

肿瘤防治研究

Cancer Research on Prevention and Treatment

以外泌体为基础的液体活检在胰腺癌诊断中的研究进展

郭马娣, 赵娟, 黄小义

引用本文:

郭马娣, 赵娟, 黄小义. 以外泌体为基础的液体活检在胰腺癌诊断中的研究进展[J]. 肿瘤防治研究, 2022, 49(3): 240-245.

GUO Madi, ZHAO Juan, HUANG Xiaoyi. Research Progress of Exosome-based Liquid Biopsy in Diagnosis of Pancreatic Cancer[J]. *Zhong Liu Fang Zhi Yan Jiu*, 2022, 49(3): 240-245.

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.3971/j.issn.1000-8578.2022.21.1008>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

外泌体在胰腺癌诊治中的研究进展

Advances of Exosomes in Diagnosis and Treatment of Pancreatic Cancer

肿瘤防治研究. 2019, 46(08): 737-740 <https://doi.org/10.3971/j.issn.1000-8578.2019.19.0046>

FDG-PET/CT在胰腺癌诊断、分期及预后中作用的Meta分析

Effect of FDG-PET/CT in Diagnosis, Staging and Prognosis of Pancreatic Cancer: A Meta-analysis

肿瘤防治研究. 2017, 44(3): 202-208 <https://doi.org/10.3971/j.issn.1000-8578.2017.03.010>

卵巢癌血清新型肿瘤标志物研究与应用现状

Research and Application of New Serum Tumor Markers in Ovarian Cancer

肿瘤防治研究. 2017, 44(9): 631-635 <https://doi.org/10.3971/j.issn.1000-8578.2017.17.0078>

以间皮素为靶点的肿瘤特异性核素成像研究进展

Progress in Mesothelin as Target for Cancer Specific Radionuclide Imaging

肿瘤防治研究. 2018, 45(09): 691-694 <https://doi.org/10.3971/j.issn.1000-8578.2018.18.0087>

肿瘤源性外泌体与白血病关系的研究进展

Advances in Relation Between Tumor-derived Exosomes and Leukemia

肿瘤防治研究. 2019, 46(07): 639-643 <https://doi.org/10.3971/j.issn.1000-8578.2019.18.1961>



杂志官网



微信公众号

doi:10.3971/j.issn.1000-8578.2022.21.1008

• 综述 •

以外泌体为基础的液体活检在胰腺癌诊断中的研究进展

郭马娣, 赵娟, 黄小义

Research Progress of Exosome-based Liquid Biopsy in Diagnosis of Pancreatic Cancer

GUO Madi, ZHAO Juan, HUANG Xiaoyi

*Biotherapy Center, Affiliated Tumor Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150081, China**Corresponding Author: HUANG Xiaoyi, E-mail: xyhuang@hrbmu.edu.cn*

Abstract: Pancreatic cancer (PC) is a highly malignant tumor of the digestive system. Due to the lack of sensitive and effective detection markers, the tumor is usually at a relatively advanced stage in initial diagnosis. Therefore, early detection of PC is crucial for timely treatment and better prognosis. Exosomes are extracellular vesicles secreted by cells. They have a lipid bimolecular membrane structure to ensure the stable existence of a large number of biologically active substances contained therein. So they can accurately reflect the characteristics of parental cells. Exosomes are widely present in various body fluids and can non-invasively, conveniently and real-time extracted, with the potential to become a marker for early tumor diagnosis. Previous studies have shown that compared with traditional diagnostic methods, exosomes showed higher sensitivity and specificity in the early diagnosis of various cancers. This article reviews the research progress of exosomes in the early diagnosis of pancreatic cancer.

Key words: Pancreatic carcinoma; Diagnosis; Exosomes; Liquid biopsy

Competing interests: The authors declare that they have no competing interests.

摘要: 胰腺癌是一种恶性程度极高的消化系统肿瘤。因缺乏敏感有效的检测标志物, 多数患者就诊时已处于晚期, 治疗手段有限, 预后极差, 因此早期诊断是患者能及时治疗、改善预后的最有效途径。外泌体是由细胞分泌的细胞外囊泡, 具有脂质双分子膜结构保证内含的大量生物活性物质稳定存在, 可确切反映亲代细胞特征, 并且广泛存在于各种体液中, 可无创、方便、实时提取, 具有成为肿瘤早期诊断标志物的潜力。既往研究表明, 与传统的诊断方法相比, 外泌体在各类癌症的早期诊断中表现出更高的敏感度和特异性。本文就外泌体在胰腺癌早期诊断中的研究进展作一综述。

关键词: 胰腺癌; 诊断; 外泌体; 液体活检

中图分类号: R735.9; R730.4

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



0 引言

胰腺癌 (pancreatic cancer, PC) 是一种预后较差的消化系统恶性肿瘤, 据美国癌症协会统计数据显示, 胰腺癌发病率在男性居第10位, 女性居第9位, 而死亡率均居第4位^[1]。由于胰腺癌起病隐匿、早期缺乏特异症状及敏感的生物医学诊断标志物, 多数患者初诊时已经进展到晚期, 失去最佳治疗时机, 整体5年生存率仅为9%^[2]。因此, 筛选

高敏感度和特异性的胰腺癌诊断标志物, 提高胰腺癌的早期诊断率, 使患者得到及时治疗, 对于提高患者生存预后具有重要意义。

近年来, 液体活检技术的出现是肿瘤诊疗领域的重大突破^[3], 通过捕获循环肿瘤细胞 (circulating tumor cell, CTC)、循环肿瘤DNA (circulating tumor DNA, ctDNA)、循环肿瘤RNA (circulating tumor RNA, ctRNA) 及外泌体 (exosome), 分析肿瘤衍生的循环核酸、蛋白质等活性物质来解读恶性肿瘤的生物医学进程, 在肿瘤的早期诊断、检测治疗效果、追踪患者复发方面表现出明显优势。其中外泌体因其广泛存在于各种体液中, 易于富集, 提取简单、无创、实时, 其内容物核酸、蛋白质及脂质等活性成分表达丰富、稳定, 成为各类肿瘤诊断的潜在生物标志物

收稿日期: 2021-09-08; 修回日期: 2021-11-01

作者单位: 150081 哈尔滨, 哈尔滨医科大学附属肿瘤医院生物治疗中心

通信作者: 黄小义 (1972-), 男, 博士, 教授, 主要从事外泌体和干细胞的临床应用、过继性免疫治疗等研究, E-mail: xyhuang@hrbmu.edu.cn

作者简介: 郭马娣 (1997-), 女, 硕士在读, 主要从事肿瘤外泌体的研究

研究热点。本文就外泌体在胰腺癌诊断中的研究进展予以综述。

1 外泌体概述

1.1 形成

外泌体是直径约40~160 nm、具有脂质双分子膜结构的细胞外囊泡^[4]，由多种机体细胞或肿瘤细胞分泌产生并释放到各种体液中。外泌体的形成过程主要包括质膜的两次内陷及细胞内多囊泡小体的形成（intracellular multivesicular bodies, MVBs）。质膜的第一次内陷形成包含有细胞表面蛋白和细胞外环境中可溶性蛋白的杯状结构，这也是早期分选内体（early-sorting endosome, ESE）的从头形成过程。ESE在细胞内逐渐成熟为晚期分选内体（late-sorting endosomes, LSE），其质膜的再次内陷形成包含大量腔内小泡（intraluminal vesicles, ILV）的MVB，MVBs既可以与溶酶体或自噬小体融合降解，也可以通过与细胞膜的融合和胞吐作用将ILVs分泌出细胞，这些被释放出的直径约40~160 nm的小囊泡就是外泌体^[5]。已有研究提出相比正常细胞，癌细胞分泌更多的外泌体^[6]。

1.2 分离和检测

目前，已经开发了许多技术可以分离得到浓度和纯度均较高的外泌体，如超速离心法（ultracentrifugation, UC）、超滤、尺寸排阻色谱、成品化学试剂盒、磁珠免疫吸附法、微流体分离法等^[7]，其中UC是最常用的富集外泌体的方法。纳米粒子示踪分析（NTA）、透射电子显微镜（TEM）等可用来检测分离得到的外泌体形态学特征，Western blot、流式细胞术常用于分析和检测外泌体标志物^[8]。此外，还有很多方法可以用来检测外泌体中的蛋白质和核酸成分。这些成熟的外泌体分离提取及鉴定技术是外泌体相关研究顺利进行的基础和保障。

1.3 主要成分

外泌体组成成分包含蛋白质、脂质、DNA、RNA和各类代谢物等^[9]，这些内容物与其来源的细胞密切相关，可确切反映亲代细胞特征。外泌体内包含的核酸有DNA和RNA，RNA包括非编码RNA和mRNA，其中非编码RNA可以通过细胞间通讯和组织微环境调控作用参与不同的生理、病理途径，尤其是小核糖核酸（miRNA）在转录后水平参与基因调控^[10]，与包括胰腺癌在内的多种癌症的发生发展密切相关^[11-12]，LncRNA和Cir-cRNA可以通过吸附miRNA、抑制miRNA活性来

发挥作用。根据外泌体数据库的资料，从外泌体已鉴定出2 000多种蛋白质，主要包括跨膜蛋白、脂质锚定膜蛋白、外周相关膜蛋白和外泌体腔内的可溶性蛋白^[4]，其中四跨膜蛋白家族的CD81、CD63、CD9，热休克蛋白家族的Hsp27、Hsp90、Hsp70以及细胞分选复合物TSG101共同成为最常用的外泌体标记蛋白^[13]。外泌体膜含有不同丰度的磷脂酰胆碱（PC）、磷脂酰丝氨酸（PS）、磷脂酰乙醇胺（PE）、磷脂酰肌醇（PI）、胆固醇和鞘磷脂等^[4]，这些脂类可参与外泌体形成和释放。此外，脂质成分及其稳定的膜结构使外泌体具有更高的渗透性和循环稳定性，可作为药物输送的载体^[14]。通过对外泌体携带的生物活性成分进行研究，发现从肿瘤患者体液分离得到的外泌体可以作为肿瘤重要的诊断和预后标志物。

2 外泌体在胰腺癌诊断中的作用

胰腺癌的传统诊断方法主要有影像学、血液生物标志物CA199、CEA以及超声引导穿刺活检等方法^[15]，而确诊通常需要侵入性手段，因此受到应用限制，使其在胰腺癌早期诊断上的作用十分有限。已经有研究表明胰腺癌患者体液中的外泌体内一些分子特异性的存在或表达，可以作为一种新型的胰腺癌诊断生物标志物。

2.1 外泌体RNA与胰腺癌诊断

2.1.1 外泌体非编码RNA miRNA是一类非编码核糖核酸分子，由21~25个核苷酸组成^[16]。富集于外泌体中的miRNA，因外泌体膜结构可以保护其不受核糖核酸酶干扰，使其在不同理化性质下均较为稳定，这为利用外泌体miRNA作为恶性肿瘤的早期诊断标志物创造了条件^[17]。目前已有研究表明血清外泌体中miRNA可作为胰腺癌早期诊断标志物。Zou等^[18]构建了一个血清外泌体6-miRNA组，包括let-7b-5p、miR-192-5p、miR-19a-3p、miR-19b-3p、miR-223-3p和miR-25-3p，ROC曲线分析表明这六种miRNA共同参与诊断时曲线下面积（Area Under Curve, AUC）为0.910，证明了miRNA生物标志物的组合可能比单一标志物具有更好的诊断性能。Zhou等^[19]也评估了外泌体miRNA作为生物标志物在诊断PC中的潜在用途，发现PC患者血清外泌体miR-122-5p和miR-193b-3p上调，而miR-221-3p下调，ROC分析显示外泌体miR-122-5p和miR-193b-3p的AUC与血浆中miRNA相似。Kawamura等^[20]通过分析55例胰腺导管腺癌（PDAC）患者和20例健康志愿者门静脉

血 (PVB) 及外周血 (PB) 血浆中的外泌体, 发现PDAC患者PVB外泌体miR-4525、miR-451a和miR-21水平显著高于PB, 可作为诊断胰腺癌及判断术后复发的潜在生物标志物。Goto等^[21]在对32例PC患者和29例导管内乳头状黏液性肿瘤 (intraductal papillary mucinous neoplasm, IPMN) 患者的研究中发现, 与22例对照组健康志愿者相比, 血清外泌体miR-191、miR-21和miR-451a在PC和IPMN中的表达上调, 此外ROC分析还表明, 外泌体miRNA对于区分对照组和早期胰腺癌 (I期和IIA期) 患者的准确性优于CEA, 其中miR-21的诊断准确性达80.8%。Pu等^[22]运用阳离子脂质体纳米颗粒生物芯片检测36例PC患者和65例健康人外周血血浆外泌体miR-21, 也证明了PC组外泌体miR-21表达水平明显高于对照组, ROC分析同时表明其诊断性能较优 ($P=0.0003$; AUC为0.7171)。

除了血浆, 在其他体液中的外泌体miRNA也显示了胰腺癌诊断的潜在价值, 如Yoshizawa等^[23]发现PDAC患者尿液外泌体中miR-3940-5p/miR-8069比值升高, 且升高趋势明显高于血清, 该比值与CA19-9联合诊断PDAC可将敏感度和阳性预测值分别提高到93.0%和78.4%, 可作为一项新型胰腺癌CA19-9联用诊断标志物。到目前为止, 一些研究^[24-25]已经证明了单独或联合多种miRNA在诊断胰腺癌、区分胰腺癌与胰腺非恶性疾病的潜在作用。

长链非编码RNA (LncRNA) 是长度大于200个核苷酸的非编码RNA^[26]。目前, 已经在包括胰腺癌在内的多种癌症中发现了外泌体LncRNAs的异常表达^[27-28]。Takahashi等^[29]鉴定出一种血清外泌体LncRNA-HULC, 并证明了其作为PC诊断标记的效率 (AUC为0.92)。Kumar等^[30]研究发现PC和IPMN患者血清外泌体中LncRNA MALAT-1和CRNDE较健康者特异性过表达, 可以区分PC、IPMN和健康者。在另一项研究中, 对501例受试者 (包括284例PDAC患者、100例慢性胰腺炎患者和117例健康受试者) 的血浆样本提取的外泌体进行RNA-seq分析发现, 8个长链RNA包括FGA、KRT19、HIST1H2BK、ITIH2、MARCH2、CLDN1、MAL2和TIMP1的表达在各组间有明显差异, 它们在区分胰腺癌和慢性胰腺炎方面表现出优于CA19-9的性能 (AUC为0.931)^[31]。

近年来, 环状RNA (circRNA) 作为一种新发现的内源性非编码RNA在肿瘤发生发展中的作用受到了人们的关注^[32]。circRNA的相对稳定性和

物种间的进化保守性赋予它作为癌症的潜在生物标志物的实用价值, 有研究证明circ-IARS、circ-PDE8A在胰腺癌外泌体中表达升高, 且过表达促进胰腺癌细胞的转移和侵袭^[33-34], 可能是PDAC早期诊断和预后预测的重要指标。

核仁小RNA (snoRNA) 是分布于真核生物细胞核仁的小分子非编码RNA, 具有保守的结构元件^[35]。在一项27例胰腺癌患者和13例对照的临床研究中发现, 血清外泌体中SNORA74A和SNORA251联合CA19-9在区分胰腺癌患者与对照组时的AUC面积均大于0.9 (AUC为0.946和0.940), 高于CA19-9单独诊断效率 (AUC 0.897)^[36]。

以上这些相关研究提示外泌体非编码RNA在胰腺癌的诊断和治疗上的应用前景广阔, 但是, 由于外泌体中RNA含量丰富, 目前各研究均是单中心, 患者数量较少, 体液种类和外泌体提取方法等均存在差异, 导致不同研究结果的差异大、重现性差, 无法提供确切的适用于胰腺癌诊断的RNA标记, 因此还需要进行多中心、扩大样本量的研究。

2.1.2 外泌体mRNA 在最新的一项研究中, Kumar等^[30]通过分离和鉴定血清中的外泌体, 并通过下一代测序 (EXO-NGS) 分析外泌体中存在的各种RNA, 发现在不同的mRNA转录本中, MMP8、TBX3、PDX1、CTSL、SIGLEC15等在PDAC患者中有更高的表达。此前, Kitagawa等在PC患者血清外泌体中还检测到4种mRNAs (CCDC88A/ARF6/VAV3/WASF2), 其中WASF2和ARF6表达水平的改变可以有效地区分PC患者和健康者^[36]。Hu等^[37]利用一种与阳离子脂质-聚合物混合纳米颗粒 (lipid-polymer hybrid nanoparticles, LPHN) 相连的生物芯片可以与血清中外泌体结合形成LPHN-EV复合物, LPHN中合成的发夹状DNA环 (catalyzed hairpin DNA circuit, CHDC) 与外泌体中的GPC1 mRNA结合放大信号, 可以将胰腺癌和胰腺良性肿瘤、健康者区分开。Yang等^[38]使用磁性纳米孔装置从89例PC患者、44例胰腺良性疾病和71例健康者血浆中提取外泌体, 分析外泌体来源的miRNA、mRNA、循环DNA (ccfDNA) KRAS G12D/V/R突变及血清CA19-9对胰腺癌的诊断效能, 发现EV-miR-409、EV-CK18 mRNA、EV-CD63 mRNA、ccfDNA浓度和CA19-9在内的五个潜在生物标志物的联合诊断优于CA19-9单独诊断效能 (AUC为0.95 vs. 0.92)。以上研究显示了外

泌体mRNA在胰腺癌诊断方面的潜在价值。

2.2 外泌体DNA与胰腺癌诊断

最近许多研究发现,外泌体DNA的一些基因组突变也是重要的诊断标志物^[39],并且已经建立起较为成熟的外泌体DNA突变的检测方法^[40],这为利用患者血清或血浆中外泌体DNA诊断胰腺癌提供了可能。KRAS和P53是目前已知在胰腺癌患者中突变率较高的两个基因^[41]。Yang等^[42]在48例PC患者血清外泌体中检测到KRAS^{G12D}突变率为39.6%,而p53突变率为4.2%,提示循环外泌体DNA对于快速、低成本识别癌症相关突变具有应用价值。Allenson等^[43]对121例个体(39例胰腺癌患者、82例健康对照者)进行了队列研究,发现在对照组、局限型、局部进展型和转移性PDAC患者血浆外泌体中KRAS突变的检出率分别为7.4%、66.7%、80%和85%,对比之下血浆游离KRAS突变基因的检出率只有14.8%、45.5%、30.8%和57.9%。在随后的研究中Bernard等也验证了检测外泌体中的DNA可获得更高的基因突变检出率^[44],研究还表明外泌体中较高的KRAS突变与局限型PDAC患者的无疾病生存期(DFS)降低相关^[43-44]。此外,Castillo等^[45]利用蛋白组学分析鉴定出外泌体表面的多个PDAC特异性标志物:CLDN4、EpCAM、CD151、LGALS3BP、HIST2H2BE和HIST2H2BF,在接受积极治疗的PDAC患者中,44.1%的患者检测到外泌体中的KRAS突变,而使用以上候选标志物捕获特异性外泌体后,这一比例提高到了73.0%。以上这些研究显示了外泌体DNA作为诊断PC的潜在生物标志物价值。

2.3 外泌体蛋白和胰腺癌诊断

近年来,外泌体蛋白作为诊断胰腺癌的重要生物标志物受到越来越多的关注,并且已经有一些研究证明了其诊断价值。其中最引人注意的是,Melo等^[46]鉴定出了一种特异性富集在癌细胞外泌体表面的蛋白多糖—Glypican-1(GPC1),并提出GPC1可作为一种潜在的无创性诊断和筛查工具来发现早期胰腺癌。该研究证明了PC患者血清中GPC1阳性循环外泌体的水平较高,且GPC1阳性外泌体也被证实含有KRAS基因突变,使用GPC1区分胰腺癌、胰腺癌前病变和胰腺良性疾病的敏感度和特异性均可达到100%。此后,Frampton等^[47]检测胰腺癌患者($n=27$)手术前后血浆GPC1阳性外泌体的比例,发现术后其阳性比例明显降低,提出GPC1可能与肿瘤负荷密切相关。

Buscail等^[48]创新性地使用抗GPC1与抗CD63偶联的磁珠来分离和捕获血液中的GPC1阳性外泌体,发现CD63-GPC1双阳性外泌体联合CA19-9检测可进一步提高胰腺癌的诊断准确率。总的来说,这些研究证明了循环GPC1阳性外泌体是检测和筛查胰腺癌患者的一个较好的候选标志物,其临床应用价值还需要进一步研究。

Sharma等^[49]通过定量评估患者血浆外泌体磷脂酰丝氨酸(PS)的表达,发现其在组织病理学确诊之前就已经升高,可以作为超早期的胰腺癌患者生物标志物及PC的早期筛查。Liang等^[50]设计了一种快速而超敏感的纳米等离子体增强散射(NPES)分析方法,可以直接从低至1 μ l的血浆中定量肿瘤来源的外泌体,用该方法筛选出外泌体EphA2作为诊断PC的候选标志物,并证明其在区分PC和胰腺炎方面的有效性(AUC为0.96),外泌体EphA2的诊断价值在随后的研究中也得到了进一步的证实^[51]。Jin等^[52]研究了24例PC患者和32例胰腺良性疾病患者血清外泌体ZIP4水平,发现ZIP4水平的升高对胰腺癌显示出较高的诊断价值(AUC为0.89)。此外,CKAP4、c-met、PD-L1、ALIX等多种蛋白作为胰腺癌诊断标志物受到众多研究者的关注^[53-55]。由上述可见外泌体蛋白可能会显著提高PC诊断的敏感度和特异性,而联合外泌体DNA和RNA检测,可能会成为临床上早期诊断胰腺癌的有效生物标志物。

2.4 外泌体脂质和胰腺癌诊断

外泌体通常富含胆固醇、鞘磷脂和磷脂酰丝氨酸等脂质,且含量复杂多变^[56]。Tao等^[57]基于液-质联用(LC-MS)对胰腺癌患者血清外泌体脂质进行全面分析,鉴定出了37种脂质成分在胰腺癌患者与健康对照者中有明显差异。这些脂类与临床病理特征有很强的相关性,提示外泌体脂质可能是胰腺癌鉴别诊断的有效生物标志物。关于脂质在胰腺癌发生中的诊断作用研究很少,目前的研究证据尚不能对其诊断潜能加以评判。

3 总结与展望

胰腺癌作为一种高度恶性的肿瘤,死亡率极高,早期诊断是改善预后的关键,急需寻找有效的诊断标志物。外泌体内含有众多的分子成分,且双层膜结构保证了其内部信息的完整性,可确切反映亲代细胞特征,并且广泛存在于各种体液中,可无创、方便、实时地提取,具有成为肿瘤早期诊断标志物的潜力。基于外泌体的液体活检

已成为早期诊断胰腺癌的一种有前途的工具，大量的研究已经证明了外泌体对胰腺癌的诊断具有较高的敏感度和特异性。

然而，目前尚缺乏快速、经济、标准化的方案用于分离和提取外泌体及其内容物，这些已知的诊断标志物也需要进一步的大规模临床验证，目前还不能替代传统检查方法。虽然利用外泌体作为胰腺癌诊断工具的研究还处于初级阶段，但目前的研究已让我们看到外泌体在胰腺癌的诊断中有着十分广阔的应用前景。

参考文献：

- [1] Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2020[J]. *CA Cancer J Clin*, 2020, 70(1): 7-30.
- [2] Mizrahi JD, Surana R, Valle JW, *et al.* Pancreatic cancer[J]. *Lancet*, 2020, 395(10242): 2008-2020.
- [3] Alix-Panabières C. The future of liquid biopsy[J]. *Nature*, 2020, 579(7800): S9.
- [4] Pegtel DM, Gould SJ. Exosomes[J]. *Annu Rev Biochem*, 2019, 88: 487-514.
- [5] Kalluri R, LeBleu VS. The biology, function, and biomedical applications of exosomes[J]. *Science*, 2020, 367(6478): eaau6977.
- [6] Bebelman MP, Smit MJ, Pegtel DM, *et al.* Biogenesis and function of extracellular vesicles in cancer[J]. *Pharmacol Ther*, 2018, 188: 1-11.
- [7] Zhu L, Sun HT, Wang S, *et al.* Isolation and characterization of exosomes for cancer research[J]. *J Hematol Oncol*, 2020, 13(1): 152.
- [8] Lötvall J, Hill AF, Hochberg F, *et al.* Minimal experimental requirements for definition of extracellular vesicles and their functions: a position statement from the International Society for Extracellular Vesicles[J]. *J Extracell Vesicles*, 2014, 3: 26913.
- [9] Pathan M, Fonseka P, Chitti SV, *et al.* Vesiclepedia 2019: a compendium of RNA, proteins, lipids and metabolites in extracellular vesicles[J]. *Nucleic Acids Res*, 2019, 47(D1): D516-D519.
- [10] Hannafon BN, Carpenter KJ, Berry WL, *et al.* Exosome-mediated microRNA signaling from breast cancer cells is altered by the anti-angiogenesis agent docosahexaenoic acid (DHA)[J]. *Mol Cancer*, 2015, 14: 133.
- [11] Li LM, Liu H, Liu XH, *et al.* Clinical significance of exosomal miRNAs and proteins in three human cancers with high mortality in China[J]. *Oncol Lett*, 2019, 17(1): 11-22.
- [12] Zhao X, Ren Y, Cui N, *et al.* Identification of key microRNAs and their targets in exosomes of pancreatic cancer using bioinformatics analysis[J]. *Medicine (Baltimore)*, 2018, 97(39): e12632.
- [13] Deng F, Miller J. A review on protein markers of exosome from different bio-resources and the antibodies used for characterization[J]. *J Histotechnol*, 2019, 42(4): 226-239.
- [14] Skotland T, Sandvig K, Llorente A. Lipids in exosomes: Current knowledge and the way forward[J]. *Prog Lipid Res*, 2017, 66: 30-41.
- [15] Kato S, Honda K. Use of Biomarkers and Imaging for Early Detection of Pancreatic Cancer[J]. *Cancers (Basel)*, 2020, 12(7):1965.
- [16] Rupaimoole R, Slack FJ. MicroRNA therapeutics: towards a new era for the management of cancer and other diseases[J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2017, 16(3): 203-222.
- [17] Ge Q, Zhou Y, Lu J, *et al.* miRNA in plasma exosome is stable under different storage conditions[J]. *Molecules*, 2014, 19(2): 1568-1575.
- [18] Zou X, Wei J, Huang Z, *et al.* Identification of a six-miRNA panel in serum benefiting pancreatic cancer diagnosis[J]. *Cancer Med*, 2019, 8(6): 2810-2822.
- [19] Zhou X, Lu Z, Wang T, *et al.* Plasma miRNAs in diagnosis and prognosis of pancreatic cancer: A miRNA expression analysis[J]. *Gene*, 2018, 673: 181-193.
- [20] Kawamura S, Iinuma H, Wada K, *et al.* Exosome-encapsulated microRNA-4525, microRNA-451a and microRNA-21 in portal vein blood is a high-sensitive liquid biomarker for the selection of high-risk pancreatic ductal adenocarcinoma patients[J]. *J Hepatobiliary Pancreat Sci*, 2019, 26(2): 63-72.
- [21] Goto T, Fujiya M, Konishi H, *et al.* An elevated expression of serum exosomal microRNA-191, -21, -451a of pancreatic neoplasm is considered to be efficient diagnostic marker[J]. *BMC Cancer*, 2018, 18(1): 116.
- [22] Pu X, Ding G, Wu M, *et al.* Elevated expression of exosomal microRNA-21 as a potential biomarker for the early diagnosis of pancreatic cancer using a tethered cationic lipoplex nanoparticle biochip[J]. *Oncol Lett*, 2020, 19(3): 2062-2070.
- [23] Yoshizawa N, Sugimoto K, Tameda M, *et al.* miR-3940-5p/miR-8069 ratio in urine exosomes is a novel diagnostic biomarker for pancreatic ductal adenocarcinoma[J]. *Oncol Lett*, 2020, 19(4): 2677-2684.
- [24] Shao H, Zhang Y, Yan J, *et al.* Upregulated MicroRNA-483-3p is an Early Event in Pancreatic Ductal Adenocarcinoma (PDAC) and as a Powerful Liquid Biopsy Biomarker in PDAC[J]. *Oncotargets Ther*, 2021, 14: 2163-2175.
- [25] Wang C, Wang J, Cui W, *et al.* Serum Exosomal miRNA-1226 as Potential Biomarker of Pancreatic Ductal Adenocarcinoma[J]. *Oncotargets Ther*, 2021, 14: 1441-1451.
- [26] Long Y, Wang X, Youmans DT, *et al.* How do lncRNAs regulate transcription[J]. *Sci Adv*, 2017, 3(9): eaao2110.
- [27] Pandya G, Kirtonia A, Sethi G, *et al.* The implication of long non-coding RNAs in the diagnosis, pathogenesis and drug resistance of pancreatic ductal adenocarcinoma and their possible therapeutic potential[J]. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer*, 2020, 1874(2): 188423.
- [28] Sun Z, Yang S, Zhou Q, *et al.* Emerging role of exosome-derived long non-coding RNAs in tumor microenvironment[J]. *Mol Cancer*, 2018, 17(1): 82.
- [29] Takahashi K, Ota Y, Kogure T, *et al.* Circulating extracellular

- vesicle-encapsulated HULC is a potential biomarker for human pancreatic cancer[J]. *Cancer Sci*, 2020, 111(1): 98-111.
- [30] Kumar SR, Kimchi ET, Manjunath Y, *et al.* RNA cargos in extracellular vesicles derived from blood serum in pancreas associated conditions[J]. *Sci Rep*, 2020, 10(1): 2800.
- [31] Yu S, Li Y, Liao Z, *et al.* Plasma extracellular vesicle long RNA profiling identifies a diagnostic signature for the detection of pancreatic ductal adenocarcinoma[J]. *Gut*, 2020, 69(3): 540-550.
- [32] Wang Y, Liu J, Ma J, *et al.* Exosomal circRNAs: biogenesis, effect and application in human diseases[J]. *Mol Cancer*, 2019, 18(1): 116.
- [33] Li J, Li Z, Jiang P, *et al.* Circular RNA IARS (circ-IARS) secreted by pancreatic cancer cells and located within exosomes regulates endothelial monolayer permeability to promote tumor metastasis[J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2018, 37(1): 177.
- [34] Li Z, Yanfang W, Li J, *et al.* Tumor-released exosomal circular RNA PDE8A promotes invasive growth via the miR-338/MACCS1/MET pathway in pancreatic cancer[J]. *Cancer Lett*, 2018, 432: 237-250.
- [35] Bratkovič T, Božič J, Rogelj B. Functional diversity of small nucleolar RNAs[J]. *Nucleic Acids Res*, 2020, 48(4): 1627-1651.
- [36] Kitagawa T, Taniuchi K, Tsuboi M, *et al.* Circulating pancreatic cancer exosomal RNAs for detection of pancreatic cancer[J]. *Mol Oncol*, 2019, 13(2): 212-227.
- [37] Hu J, Sheng Y, Kwak KJ, *et al.* A signal-amplifiable biochip quantifies extracellular vesicle-associated RNAs for early cancer detection[J]. *Nat Commun*, 2017, 8(1): 1683.
- [38] Yang Z, LaRiviere MJ, Ko J, *et al.* A Multianalyte Panel Consisting of Extracellular Vesicle miRNAs and mRNAs, cfDNA, and CA19-9 Shows Utility for Diagnosis and Staging of Pancreatic Ductal Adenocarcinoma[J]. *Clin Cancer Res*, 2020, 26(13): 3248-3258.
- [39] Sharma A, Johnson A. Exosome DNA: Critical regulator of tumor immunity and a diagnostic biomarker[J]. *J Cell Physiol*, 2020, 235(3): 1921-1932.
- [40] Wang ZY, Wang RX, Ding XQ, *et al.* A Protocol for Cancer-Related Mutation Detection on Exosomal DNA in Clinical Application[J]. *Front Oncol*, 2020, 10: 558106.
- [41] Cancer Genome Atlas Research Network. Integrated Genomic Characterization of Pancreatic Ductal Adenocarcinoma[J]. *Cancer Cell*, 2017, 32(2): 185-203. e13.
- [42] Yang S, Che SP, Kurywchak P, *et al.* Detection of mutant KRAS and TP53 DNA in circulating exosomes from healthy individuals and patients with pancreatic cancer[J]. *Cancer Biol Ther*, 2017, 18(3): 158-165.
- [43] Allenson K, Castillo J, San Lucas FA, *et al.* High prevalence of mutant KRAS in circulating exosome-derived DNA from early-stage pancreatic cancer patients[J]. *Ann Oncol*, 2017, 28(4): 741-747.
- [44] Bernard V, Kim DU, San Lucas FA, *et al.* Circulating Nucleic Acids Are Associated With Outcomes of Patients With Pancreatic Cancer[J]. *Gastroenterology*, 2019, 156(1): 108-118.e4.
- [45] Castillo J, Bernard V, San Lucas FA, *et al.* Surfaceome profiling enables isolation of cancer-specific exosomal cargo in liquid biopsies from pancreatic cancer patients[J]. *Ann Oncol*, 2018, 29(1): 223-229.
- [46] Melo SA, Luecke LB, Kahlert C, *et al.* Glypican-1 identifies cancer exosomes and detects early pancreatic cancer[J]. *Nature*, 2015, 523(7559): 177-182.
- [47] Frampton AE, Prado MM, López-Jiménez E, *et al.* Glypican-1 is enriched in circulating-exosomes in pancreatic cancer and correlates with tumor burden[J]. *Oncotarget*, 2018, 9(27): 19006-19013.
- [48] Buscail E, Chauvet A, Quincy P, *et al.* CD63-GPC1-Positive Exosomes Coupled with CA19-9 Offer Good Diagnostic Potential for Resectable Pancreatic Ductal Adenocarcinoma[J]. *Transl Oncol*, 2019, 12(11): 1395-1403.
- [49] Sharma R, Huang X, Brekken RA, *et al.* Detection of phosphatidylserine-positive exosomes for the diagnosis of early-stage malignancies[J]. *Br J Cancer*, 2017, 117(4): 545-552.
- [50] Liang K, Liu F, Fan J, *et al.* Nanoplasmonic Quantification of Tumor-derived Extracellular Vesicles in Plasma Microsamples for Diagnosis and Treatment Monitoring[J]. *Nat Biomed Eng*, 2017, 1: 0021.
- [51] Wei Q, Zhang J, Li Z, *et al.* Serum Exo-EphA2 as a Potential Diagnostic Biomarker for Pancreatic Cancer[J]. *Pancreas*, 2020, 49(9): 1213-1219.
- [52] Jin H, Liu P, Wu Y, *et al.* Exosomal zinc transporter ZIP4 promotes cancer growth and is a novel diagnostic biomarker for pancreatic cancer[J]. *Cancer Sci*, 2018, 109(9): 2946-2956.
- [53] Kimura H, Yamamoto H, Harada T, *et al.* CKAP4, a DKK1 Receptor, Is a Biomarker in Exosomes Derived from Pancreatic Cancer and a Molecular Target for Therapy[J]. *Clin Cancer Res*, 2019, 25(6): 1936-1947.
- [54] Lux A, Kahlert C, Grützmann R, *et al.* c-Met and PD-L1 on Circulating Exosomes as Diagnostic and Prognostic Markers for Pancreatic Cancer[J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(13): 3305.
- [55] Yang J, Zhang Y, Gao X, *et al.* Plasma-Derived Exosomal ALIX as a Novel Biomarker for Diagnosis and Classification of Pancreatic Cancer[J]. *Front Oncol*, 2021, 11: 628346.
- [56] Skotland T, Hessvik NP, Sandvig K, *et al.* Exosomal lipid composition and the role of ether lipids and phosphoinositides in exosome biology[J]. *J Lipid Res*, 2019, 60(1): 9-18.
- [57] Tao L, Zhou J, Yuan C, *et al.* Metabolomics identifies serum and exosomes metabolite markers of pancreatic cancer[J]. *Metabolomics*, 2019, 15(6): 86.

[编辑: 周永红; 校对: 刘红武]

作者贡献:

郭马娣、赵娟: 检索文献及撰写论文

黄小义: 指导及修改论文