

综 述

Exosomes 与肾脏生理及疾病

陈春媛¹, 牛 鑫², 汪 决^{1,2}

1. 南昌大学 研究生院医学部, 南昌 330006; 2. 上海交通大学 创伤骨科研究所, 上海 200233

[摘要] 胞外体(exosomes)是由细胞内多泡体与细胞膜融合后释放到细胞外基质中直径30~100 nm的膜性小囊泡,内含来源细胞的mRNA、miRNA和蛋白质等成分,能反映来源细胞的生物学信息,可能成为潜在的生物学标志物。Exosomes在信号转导、诱导机体抗肿瘤和免疫耐受等方面的作用是近年来研究的热点,并已成为一种新型治疗手段。尿液exosomes与肾脏生理功能及疾病之间有着密切的关系,但其研究尚处于初期阶段。文章就exosomes的生物学特性、生理功能、分离纯化及其在肾脏疾病方面的标志物作用和治疗价值的研究进展作一综述。

[关键词] 胞外体; 生物学标志物; 抗肿瘤; 免疫耐受; 肾脏疾病

[DOI] 10.3969/j.issn.1674-8115.2014.04.031 **[中图分类号]** R692 **[文献标志码]** A

Exosomes and renal physiology and diseases

CHEN Chun-yuan¹, NIU Xin², WANG Yang^{1,2}

1. Medical Department of Graduate School of Nanchang University, Nanchang 330006, China; 2. Institute of Orthopaedic Trauma, Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200233, China

[Abstract] Exosomes are small membrane vesicles secreted into extracellular matrix after the fusion of intracellular multivesicular bodies and cell membrane and their diameters are between 30–100 nm. Exosomes contain mRNAs, miRNAs, and proteins of source cells that can represent biological information of source cells, so they are potential biological markers. Effects of exosomes on signal transduction, inducing anti-tumor responses, and immunologic tolerance responses, etc. become research hotspots in recent years and have been used in new treatments. The urinary exosomes are closely related to the physiological functions and diseases of kidneys. However, the research in this field is only in early stages. This review aims to summarize the research developments of biological characters, physiological functions, separation and purification of exosomes, and their effects as biological markers and treatment values for kidney diseases.

[Key words] exosomes; biological markers; anti-tumor; immunologic tolerance; kidney diseases

Exosomes 又称为胞外体,是真核细胞经“内吞—融合—外泌”等一系列调控行为,通过细胞内多囊体(multivesicular body, MVB)与细胞膜融合后释放到细胞外基质中的直径30~100 nm的膜性小囊泡,囊泡内含有核酸、蛋白质和脂质成分^[1]。Exosomes可来自于多种细胞(如上皮细胞^[2])和多种体液(如唾液^[3]),其携带成分具有来源细胞特异性,故可作为潜在的生物学标志物^[4]。Exosomes 诱导机体抗肿瘤

和免疫耐受的作用受到广泛关注,表明exosomes可作为生物载体用于疾病治疗^[5,6]。

尿液 exosomes 主要由肾脏上皮细胞分泌,含有蛋白质、mRNAs 和 miRNAs 等成分。正常情况下,尿液 exosomes 中蛋白质含量占尿液总蛋白的3%,其中70%来自泌尿系统,30%来自循环系统^[7]。在尿液 exosomes 的形成过程中,各种成分有一个选择性的富集过程,因而这些成分可以为泌尿系统甚至全身性

[基金项目] 国家自然科学基金(81170640)(National Natural Science Foundation of China,81170640)。

[作者简介] 陈春媛(1989—),女,土家族,硕士生;电子信箱:735050731@qq.com。

[通信作者] 汪 决,电子信箱:wang63en@126.com。

病理生理改变提供相关生物学信息^[1-10]。尿液 exosomes 的研究起步较晚,尚集中在与肾脏生理功能及疾病之间的关系方面。为此,本文就 exosomes 的生物学特性、生理功能、分离纯化及其在肾脏疾病方面潜在的标志物作用和治疗价值的研究进展作一综述。

1 Exosomes 的生物学特性

1.1 Exosomes 的形成及形态学特征

Exosomes 起源于 MVB。MVB 是由晚期内吞体 (late endosomes, LEs) 囊腔膜内陷、出芽而形成的动态亚细胞结构,是真核细胞重要的膜、蛋白质和核酸的运输与分拣中心^[11]。细胞经胞吞作用 (可胞吞胞膜蛋白、外源性抗原等) 形成的囊泡样结构即为早期内吞体 (early endosomes, EEs), EEs 选择性接收周围环境中的蛋白质、核酸等成分并发生泛素化,成熟为 LEs。LEs 的囊壁向内凹陷、突入出芽而至脱落,逐渐于囊腔内形成多个小囊泡,形成 MVB。MVB 的外膜与细胞膜融合后,将其内小囊泡批量地释放到细胞外基质中,即 exosomes。不同类型细胞形成 exosomes 的过程大同小异。

Exosomes 在电子显微镜 (电镜) 下显示为脂质双层膜包裹的扁平球囊体,呈特征性的双凹圆盘状。同源性 exosomes 形态均一、大小相近,不同来源其直径可以不同,但均介于 30 ~ 100 nm 之间,尿液 exosomes 直径在 60 nm 左右^[12]。

1.2 Exosomes 的成分

在 exosomes 形成过程中,有选择地分拣、富集了一些成分 (如蛋白质、核酸等)。ExoCarta 和 vesiclepedia 数据库收录了比较全面的有关 exosomes 的蛋白质、核酸和脂质的信息,可供研究者查阅。

Exosomes 中普遍存在的蛋白质主要包括胞质蛋白、信号转导分子、代谢酶类、热激蛋白 (heat shock protein, HSP) 和四跨膜蛋白。另一类是特异性蛋白质,只存在于特定细胞来源的 exosomes。如肾癌细胞源性 exosomes 富含肾癌特异性抗原 G250^[13]。Gonzales 等^[14]从正常人尿液 exosomes 中鉴定出 1 412 种特异性蛋白质。在线人类孟德尔遗传数据库 (Online Mendelian Inheritance in Man, OMIM) 提供的信息表明,177 种蛋白质与疾病相关,其中 34 种蛋白质与肾脏疾病相关。Prunotto 等^[15]检测到肾小球足细胞源

性 exosomes 的 1 195 种蛋白质。随着对尿液 exosomes 蛋白质组学研究的日益深入,其数据正不断更新。Gonzales 等后来还建立了“Urinary Exosome Protein Database”,提供有关尿液 exosomes 的蛋白质更新数据。

Exosomes 所涉及的脂质成分基本包括磷脂酰胆碱、胆固醇、神经鞘磷脂、神经节苷脂和磷脂酰乙醇胺。研究^[16]表明,exosomes 同其来源细胞以及不同来源细胞的 exosomes 之间的脂质成分含量、比例有所不同;但有关尿液 exosomes 脂质成分的研究目前并不多。

此外,exosomes 还含有丰富的核酸如 mRNA、miRNA,这揭示 exosomes 在细胞基因信息传递方面起重要作用。这些 RNA 组分在不同来源细胞之间有很大差异,可能成为潜在的生物学标志物^[10, 17]。如 Miranda 等^[10]鉴定出正常人尿液 exosomes 中有 15 种能代表肾单位和集合管不同区域的 mRNA。

2 Exosomes 的生理学功能

2.1 排泄功能

Exosomes 首先被发现的生理作用是排泄红细胞内废弃蛋白质。尿液 exosomes 也扮演着去除肾上皮细胞内废弃蛋白质的“清洁工”角色,甚至比蛋白酶体和溶酶体的清除效率还高^[9]。

2.2 信号转导功能

Exosomes 还是细胞之间水平传递蛋白质和核酸等成分的桥梁。如机体可通过直接降解水孔蛋白 2 (aquaporin 2, AQP2) 或经 exosomes 转移来调节 AQP2 的含量,倘若没有 exosomes 及时参与 AQP2 或 AQP2 mRNA 转移,将可能引起机体尿崩症^[18];但是 exosomes 的这一功能并不是只给机体带来益处,如肾刷状缘所分泌的 exosomes 可促进草酸钙结晶化,从而利于肾结石的形成^[19]。

2.3 肿瘤免疫作用

Exosomes 可作为一种潜在的肿瘤疫苗运用于肿瘤疾病的治疗。研究^[20]表明,无论是经肿瘤抗原冲击后的抗原提呈细胞 (antigen presenting cell, APC) 所分泌的 exosomes,还是肿瘤细胞源性 exosomes,均可以携带 MHC I/II 类分子和肿瘤特异性抗原,进而诱

导高效免疫应答,产生特异性抗肿瘤效应。

肿瘤源性 exosomes 也表达抑制免疫反应的肿瘤相关抑制分子。研究^[5,6]发现,exosomes 在诱导机体免疫耐受和肿瘤免疫逃逸中发挥重要作用,如肾癌细胞源性 exosomes 可促进肾癌细胞生长和增殖,并且高表达 FasL,通过与 T 细胞表面的死亡受体结合诱导 T 细胞凋亡而产生免疫逃逸^[21]。免疫耐受可下调机体的免疫监视能力,促进肿瘤的生长,从而阻碍肿瘤的免疫治疗。因此,exosomes 的这种鲜为人知的作用又显示出巨大的临床潜能,如可以应用其延长移植瘤在受体中的存活时间和防止自身免疫性疾病的发生和发展^[22]。

3 Exosomes 的分离纯化

在研究 exosomes 的过程中,分离纯化 exosomes 是必不可少的。研究^[23]表明,如果是直接从临床标本(如血浆)中提取 exosomes,则最好在分离 exosomes 之前用 PBS 将标本稀释 3~10 倍以调节血液黏度,从而提高 exosomes 的得率。若提取的 exosomes 来自培养的细胞,则难免会因血清的使用导致标本混杂血清源性 exosomes 及 RNAs;因而在用于细胞培养之前常常需要通过超速离心去除血清中的 exosomes 或使用不含血清的培养基,这样可以在一定程度上避免血清源性 exosomes 及 RNAs 的污染^[24]。

现阶段用于 exosomes 分离纯化的方法有超速离心法、超滤法、超速离心结合凝胶色谱法、商品化试剂盒(ExoQuick precipitation Kit)以及基于免疫亲和性的各种分离方法(如免疫磁珠分选)等^[25,26]。不同的方法可能适应不同的应用需求,超滤超速离心法更适用于标本量较大、exosomes 浓度较高的标本,但分离出的 exosomes 不是特别纯^[27]。有研究者^[24]认为,将超速离心后所得 exosomes 用 PBS 重悬后再离心,这样虽然会降低得率,但得到的 exosomes 较纯。免疫磁珠分选法和试剂盒分离法适合样本量较少、exosomes 浓度较低的标本,获得的 exosomes 纯度较高^[27]。Taylor 等^[25]发现,经 ExoQuick precipitation Kit 分离出的 exosomes 的 RNA 和蛋白质纯度和质量更高。免疫磁珠法的缺点在于可能只能分选出表面标记阳性的 exosomes,采用 ExoQuick precipitation Kit 的成本又太高^[27]。

目前提纯尿液 exosomes 主要采取超滤超速离心

法,但获得的 exosomes 纯度不是很高,可能影响进一步的研究^[28];且超速离心需要昂贵的试验仪器及长时间的处理,所以有必要探索更加实效的提取方法。Rood 等^[29]发现超速离心结合凝胶色谱法是富集、提纯尿 exosomes 最有效的方法。但采用超速离心结合凝胶色谱法分离 exosomes 的研究还比较少见,且其花费成本高。另外,在提取尿液 exosomes 时有一点值得注意,即 Tamm-Horsfall 蛋白易于在尿液中形成巨大纤维聚集物(尤其是在低温环境下),这种聚集物能够拖拽 exosomes,从而阻碍其分离和纯化,并干扰蛋白质的分析^[28];有研究者提出加强温度控制^[12]和采用还原剂二硫苏糖醇(dithiothreitol, DTT)^[19]可以消除这一影响。

4 Exosomes 与肾脏疾病

4.1 生物学标志物作用

在寻找新的肾病标志物的过程中,尿液标本分析作为一种非创伤检查方法,取材简单、量大,有着很大的优越性;但尿液中含量丰富却缺乏特异性的成分,势必会干扰虽微量但特异性很强的组分的检测,而尿液 exosomes 却因富集了相对特异的组分克服了该劣势^[10]。

尿液 exosomes 的某些蛋白质可为肾脏疾病的筛查、诊断提供重要信息。Raimondo 等^[30]发现肾癌患者尿 exosomes 中的蛋白质成分在数量和种类上与健康人有很大差异,若进一步研究筛选出其中的特异性蛋白质,将有助于肾癌的诊断;Moon 等^[31]分析了早期薄基膜病和 IgA 肾病患者的尿液 exosomes,发现其免疫球蛋白与正常人有差异;Ramirez 等^[32]从轻链型淀粉样变性病、多发性骨髓瘤及不明原因单克隆丙种球蛋白症患者(在临床上均出现明显蛋白尿)的尿液 exosomes 中,检测到一种在无蛋白尿或有蛋白尿但病情缓解的肾病患者的尿液 exosomes 中没有的十聚体;还有研究^[33]发现,急性肾损伤患者尿液 exosomes 中含有活化转录因子 3,而在健康对照者和慢性肾脏疾病患者的尿液及尿 exosomes 中没有发现,这表明尿液 exosomes 检测可作为急性肾损伤的诊断指标之一。

尿液 exosomes 分析有助于对肾脏疾病进行分型和分类。如多囊蛋白-1 和多囊蛋白-2 分别是两种类型常染色体显性多囊肾(autosomal dominant polycystic

kidney disease, ADPKD) 突变基因的产物,这两种蛋白在肾组织匀浆中含量很低不易检测,但是却易于在尿液 exosomes 中检测到^[34];正常人髓质和近曲小管分泌的 exosomes 携带有钠钾氯共转运体 2,而巴特综合征 1 型缺乏此转运体,因而通过检测尿液 exosomes 即可对患者进行分型^[35]。

尿液 exosomes 分析还可以用于监测肾脏疾病患者的病情。Sun 等^[36]发现尿液 exosomes 结合的肽基酶-4 水平与糖尿病肾病严重程度密切相关,这对于糖尿病肾病患者的预后具有一定的预测价值;Ling 等^[37]从肾移植后发生急性排斥反应的患者尿液 exosomes 中检测到 6 种特异性标志物;Anuradha 等^[38]发现在早期糖尿病肾病患者的尿液 exosomes 中 WT1 蛋白占主导地位,且其浓度随着肾功能的下降而升高;Li 等^[39]发现早期单侧肾盂输尿管梗阻解除后,表达 AQP1 和 β_2 微球蛋白 (β_2 -microglobulin, β_2 -MG) 的 exosomes 水平明显下降,表达转化生长因子 β_1 (TGF- β_1) 的 exosomes 水平明显升高;Trnka 等^[40]发现患小儿先天性肾积水的儿童的肾脏 AQP2 水平明显下降,TGF β 和 L1 细胞黏附分子明显升高,并与肾小球滤过率相关;还有研究者^[41]提出,可以通过监测高血压肾损害患者尿液 exosomes 中特异蛋白质组分的变化来观察哪种降压药物对患者有效。

除了蛋白质分子,尿液 exosomes 中的 RNA 成分也可以为肾脏疾病提供生物学信息。如传统的盐敏感性精确测试试验不仅费时、费力,且价格昂贵,患者的依从性也低,而尿液 exosomes 的分析可能为血压盐敏感性人群的早期筛查开辟了一条新思路。Gildea 等^[42]采用芯片技术分别检测了盐敏感性高血压、盐敏感性低血压和盐抵抗性 3 种不同受检者尿液 exosomes 中 1 898 种特异性 miRNA,发现有 45 种 miRNA 在敏感性体质和与抵抗性体质的受检者之间有极大差异,其中 24 种为尿液 exosomes 特异性 miRNA。因此,在不久的将来,通过尿液 exosomes 中 miRNA 的筛查试验即发现血压盐敏感性人群是有可能的。

4.2 治疗作用

Exosomes 在疾病治疗中的作用也受到关注。有关 exosomes 在肾脏疾病治疗方面的研究起步虽晚,但前景广阔。作为非细胞运载载体,exosomes 具有优良的运输能力。研究^[43]表明,可以将外源性 RNA 成分或一些治疗性药物导入内源性 exosomes,以

exosomes 作为载体治疗肾脏疾病。由于内皮细胞在调节血压和局部血流量、血栓形成以及血脂清除方面起着非常重要的作用,其功能障碍与常见慢性病所致肾病(如高血压肾病等)有密切关系,且内皮细胞又容易形成 exosomes 释放到外周循环中。内皮细胞可以成为基于 exosomes 治疗的潜在靶点^[28]。

Exosomes 在肿瘤免疫治疗方面的作用亦是研究热点之一。在尚以手术及放射和化学治疗肿瘤为主的背景下,exosomes 作为一种非细胞性抗肿瘤疫苗,抗原性弱、应用于人体的不良反应很小,俨然是肿瘤治疗上的一颗新星。张尧^[44]发现白介素-12 (interleukin-12, IL-12) 锚定修饰的 exosomes 有望成为治疗肾癌的新疫苗;王新利等^[45]研究发现肿瘤抗原致敏的树突状细胞 (dendritic cell, DC) 分泌的 exosomes 能有效促进 T 细胞的增殖和诱导细胞毒性 T 细胞 (cytotoxic T cell, CTL) 抗肾癌效应;刘安全等^[46]发现肝细胞黏附分子可能通过 exosomes 途径抑制肾癌细胞增殖。然而,某些肿瘤细胞分泌的 exosomes 具有多向免疫抑制功能,能诱导免疫耐受,使肿瘤可以顺利逃避免疫监视和机体的抗肿瘤免疫反应,并促进肿瘤转移、血管形成。如肾癌细胞源性 exosomes 可促进肾癌细胞生长和增殖,抑制细胞凋亡^[21]。因此,清除肾癌微环境中的 exosomes 或抑制其功能,可能成为肾癌治疗的新方法。Exosomes 可以诱导免疫耐受的这一特点为肾移植患者带来了福音。研究^[47]发现,Treg 细胞能分泌 exosomes,且 exosomes 转入大鼠急性肾排斥模型后,能明显延长移植肾存活时间和改善组织病理学改变。因此,将 exosomes 运用于移植术后的治疗以及自身免疫疾病的防治,其前景是值得期待的。

近年来,有关采用干细胞源性 exosomes 治疗肾脏疾病的研究正崭露头角。Gatti 等^[48]的体外实验结果表明人骨髓间充质干细胞 (human bone marrow mesenchymal stem cell, hBM-MSC) 分泌的 exosomes 能促进急性肾损伤模型小鼠小管上皮细胞的再生;沈俐等^[49]在体外试验中,以大鼠肾小管上皮细胞缺氧损伤模型说明了人脐带间质干细胞源性 exosomes 可能通过抗凋亡途径减轻缺氧时细胞的损伤;Camussia 等^[50]发现干细胞在修复肾损伤时主要通过 exosomes 介导的基因信息传递发挥修复作用,且干细胞和损伤细胞之间的基因信息传递是双向的。这些研究表明,干细胞可以通过旁分泌 exosomes 进行细

胞间信号沟通,这为未来基于干细胞的非细胞治疗奠定了基础。

5 展 望

Exosomes 的研究前景诱人,但其与肾脏方面的研究仍处于初期阶段,还有许多问题尚有待进一步探究和解决:哪些病理生理刺激可以影响 exosomes 的产生、释放和清除,可以通过什么方式干预这些过程;在肾脏功能发生改变时,尿 exosomes 所携分子的浓度或活性有何变化,是否具有高特异性;如何平衡肿瘤细胞源性 exosomes 在诱导机体抗肿瘤和免疫耐受方面的效应,从而达到我们预期的治疗效果;如何建立快速、经济和高效率的 exosomes 提纯方法等。Exosomes 的研究前景广阔,但目前大部分工作尚停留在科研阶段,有关生物标志物的开发和验证还是很少,而诊断和治疗方面的研发就更少;且大多数临床诊疗性试验尚停留在体外细胞水平和动物模型上,仍需要进行大规模、不同层次的临床研究予以证实,才能使得这种新型肿瘤疫苗真正为广大肿瘤患者带来福祉。

【参考文献】

- [1] Singh PP, Smith VL, Karakousis PC, et al. Exosomes isolated from mycobacteria-infected mice or cultured macrophages can recruit and activate immune cells *in vitro* and *in vivo* [J]. *J Immunol*, 2012, 189(2): 777-785.
- [2] Masuyk AI, Huang BQ, Ward CJ, et al. Biliary exosomes influence cholangiocyte regulatory mechanisms and proliferation through interaction with primary cilia[J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2010, 299(4): G990-G999.
- [3] Ogawa Y, Miura Y, Harasawa A, et al. Proteomic analysis of two types of exosomes in human whole saliva [J]. *Biol Pharm Bull*, 2011, 34(1): 13-23.
- [4] Dear JW, Street JM, Bailey MA. Urinary exosomes: a reservoir for biomarker discovery and potential mediators of intrarenal signalling [J]. *Proteomics*, 2013, 13(10-11): 1572-1580.
- [5] Ghayad SE, Cohen PA. Inhibitors of the PI3K/Akt/mTOR pathway: new hope for breast cancer patients[J]. *Recent Pat Anticancer Drug Discov*, 2010, 5(1): 29-57.
- [6] Filipassi P, Burdek M, Villa A, et al. Recent advances on the role of tumor exosomes in immunosuppression and disease progression [J]. *Semin Cancer Biol*, 2012, 22(4): 342-349.
- [7] Moon PG, You S, Lee JE, et al. Urinary exosomes and proteomics [J]. *Mass Spectrom Rev*, 2011, 30(6): 1185-1202.
- [8] Fang DY, King HW, Li JY, et al. Exosomes and the kidney: blaming the messenger[J]. *Nephrology (Carlton)*, 2013, 18(1): 1-10.
- [9] van Balkom BW, Pislakun T, Verhaar MC, et al. Exosomes and the kidney: prospects for diagnosis and therapy of renal diseases [J]. *Kidney Int*, 2011, 80(11): 1138-1145.
- [10] Miranda KC, Bord DT, Meeker M, et al. Nucleic acids within urinary exosomes/microvesicles are potential biomarkers for renal disease [J]. *Kidney Int*, 2010, 78(2): 191-199.
- [11] 夏恒传,张春霞,冯凡,等. 多囊体生物发生和蛋白质分选——ESCRT、Vps4、Ubiquitination 一个都不能少 [J]. *生物化学与生物物理进展*, 2013, 40(2): 103-117.
- [12] 李艳艳,张渊,代义,等. 人尿液中 exosomes 的分离及鉴定 [J]. *中国生物制品学杂志*, 2011, 24(2): 230-232.
- [13] Zhang Y, Luo CL, He BC, et al. Exosomes derived from IL-12-anchored renal cancer cells increase induction of specific antitumor response *in vitro*; a novel vaccine for renal cell carcinoma [J]. *Int J Oncol*, 2010, 36(1): 133-140.
- [14] Gonzalez PA, Pislakun T, Hoffert JD, et al. Large-scale proteomics and phosphoproteomics of urinary exosomes [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2009, 20(2): 363-379.
- [15] Prunotto M, Farina A, Lane L, et al. Proteomic analysis of podocyte exosome-enriched fraction from normal human urine [J]. *J Proteomics*, 2013, 82: 193-229.
- [16] Carayon K, Chaoui K, Renier E, et al. Proteolipid composition of exosomes changes during reticulocyte maturation [J]. *J Biol Chem*, 2011, 286(39): 34426-34439.
- [17] Fignati L, Yaddanapudi SC, Iyengar R, et al. Selective release of microRNA species from normal and malignant mammary epithelial cells [J]. *PLoS One*, 2010, 5(10): e13515.
- [18] Radin MJ, Yu MJ, Stedkilde L, et al. Aquaporin-2 regulation in health and disease [J]. *Vet Clin Pathol*, 2012, 41(4): 455-470.
- [19] Fernandez-Ilama P, Kheirath S, Gonzalez PA, et al. Tamm-Horsfall protein and urinary exosome isolation [J]. *Kidney Int*, 2010, 77(8): 736-742.
- [20] Wang K, Tang J. Tumour-derived exosomes and their roles in cancer [J]. *Zhong Nan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban*, 2010, 35(12): 1288-1292.
- [21] Cai Z, Yang F, Yu L, et al. Activated T cell exosomes promote tumor invasion via Fas signaling pathway [J]. *J Immunol*, 2012, 188(12): 5954-5961.
- [22] Pant S, Hilton H, Bureynski ME. 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.
- [23] Noorholm M, Balaj L, Limpeng T, et al. RNA expression patterns in serum microvesicles from patients with glioblastoma multiforme and controls [J]. *BMC Cancer*, 2012, 12(1): 1-22.
- [24] Witwer KW, Busas EI, Bemis LT, et al. Standardisation of sample

- collection, isolation and analysis methods in extracellular vesicle research[J]. *J Extracell Vesicles*, 2013, 2(1): e20360.
- [25] Taylor DD, Zacharias W, Geroel-Taylor C. Exosome isolation for proteomic analyses and RNA profiling[J]. *Methods Mol Biol*, 2011, 728: 235-246.
- [26] Tauro BJ, Greening DW, Mathias RA, et al. Comparison of ultracentrifugation, density gradient separation, and immunofluorescence capture methods for isolating human colon cancer cell line LIM1863-derived exosomes[J]. *Methods*, 2012, 56(2): 293-304.
- [27] 朱伟,李雅红. Exosomes(外体)在临床诊断和治疗中的应用[J]. *临床检验杂志*, 2012, 30(10): 846-849.
- [28] 柏云,郑春霞. 外质体(Exosomes)与肾脏疾病[J]. *肾脏病与透析肾移植杂志*, 2012, 21(4): 370-374.
- [29] Rood IM, Deegens JK, Merchant ML, et al. Comparison of three methods for isolation of urinary microvesicles to identify biomarkers of nephrotic syndrome[J]. *Kidney Int*, 2010, 78(8): 810-816.
- [30] Raimondo F, Morosi L, Corbetta S, et al. Differential protein profiling of renal cell carcinoma urinary exosomes[J]. *Mol Biosyst*, 2013, 9(6): 1220-1233.
- [31] Moon PG, Lee JE, You S, et al. Proteomic analysis of urinary exosomes from patients of early IgA nephropathy and thin basement membrane nephropathy[J]. *Proteomics*, 2011, 11(12): 2459-2475.
- [32] Ramirez-Alvarado M, Ward CJ, Huang BQ, et al. Differences in immunoglobulin light chain species found in urinary exosomes in light chain amyloidosis (AL)[J]. *PLoS One*, 2012, 7(6): e38061.
- [33] Tamb PR, Borden KC, Fard A, et al. Role of biomarkers in the diagnosis and prognosis of acute kidney injury in patients with cardiovascular syndrome[J]. *Expert Rev Cardiovasc Ther*, 2012, 10(5): 657-667.
- [34] Hogan MC, Mangunelli L, Woollard JR, et al. Characterisation of PKD protein-positive exosome-like vesicles[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2009, 20(2): 278-288.
- [35] Street JM, Birkhoff W, Mennies RI, et al. Exosomal transmission of functional aquaporin 2 in kidney cortical collecting duct cells[J]. *J Physiol*, 2011, 589(Pt 24): 6119-6127.
- [36] Sun AL, Dang JT, Guan CJ, et al. Dipeptidyl peptidase-IV is a potential molecular biomarker in diabetic kidney disease[J]. *Diab Vasc Dis Res*, 2012, 9(4): 301-308.
- [37] Ling XB, Sigdel TK, Lau K, et al. Integrative urinary peptidomics in renal transplantation identifies biomarkers for acute rejection[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2010, 21(4): 646-653.
- [38] Kalani A, Mohan A, Godbole MM, et al. Wilm's tumor-1 protein levels in urinary exosomes from diabetic patients with or without proteinuria[J]. *PLoS One*, 2013, 8(3): e60177.
- [39] Li ZZ, Zhao ZZ, Wen JG, et al. Early alteration of urinary exosomal aquaporin 1 and transforming growth factor beta1 after release of unilateral pelviureteral junction obstruction[J]. *J Pediatr Surg*, 2012, 47(8): 1581-1586.
- [40] Trnka P, Ivancova L, Hiatt MJ, et al. Urinary biomarkers in obstructive nephropathy[J]. *Clin J Am Soc Nephrol*, 2012, 7(10): 1567-1575.
- [41] Esteve-Font C, Wang X, Ara E, et al. Are sodium transporters in urinary exosomes reliable markers of tubular sodium reabsorption in hypertensive patients[J]. *Nephron Physiol*, 2010, 114(3): 25-34.
- [42] Gildes JJ, Carlson JM, Schoeffel CD, et al. Urinary exosome miRNA analysis and its applications to salt sensitivity of blood pressure[J]. *Clin Biochem*, 2013, 46(12): 1131-1134.
- [43] Biancone L, Bruno S, Deregibus MC, et al. Therapeutic potential of mesenchymal stem cell-derived microvesicles[J]. *Nephrol Dial Transplant*, 2012, 27(8): 3037-3042.
- [44] 张弛. IL-12 锚定修饰 exosomes 的肾癌疫苗的制备及体外抗肿瘤效应研究[D]. 重庆:重庆医科大学, 2010.
- [45] 王新利,李卿,高婷,等. 树突状细胞分泌的 exosomes 体外诱导特异性 CTL 抗肾癌的初步研究[J]. *中国医科大学学报*, 2010, 39(1): 4-6.
- [46] 刘安全,吴小楼,罗春丽. HepaCAM 蛋白通过 exosomes 途径分泌到细胞外并抑制肿瘤细胞增殖[J]. *第三军医大学学报*, 2012, 34(2): 168-171.
- [47] 余雪松. 口服 RDP58 肽诱导的 Treg 源性 exosomes 抑制大鼠肾移植排斥的研究[D]. 重庆:第三军医大学, 2012.
- [48] Bruno S, Grange C, Collino F, et al. Microvesicles derived from mesenchymal stem cells enhance survival in a lethal model of acute kidney injury[J]. *PLoS One*, 2012, 7(3): e33115.
- [49] 沈桐,高颖,钱晖,等. 人脐带间质干细胞来源的外切体对大鼠肾小管上皮细胞缺氧损伤的干预作用[J]. *江苏大学学报:医学版*, 2012, 22(3): 193-197.
- [50] Camussi G, Deregibus MC, Teti C. Paracrine/endocrine mechanism of stem cells on kidney repair: role of microvesicle-mediated transfer of genetic information[J]. *Curr Opin Nephrol Hypertens*, 2010, 19(1): 7-12.

[收稿日期] 2013-0-0

[本文编辑] 王淑平