞亚群,上述细胞亚群的异常分化及其产生的细胞因子紊乱已成为SS 病理及其治疗关注的热点。现有研究表明,外泌体可作为T 细胞、B 细胞、树突状细胞等细胞活化的诱导因素直接参与免疫调节,例如:树突状细胞来源的外泌体可以增强主要组织相容性复合体(major histocompatibility complex, MHC) I、MHC-II 及其共刺激分子的表达,在处理抗原肽免疫调节应答中发挥着关键作用^[17]。Treg 细胞活化可分泌大量的外泌体,通过外泌体中的miRNA 抑制Th1 细胞免疫应答、CD8⁺ T 淋巴细胞介导的细胞毒效应及其自身免疫性疾病的发生^[18]。巨噬细胞来源的外泌体可促进树突状细胞成熟,并促进CD4⁺ T 淋巴细胞和CD8⁺ T 淋巴细胞活化^[19]。上述研究结果提示,外泌体可能参与SS 淋巴细胞的异常活化。已有证据表明,外泌体与SS 进展直接相关,例如:KAPSOGEOGOU 等^[20]研究发现,SS 患者唾液腺上皮细胞分泌大量的外泌体,且这些外泌体中含有大量上皮细胞骨架蛋白、抗Ro/SSA、抗La/SSB 和Sm 核糖核蛋白等,而这些特异性蛋白参与内源性自身抗原呈递,推测外泌体可能通过这些蛋白激活自身免疫反应从而促进SS 的发生、发展;另一项研究表明,Epstein-Barr (EB) 病毒miRNA 可以从B 细胞转移到腺体上皮细胞而影响唾液分泌^[21]。CORTES-TRONCOSO 等^[22]研究发现,含有miR-142-3p 的T 细胞源性外泌体可能是SS 发病的触发因子;当miR-142-3p 转染唾液腺上皮细胞时,miR-142-3p 可影响细胞内Ca²⁺ 信号传导而降低环磷酸腺苷产生,从而导致腺体细胞功能障碍。目前,关于SS 外泌体的研究报道有限,但外泌体作为免疫细胞信息物质传递工具,其病理作用可能涉及SS 患者多个系统和器官,深入开展外泌体研究有望为阐明SS 发病机制提供新的视角。

4 外泌体作为标志物在SS 诊断中的作用

国际公认的SS 诊断标准包括眼部症状和口腔症状,干眼症、唾液腺损害以及实验室检查异常是主要客观证据。ANA 检测对SS 的诊断有一定价值,但31.7% 的健康人也可能存在ANA 阳性^[23]。类风湿因子也不是SS 特有的标志物,因为在其自身免

疫性疾病中也明显增加,尤其是类风湿关节炎。抗 Ro/SSA 抗体具有良好的特异性,可在约 2/3 的 SS 患者中被发现,通常与抗 La/SSB 抗体同时出现。然而,在疾病早期,患者的症状可能并不典型,甚至血清学检测不到阳性标志物。目前,SS 的诊断仍缺乏敏感和特异的生物标志物,而外泌体中含有疾病状态下许多重要的信息物质,能够全面反映疾病的本质。此外,在人体的很多体液中都能检测到外泌体,包括血清、尿液、唾液、乳液、精液、脑脊液和腹水等,有利于临床采集标本。由于在外泌体双层脂质膜的保护下,一些特异性蛋白或核酸分子可长期存在而不被降解,因而更有助于挖掘出更可靠的 SS 诊断标志物。一些研究已经证明,外泌体在 SS 及其自身免疫性疾病中具有一定的诊断价值。例如:AQRAWI 等^[24]从 SS 患者唾液和泪液中分离外泌体,认为外泌体可作为 SS 诊断的生物标志物。MICHAEL 等^[25]从 SS 患者腮腺唾液中提取 miRNA,且 SS 患者唾液腺 miRNA 表达谱完全不同于健康对照组,提示 miRNA 检测可作为炎症或 SS 患者唾液腺功能障碍的潜在标志物。尽管取得了这些有希望的研究成果,但外泌体或外泌体 miRNA 作为 SS 诊断的可靠标志物仍无足够的临床证据,未来尚需要更多的研究对上述发现加以论证^[26]。此外,目前还缺乏外泌体应用于 SS 疾病的活动性和预后评估的研究报道。因此,外泌体或外泌体 miRNA 作为诊断 SS 潜在标志物的特异性和敏感性尚需要进一步研究。

5 外泌体作为运输工具在 SS 治疗中的作用

SS 患者的健康管理是长期和复杂的。目前,唾液代替品和人工眼泪可以缓解 SS 临床症状,非甾体抗炎药、羟基氯喹及皮质类固醇也能够有效地治疗 SS;其他一些免疫抑制剂如甲氨蝶呤、霉酚酸酯及生物制剂也是必需的。但长期使用这些药物会引起许多不良反应。外泌体在 SS、类风湿性关节炎等自身免疫性疾病治疗中的潜在用途已被广泛研究。外泌体中含有与细胞类似的许多生物学信息,其作为一种新的治疗方法不仅可以提高细胞治疗效果,还可以克服细胞治疗的局限^[27]。与细胞治疗相比,外泌体治疗具有性质稳定、易于保存、无免疫原性、获取容易且方便改造等诸多优点^[28]。KIM 等^[29]研究发现,用白细胞介素-10 处理的树突状细胞分泌的外泌体可以抑制胶原诱导的小鼠关节炎的发生、发展。研究报道,表达吡啶胺的树突状细胞分泌的外泌体具有免疫抑制和抗炎作用^[30]。另有研究报道,富集人脐带间充质干细胞源性外泌体可有效缓解 SS 患者的眼部炎症^[31]。BULLERDIEK 等^[32]报道了 19 号

染色体 miRNA 簇衍生的 miRNA 类似物可应用于 SS 等自身免疫性疾病的临床治疗。眼部受累是 SS 的主要症状之一,最常见的治疗方法是局部滴眼药水,但也存在不良反应,包括药物被快速清除或生物活性迅速降低而降低治疗效果。由于外泌体具有脂质双层膜,因而可作为递送多肽或合成药物的载体用于眼疾病的治疗。例如,携带 miRNA-126 的干细胞源性外泌体通过抑制高迁移率族 box1 信号通路降低高血糖血症诱导的视网膜炎炎症,提示用于干细胞来源的外泌体治疗 SS 相关的干眼症可能是一种理想治疗方法^[33]。虽然外泌体在 SS 的治疗应用方面已经显示出了较好的效果,但这些治疗效果大多停留在实验观察阶段,要在临床应用还面临诸多挑战。

6 小结与展望

外泌体在 SS 的诊断及治疗领域已经显示出巨大的潜力,但仍然面临诸多问题:首先,外泌体在 SS 发生中的作用,以及作为生物标志物和作为载体的治疗价值相关理论尚未完全清楚;其次,目前用于外泌体和外泌体 miRNA 的检测、分离和纯化方法仍比较繁琐和复杂,有必要寻找简单、廉价和可复制的技术;再次,在制备和保存高质量的外泌体方面,现有的方法仍不足,需要寻找更优越的外泌体制备和保存方法以获得高质量外泌体。尽管关于 SS 外泌体的基础研究和应用研究仍处于初级阶段,但从理论上说,外泌体含有疾病状态下许多重要的信息物质,能够真实反映疾病的本质,其内含物在脂质双层膜的保护作用下可长期存在体液中而不被降解。因此,开展外泌体研究不但有利于揭示 SS 的发病机制,还有助于挖掘出更优越的生物诊断标志物。此外,外泌体含与细胞类似的许多生物信息,并以内分泌模式作用于远处的靶细胞,具有快速传递信号及信号放大的能力;因此,外泌体作为载体不仅可代替细胞治疗发挥更好的生物治疗效果,而且可克服细胞治疗的瓶颈。值得关注的是,中药对 SS 的治疗效果确切,但能否通过这些中药刺激干细胞分泌具有中药类似治疗作用的外泌体来代替中药本身治疗,使其外泌体在发挥对 SS 治疗作用的同时,克服中药治疗的缺陷,从而提高中药的应用价值,这一问题值得关注。因此,深入广泛地开展外泌体研究有望提高 SS 的诊断和治疗水平。

参考文献:

[1] SPRECHER M, MAURER B, DISTLER O. Primary Sjögren's syndrome-news on diagnostics and therapy [J]. *Praxis (Bern 1994)*, 2020, 109 (5):333-339.

- [2] NEGRINI S, EMMI G, GRECO M, *et al.* Sjögren's syndrome: a systemic autoimmune disease[J]. *Clin Exp Med*, 2022, 22(1): 9-25.
- [3] LEE Y J. Is the anti-centromere antibody a marker for a distinct subset of polyautoimmunity in Sjögren's syndrome[J]. *Korean J Intern Med*, 2021, 36(6): 1323-1326.
- [4] 梁春艳, 邢海洲. 外泌体的形成、功能及应用研究进展[J]. *新乡医学院学报*, 2021, 38(1): 85-90, 96.
- LIANG C Y, XING H Z. Research progress on the formation, function and application of exosomes[J]. *J Xinxiang Med Univ*, 2021, 38(1): 85-90, 96.
- [5] KALLURI R, LEBLEU V S. The biology, function, and biomedical applications of exosomes[J]. *Science*, 2020, 367(6478): eaau6977.
- [6] LIN S, YU Z, CHEN D, *et al.* Progress in microfluidics-based exosome separation and detection technologies for diagnostic applications[J]. *Small*, 2020, 16(9): e1903916.
- [7] IBRAHIM S A, KHAN Y S. Histology, extracellular vesicles[M]. In: StatPearls[Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 2021.
- [8] TAVASOLIAN F, MOGHADDAM A S, ROHANI F, *et al.* Exosomes: effectual players in rheumatoid arthritis[J]. *Autoimmun Rev*, 2020, 19(6): 102511.
- [9] 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.
- [10] MCANDREWS K M, KALLURI R. Mechanisms associated with biogenesis of exosomes in cancer[J]. *Mol Cancer*, 2019, 18(1): 52.
- [11] MATHIEU M, MARTIN-JAULAR L, LAVIEU G, *et al.* Specificities of secretion and uptake of exosomes and other extracellular vesicles for cell-to-cell communication[J]. *Nat Cell Biol*, 2019, 21(1): 9-17.
- [12] PJEPPSEN D K, FENIX A M, FRANKLIN J L, *et al.* Reassessment of exosome composition[J]. *Cell*, 2019, 177(2): 428-445.
- [13] GURUNG S, PEROCHAU D, TOURAMANIDOU L, *et al.* The exosome journey: from biogenesis to uptake and intracellular signalling[J]. *Cell Commun Signal*, 2021, 19(1): 47.
- [14] WANG Y, ZHANG Y, CAI G, *et al.* Exosomes as actively targeted nanocarriers for cancer therapy[J]. *Int J Nanomedicine*, 2020, 15: 4257-4273.
- [15] LI C J, FANG Q H, LIU M L, *et al.* Current understanding of the role of adipose-derived extracellular vesicles in metabolic homeostasis and diseases: communication from the distance between cells/tissues[J]. *Theranostics*, 2020, 10(16): 7422-7435.
- [16] KOK V C, YU C C. Cancer-derived exosomes: their role in cancer biology and biomarker development[J]. *Int J Nanomedicine*, 2020, 15: 8019-8036.
- [17] WANG Y, XIANG Y, XIN V W, *et al.* Dendritic cell biology and its role in tumor immunotherapy[J]. *J Hematol Oncol*, 2020, 13(1): 107.
- [18] LU J, WANG W, LI P, *et al.* MiR-146a regulates regulatory T cells to suppress heart transplant rejection in mice[J]. *Cell Death Discov*, 2021, 7(1): 165.
- [19] HONG Y, LEE J, VU T H, *et al.* Exosomes of lipopolysaccharide-stimulated chicken macrophages modulate immune response through the MyD88/NF- κ B signaling pathway[J]. *Dev Comp Immunol*, 2021, 115: 103908.
- [20] KAPSOGEORGOU E K, ABU-HELU R F, MOUTSOPOULOS H M, *et al.* Salivary gland epithelial cellexosomes: a source of autoantigenic ribonucleoproteins[J]. *Arthritis Rheum*, 2005, 52(5): 1517-1521.
- [21] HOUEIN G, TRIER N H. Epstein-Barr virus and systemic autoimmune diseases[J]. *Front Immunol*, 2021, 11: 587380.
- [22] CORTES-TRONCOSO J, JANG S I, PEREZ P, *et al.* T cell exosome-derived miR-142-3p impairs glandular cell function in Sjögren's syndrome[J]. *JCI Insight*, 2020, 5(9): e133497.
- [23] MANFRÈ V, CAFARO G, RICCUCCI I, *et al.* One year in review 2020: comorbidities, diagnosis and treatment of primary Sjögren's syndrome[J]. *Clin Exp Rheumatol*, 2020, 126(4): 10-22.
- [24] AQRRAWI L A, GALTUNG H K, VESTAD B, *et al.* Identification of potential saliva and tear biomarkers in primary Sjögren's syndrome, utilising the extraction of extracellular vesicles and proteomics analysis[J]. *Arthritis Res Ther*, 2017, 19(1): 14.
- [25] MICHAEL A, BAJRACHARYA S D, YUEN P S, *et al.* Exosomes from human saliva as a source of microRNA biomarkers[J]. *Oral Dis*, 2010, 16(1): 34-38.
- [26] HUANG Y, LI R, YE S, *et al.* Recent advances in the use of exosomes in Sjögren's syndrome[J]. *Front Immunol*, 2020, 11: 1509.
- [27] PENG Q, YANG J Y, ZHOU G. Emerging functions and clinical applications of exosomes in human oral diseases[J]. *Cell Biosci*, 2020, 10: 68.
- [28] MIRZAEI R, ZAMANI F, HAJIBABA M, *et al.* The pathogenic, therapeutic and diagnostic role of exosomal microRNA in the autoimmune diseases[J]. *J Neuroimmunol*, 2021, 358: 577640.
- [29] KIM S H, LECHMAN E R, BIANCO N, *et al.* Exosomes derived from IL-10-treated dendritic cells can suppress inflammation and collagen-induced arthritis[J]. *J Immunol*, 2005, 174(10): 6440-6448.
- [30] BIANCON R, KIM S H, RUFFNER M A, *et al.* Therapeutic effect of exosomes from indoleamine 2, 3-dioxygenase-positive dendritic cells in collagen-induced arthritis and delayed-type hypersensitivity disease models[J]. *Arthritis Rheum*, 2009, 60(2): 380-389.
- [31] 李娜, 粘红, 赵璐, 等. 人脐带间充质干细胞来源外泌体对兔自身免疫性干眼外周血巨噬细胞的调控[J]. *中华实验眼科杂志*, 2019, 37(11): 854-862.
- LI N, NIAN H, ZHAO L, *et al.* Regulation of human umbilical cord mesenchymal stem cells derived exosomes on peripheral blood macrophages from rabbit autoimmune dry eye[J]. *Chin J Exp Ophthalmol*, 2019, 37(11): 854-862.
- [32] BULLERDIEK J, FLOR I. Exosome-delivered microRNAs of "chromosome 19 microRNA cluster" as immunomodulators in pregnancy and tumorigenesis[J]. *Mol Cytogenet*, 2012, 5(1): 27.
- [33] ZHANG W, WANG Y, KONG Y. Exosomes derived from mesenchymal stem cells modulate miR-126 to ameliorate hyperglycemia-induced retinal inflammation via targeting HMGB1[J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2019, 60(1): 294-303.