

微囊泡和微泡变化与头颈部癌的疗效关系

贾园静 综述;周水洪 审校

(浙江大学医学院附属第一医院 耳鼻咽喉科,浙江 杭州 310006)

关 键 词:微囊泡;微泡;头颈部癌;疗效
中图分类号:R739. 91 文献标识码:C 文章编号:1007 - 1520(2016)04 - 0336 - 05

1 微囊泡(exosomes)和微泡(microvesicles)

微囊泡(exosomes)和微泡(microvesicles)是由多种细胞产生的膜性小囊泡。这两类外囊泡能够影响血管形成和细胞外基质重组,参与建立适合转化和转移肿瘤细胞的微环境。在头颈部癌中,微囊泡和微泡存在于鼻咽癌相关的 Epstein-Barr 病毒(epstein-barr virus,EBV)中,并且与口腔鳞状细胞癌的生长发展正相关。头颈部癌衍生的囊泡成为了一个新的有效信息来源,丰富了肿瘤治疗手段,对抗癌进展的推动具有重要意义。

1.1 概述

外囊泡(extracellular vesicles ,EVs)是由多种类型细胞通过“非常规胞吐”的机制分泌到细胞外。在临床中,微囊泡和微泡以多种体液形式存在,如血浆^[1]、尿液^[2]、脑脊液^[3]、羊膜流体^[4]、支气管肺泡灌洗^[5]、滑膜液^[6]、恶性腹水^[7]、母乳^[8]和唾液^[9-10]。外囊泡被认为是细胞间通讯的重要介质,可作为信息载体携带细胞内的某些信息,比如 mRNA、micro-RNA、DNA、蛋白质和脂类等。此外,最近发现微囊泡参与了病毒 miRNA 的转移,可影响肿瘤微环境以及肿瘤的生长和传播^[11]。微囊泡携带 miRNA 可影响 IE 细胞内部的多种信号通路,从而诱导产生一系列的生物学功能改变,包括调节免疫反应,促进细胞间的信息交流和促进抗血管反应等。总之,微囊泡在 miRNA 的研究中占重要地位,并且对于微囊泡携带的 miRNAs 的作用不容忽视。最近,越来越多的学者开始关注外囊泡的研究,并描述和定义了许多不同类别的囊泡,包括微囊泡、脱落的微泡、ecto-

somes、微粒、病毒颗粒、病毒样颗粒以及 oncosomes,但每个类别的性能和作用机理仍不能完全明确。

外囊泡(直径 30 ~ 1 000 nm^[12])的分子含量已被广泛地研究分析,它包含了多种生物分子,如膜脂质、膜蛋白、细胞骨架蛋白和蛋白伴侣。在一般情况下,微泡成分已被发现是以受体和黏附分子的形式富集在亲本细胞的细胞表面蛋白^[12],而微囊泡包含着与内涵体起源以及 MVBs 形成有关的蛋白质。最近研究报道了肿瘤来源的微囊泡(tumor-derived vesicles, TDV)功能信号介质的存在,有力支持了微囊泡作为细胞内信号传导的重要介质的理论^[13-14]。可以预料的是,不断改进的基于质谱法的蛋白质组学,将进一步促进外囊泡在肿瘤研究中发挥作用。

微囊泡和微泡作为外囊泡的两个主要亚种,在形态、生物物理特性(如形状、大小和密度)以及生物合成^[15]方面有着不同之处。但在分子构成方面有相似之处,如:细胞骨架蛋白、膜脂质结构和外部的磷脂酰丝氨酸^[16-17]。

微囊泡大小均匀(直径 40 ~ 100 nm)^[18],杯形形态^[19]。在多种信号分子调节下,通过称作多囊泡胞内体的细胞区室向内出芽的方式形成。当 MVE 与细胞膜融合时,这些内囊泡就称作胞外体被释放到胞外,内囊泡含有一些蛋白质特性的物质,如与内涵体/溶酶体相关的 Alix^[20-21]和 TSG101^[22],他们参与了转运必需内吞体分选复合物系统。尽管微囊泡的蛋白组成与细胞组织来源不同,但是在很大程度上一些常见的基本蛋白组成是一致的,并且大多数微囊泡的蛋白来源于细胞。微囊泡能特异性地识别受体细胞并与其融合,然后将微囊泡内的物质运入细胞内,从而改变受体细胞的生物学功能。

微泡也被称为脱落囊泡、ectosomes 或微粒,尺寸大于微囊泡,直径为 100 ~ 1 000 nm。微泡由细胞膜向外起泡产生^[23],该过程涉及胞内钙离子浓度改

作者简介:贾园静,女,在读硕士研究生,主治医师。
通信作者:周水洪,Email:zhouyunchou@163.com

变和细胞骨架重构^[24]。微泡的形成与细胞表面受体活化有关,活化后胞内钙离子浓度增加。微泡的分子组成是动态的,依赖于细胞类型和细胞的激活状态^[25],这些囊泡好比是成分混杂的异构体,包含了细胞表面标志物和脂质,如磷脂酰丝氨酸、整合素、选择蛋白及 CD40 配体等,能够识别细胞的类型起源^[23]。尽管在生源和分子组成方面有差异,ectosomes 和微泡的定义界限仍然比较微妙:没有明显的证据能区分它们功能角色的不同之处,也没有既有的标记能够明确区分这两类囊泡。

由于缺乏明确的证据来区分微囊泡与微泡,因此两者的使用上经常有重叠之处,因此大多数研究没有严格区分两个类别,经常将微泡作为微囊泡与微泡的混合统称。由于微囊泡和微泡对肿瘤的特殊潜在影响以及在不同类型癌症发病和发展过程中扮演重要角色^[26-27],它们被证明在癌症标志物的发现识别方面是非常有前途的研究对象。

在过去的十年中,对人类肿瘤衍生囊泡(tumor-derived vesicles, TDVs)包括乳腺癌、肺癌、卵巢癌、前列腺癌、结肠癌及胃癌进行了广泛研究,尤其是对癌症诊断及表征指标方面的研究。胞外衍生囊泡含有大量与细胞膜构成及细胞内囊结构组成相似的蛋白和脂质成分。胞外衍生囊泡的组成反应了其来源细胞的类型,也有助于确定胞外衍生囊泡的产生途径,胞外衍生囊泡中的多种分子被运输到接收靶细胞并能够继续发挥自身作用,如 DNA 和 RNA 能够诱导接收细胞的表现遗传学改变。

1.2 分离方法

目前,人们可以通过多种方法从体液或细胞培养上清液中提取不同细胞来源的外囊泡^[28],最常见的程序是基于一系列的差速离心方法,首先去除细胞碎片和污染物,其次是通过高速离心步骤粒化高密度囊泡,其中微泡通常在 $10\,000 \times g$ 时得到,而微囊泡则将上清液采用超速离心法粒化,在 $100\,000 \times g$ 时得到^[29]。这些方法比较简单实用,因而被广泛采用。由于样品配制剂被其他不同尺寸的凋亡小泡、细胞碎片和大量的蛋白聚集等膜泡高度污染,因此通常在上述方法上结合额外的过滤步骤或利用密度梯度离心法进行分离^[30]。目前已有各种密度梯度的方法,可以使用线性或不连续梯度法(蔗糖^[31]、optiprep^[32]、Percoll^[33]),可以基于密度($1.12 \sim 1.20\text{ g/ml}$,在蔗糖溶液中^[34])从其他类型的囊泡或细胞成分中分离微囊泡。最近, System Biosciences(SBI)公司开发了一种名叫 TC exoquick 的沉

淀溶液,从血清、腹水液、尿液和细胞培养媒体分离人类的微囊泡^[30]。与其他方法(如磁珠和凝胶过滤层析法)相比较,该试剂能获得最高产量的 RNA 和蛋白质,不过该产品依旧是采用密度梯度超速离心来获得高质量的、完整的微囊泡。exoquick 沉淀液似乎在快速分离、增加微囊泡恢复方面比较有效,但是纯度和样品制备质量还有待确认。此外,exoquick TC 也沉淀样品中的大量其他蛋白而不能优先分离肿瘤来源的微囊泡。

最近随着新技术的使用,分离方法得到了改进,如:纳米薄膜过滤法^[35]、免疫磁珠抽提法^[32]。这些技术具有很好的前景,已被成功地应用到不同类型细胞中(抗原呈递细胞^[36]、乳腺癌细胞系^[37]、结肠癌细胞^[32])以及体液中(病源性腹水^[37]、血清^[38]),但是这些技术有没有被广泛采用,因为这些技术的应用程序需要对不同囊泡数量呈现的阳性蛋白标记物有一定的认知(目前对于大多数样本类型,这方面知识是比较缺乏的)。

囊泡分离后,有很多分析方法可被用于评估质量和样本含量(囊泡完整、大小、密度及已知阳性标记的表达等),有透射电子显微镜、流式细胞仪、Westernblot 分析^[39]和 LC-MS/MS^[10]。总的来说,分离方法的重现性已被证明是适用于细胞培养样品和生物流体的蛋白质生物学的研究。微囊泡与微泡已可以从广泛的临床标本(血浆、尿液、脑脊液、羊膜流体、支气管肺泡灌洗、滑液、腹水、母乳和唾液)被分离出来,主要通过蔗糖梯度的差速离心方式。

对于微囊泡提取的优化和规范,细胞培养上清液虽然是理想的模型,但为了从临床标本中获得高度纯化的囊泡量则要面临一些技术难题。体液有不同的属性,如复杂性、动态范围、黏度,并且它们也包含各种细胞类型(包括恶性细胞、正常细胞或免疫细胞)分泌范围广泛的微囊泡和微泡。

为了解决这些技术的局限性,提取技术需要进一步优化,例如,消耗性去除尿液或血清样品的清蛋白方法或者稀释标本(如血浆和腹水)的方法。尿液是最被广泛研究的生物制剂,因为它可以被无创地收集,过程相对容易^[40];根据这些特点,唾液微囊泡的分离技术可变得相对灵活^[41]。

2 微囊泡和微泡与头颈部癌

2.1 头颈部癌

头颈部癌是全球第五大最常见的癌症,每年大

约有 650 000 例^[42]。超过 50% 的头颈部癌患者表现为局部晚期,总生存率在过去几十年并未得到改进。头颈部癌研究的挑战之一在于这个疾病所涉及的众多解剖部位,包括鼻腔、鼻窦、口腔、鼻咽、口咽、喉咽部及喉部。口腔鳞状细胞癌和口咽癌是两种最常见的头颈部癌。口腔鳞癌与环境以及生活方式密切相关,如吸烟和饮酒。病毒感染是头颈部癌中至少两种特定类型和鼻咽癌的主要病因。

人类乳头状瘤病毒 (HPV) 被证实为癌症的一个风险因子,与最近诊断的大部分特定类型案例有关^[43]。然而,迄今为止,还没有对 HPV 相关癌症进行微囊泡方面的研究。越来越多的证据表明微囊泡在病毒感染和细胞间通讯起到重要作用,所以很有必要展开在 HPV 相关癌症中的微囊泡成分分析研究。

与此相反,许多研究已经报道了来自病毒相关鼻咽癌的微囊泡。鼻咽癌是一种独特的头部/颈部上皮恶性肿瘤,其特征是:患者往往是相对年轻患者(平均年龄约 50 岁)以及和特定地理区域有关,如东南亚,那里的年发病率高达 1/4 000^[44]。几乎所有鼻咽癌病例都与 Epstein-Barr 病毒有关^[45-46]。EB 病毒是一个 γ -疱疹病毒,它是一组大包膜病毒,具有长直链的双链 DNA 基因组。这些病毒分为 α -、 β -、或 γ -疱疹病毒亚科,可以终身潜伏感染^[47]。在大多数情况下,EB 病毒感染是无症状的,但病毒偶尔引起传染性单核细胞增多,并与人类恶性肿瘤如鼻咽癌、伯基特淋巴瘤、NK/T 细胞淋巴瘤和胃癌相关联^[48]。鼻咽癌中的 EB 病毒以 II 型潜伏期形式存在。

2.2 头颈部癌的微囊泡和微泡

关于源自 EBV 阳性鼻咽癌的微囊泡成分的报道比较多,但目前为止关于微泡在头颈部癌中的生物活性和分子功能的研究很少^[49-50]。已有报道称微泡存在于头颈部癌患者的血清中^[49-50]。尽管这些囊泡的起源仍有争议,但是 TDVs 存在于体液中以及包含亲本癌细胞所表达的肿瘤特异性抗原的假设已经被不少文献所支持^[51]。在微囊泡检测的肿瘤特异性抗原群体中,可溶性 FasL 及其受体 Fas (肿瘤坏死因子家族中的两个成员)被认为和多种人类恶性肿瘤(包括胃^[52]、前列腺^[53]、成胶质细胞瘤^[54]和口腔鳞状细胞癌^[55])的肿瘤发展以及凋亡抗性相关,换言之,可通过调节细胞凋亡以及免疫监视和头颈部癌的发展产生关联性。

FasL-阳性 (FasL +) 的微泡最近已经被 Kim

等^[49]在口腔鳞状细胞癌患者的血清中检测到。该研究将微泡生物活性和头颈部癌患者的肿瘤发展联系在一起,表明致癌物的存在对肿瘤的逃逸机制具有促进作用。FasL + 微泡庇护了免疫抑制以及活性免疫细胞的凋亡效应,这预示着其在口腔鳞状细胞癌中具有预后价值。

为了更好地定义头颈部癌微泡的分子分布和加深与头颈部癌发展的相关性,将微泡的功能活性和熟知的肿瘤生长标记物(如疾病活动度、淋巴结参与及肿瘤阶段)进行连接分析。有研究结果指出头颈部癌衍生的微泡能够在 CD8⁺ 效应细胞中诱导细胞凋亡,从头部和颈部鳞状细胞癌 (HNSCC) 血清获得的微泡,在 CD8⁺ Jurkat 细胞中将诱导产生高水平的泛-半胱天冬酶活性体,如果从晚期肿瘤提取微泡,相比早期肿瘤情况,这种效应将被进一步增强^[50]。

2.2.1 鼻咽癌 微囊泡被视为一种新的机制,癌细胞和病毒感染的细胞通过微囊泡来调节其微环境^[56]。此外,病毒还可以利用微囊泡传播感染以及免疫逃逸。遗传物质,包括病毒 DNA、小分子 RNA、微囊泡以及细胞因子已在鼻咽癌患者的外周血中检测到^[57-58]。微囊泡和鼻咽癌的联系,首次被证实存在于源自鼻咽癌患者唾液、血清和血浆肿瘤的微囊泡中^[59]。进一步的研究表明,潜伏 EBV 病毒感染鼻咽癌细胞释放的微囊泡含有 LMP1、信号转导分子以及 EBV 编码的 micro-RNAs^[59]。

2.2.2 喉癌 微囊泡在喉癌中的研究少见报道。Wang 等^[60]从 52 例喉鳞状细胞癌患者血清标本分离微囊泡中发现,CD63 是其特异性的标记蛋白。在纯化的微囊泡中也发现 miR-21 和 HOTAIR 标记,并发现这两个标记与喉癌的临床分期、淋巴结转移有关。

3 展望

微囊泡和微泡与头颈部癌的关系研究处于初始阶段,一些重要的标记尚处于探索之中,随着研究的进一步深入,微囊泡、微泡源性标记物与头颈部癌的生物行为之间的关系也逐渐被揭示,并有助于头颈部特异性靶向药物的研究。

参考文献:

[1] Grant R, Ansa-Addo E, Stratton D, et al. A filtration-based pro-

- toloc to isolate human plasma membrane-derived vesicles and exosomes from blood plasma[J]. *J Immunol Methods*, 2011, 371(1-2): 143-151.
- [2] Pisitkun T, Shen RF, Knepper MA. Identification and proteomic profiling of exosomes in human urine[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2004, 101(36): 13368-13373.
 - [3] Street JM, Barran PE, Mackay CL, et al. Identification and proteomic profiling of exosomes in human cerebrospinal fluid[J]. *J Transl Med*, 2012, 10: 5.
 - [4] Keller S, Rupp C, Stoeck A, et al. CD24 is a marker of exosomes secreted into urine and amniotic fluid[J]. *Kidney Int*, 2007, 72(9): 1095-10102.
 - [5] Prado N, Marazuela EG, Segura E, et al. Exosomes from bronchoalveolar fluid of tolerized mice prevent allergic reaction[J]. *J Immunol*, 2008, 181(2): 1519-1525.
 - [6] Skriner K, Adolph K, Jungblut PR, et al. Association of citrullinated proteins with synovial exosomes[J]. *Arthritis Rheum*, 2006, 54(12): 3809-3814.
 - [7] Runz S, Keller S, Rupp C, et al. Malignant ascites-derived exosomes of ovarian carcinoma patients contain CD24 and EpCAM[J]. *Gynecol Oncol*, 2007 Dec, 107(3): 563-71.
 - [8] Admyre C, Johansson SM, Qazi KR, et al. Exosomes with immune modulatory features are present in human breast milk[J]. *J Immunol*, 2007, 179(3): 1969-1978.
 - [9] Ogawa Y, Kanai-Azuma M, Akimoto Y, et al. Exosome-like vesicles with dipeptidyl peptidase IV in human saliva[J]. *Biol Pharm Bull*, 2008, 31(6): 1059-1062.
 - [10] Gonzalez-Begne M, Lu B, Han X, et al. Proteomic analysis of human parotid gland exosomes by multidimensional protein identification technology (MudPIT)[J]. *J Proteome Res*, 2009, 8(3): 1304-1314.
 - [11] Meckes DG Jr, Shair KH, Marquitz AR, et al. Human tumor virus utilizes exosomes for intercellular communication[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2010, 107(47): 20370-20375.
 - [12] Pap E, Pállinger E, Falus A. The role of membrane vesicles in tumorigenesis[J]. *Crit Rev Oncol Hematol*, 2011, 79(3): 213-223.
 - [13] Luga V, Zhang L, Vitoria-Petit AM, et al. Exosomes mediate stromal mobilization of autocrine Wnt-PCP signaling in breast cancer cell migration[J]. *Cell*, 2012, 151(7): 1542-1556.
 - [14] Putz U, Howitt J, Doan A, et al. The tumor suppressor PTEN is exported in exosomes and has phosphatase activity in recipient cells[J]. *Sci Signal*, 2012, 5(243): ra70.
 - [15] György B, Szabó TG, Pásztói M, et al. Membrane vesicles, current state-of-the-art: emerging role of extracellular vesicles[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2011, 68(16): 2667-2688.
 - [16] György B, Módos K, Pállinger E, et al. Detection and isolation of cell-derived microparticles are compromised by protein complexes resulting from shared biophysical parameters[J]. *Blood*, 2011, 117(4): e39-48.
 - [17] Cocucci E, Racchetti G, Meldolesi J. Shedding microvesicles: artefacts no more[J]. *Trends Cell Biol*, 2009, 19(2): 43-51.
 - [18] Théry C, Zitvogel L, Amigorena S. Exosomes: composition, biogenesis and function[J]. *Nat Rev Immunol*, 2002, 2(8): 569-579.
 - [19] Kesimer M, Scull M, Brighton B, et al. Characterization of exosome-like vesicles released from human tracheobronchial ciliated epithelium: a possible role in innate defense[J]. *FASEB J*, 2009, 23(6): 1858-1868.
 - [20] Hurley JH, Odorizzi G. Get on the exosome bus with ALIX[J]. *Nat Cell Biol*, 2012, 14(7): 654-655.
 - [21] Baietti MF, Zhang Z, Mortier E, et al. Syndecan-syntenin-ALIX regulates the biogenesis of exosomes[J]. *Nat Cell Biol*, 2012, 14(7): 677-685.
 - [22] Nabhan JF, Hu R, Oh RS, et al. Formation and release of arrestin domain-containing protein 1-mediated microvesicles (ARMMs) at plasma membrane by recruitment of TSG101 protein[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2012, 109(11): 4146-4151.
 - [23] Théry C, Ostrowski M, Segura E. Membrane vesicles as conveyors of immune responses[J]. *Nat Rev Immunol*, 2009, 9(8): 581-593.
 - [24] Schara K, Jansa V, Sustar V, et al. Mechanisms for the formation of membranous nanostructures in cell-to-cell communication[J]. *Cell Mol Biol Lett*, 2009, 14(4): 636-656.
 - [25] Pilzer D, Gasser O, Moskovich O, et al. Emission of membrane vesicles: roles in complement resistance, immunity and cancer[J]. *Springer Semin Immunopathol*, 2005, 27(3): 375-387.
 - [26] Muralidharan-Chari V, Clancy JW, Sedgwick A, et al. Microvesicles: mediators of extracellular communication during cancer progression[J]. *J Cell Sci*, 2010, 123(Pt 10): 1603-1611.
 - [27] D'Asti E, Garnier D, Lee TH, et al. Oncogenic extracellular vesicles in brain tumor progression[J]. *Front Physiol*, 2012, 3: 294.
 - [28] 赵明芳,曲晶磊,曲秀娟,等. 胃癌细胞来源的 exosome 的提取和鉴定[J]. *中国医科大学学报*, 2008, 37(4): 500-502.
 - [29] Théry C, Amigorena S, Raposo G, et al. Isolation and characterization of exosomes from cell culture supernatants and biological fluids[J]. *Curr Protoc Cell Biol*, 2006, 3(3): 22.
 - [30] Taylor DD, Zacharias W, Gercel-Taylor C. Exosome isolation for proteomic analyses and RNA profiling[J]. *Methods Mol Biol*, 2011, 728: 235-246.
 - [31] Welton JL, Khanna S, Giles PJ, et al. Proteomics analysis of bladder cancer exosomes[J]. *Mol Cell Proteomics*, 2010, 9(6): 1324-1338.
 - [32] Mathivanan S, Lim JW, Tauro BJ, et al. Proteomics analysis of A33 immunoaffinity-purified exosomes released from the human colon tumor cell line LIM1215 reveals a tissue-specific protein signature[J]. *Mol Cell Proteomics*, 2010, 9(2): 197-208.
 - [33] Miranda KC, Bond DT, McKee M, et al. Nucleic acids within urinary exosomes/microvesicles are potential biomarkers for renal disease[J]. *Kidney Int*, 2010, 78(2): 191-199.
 - [34] Vlassov AV, Magdaleno S, Setterquist R, et al. Exosomes: current knowledge of their composition, biological functions, and diagnostic and therapeutic potentials[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2012, 1820(7): 940-948.

- [35] Cheruvanky A, Zhou H, Pisitkun T, et al. Rapid isolation of urinary exosomal biomarkers using a nanomembrane ultrafiltration concentrator[J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2007,292(5): F1657 – 1661.
- [36] Tauro BJ, Greening DW, Mathias RA, et al. Comparison of ultracentrifugation, density gradient separation, and immunoaffinity capture methods for isolating human colon cancer cell line LIM1863-derived exosomes[J]. *Methods*, 2012,56(2):293 – 304.
- [37] Koga K, Matsumoto K, Akiyoshi T, et al. Purification, characterization and biological significance of tumor-derived exosomes[J]. *Anticancer Res*, 2005,25(6A):3703 – 3707.
- [38] Taylor DD, Gercel-Taylor C. MicroRNA signatures of tumor-derived exosomes as diagnostic biomarkers of ovarian cancer[J]. *Gynecol Oncol*, 2008,110(1):13 – 21.
- [39] Bobrie A, Colombo M, Raposo G, et al. Exosome secretion: molecular mechanisms and roles in immune responses[J]. *Traffic*, 2011,12(12):1659 – 1668.
- [40] Zhou H, Cheruvanky A, Hu X, et al. Urinary exosomal transcription factors, a new class of biomarkers for renal disease[J]. *Kidney Int*, 2008,74(5):613 – 621.
- [41] Michael A, Bajracharya SD, Yuen PS, et al. Exosomes from human saliva as a source of microRNA biomarkers[J]. *Oral Dis*, 2010,16(1):34 – 38.
- [42] Jemal A, Siegel R, Ward E, et al. Cancer statistics, 2009[J]. *CA Cancer J Clin*, 2009,59(4):225 – 249.
- [43] Marur S, D'Souza G, Westra WH, et al. HPV-associated head and neck cancer: a virus-related cancer epidemic[J]. *Lancet Oncol*, 2010,11(8):781 – 789.
- [44] Yu MC, Yuan JM. Epidemiology of nasopharyngeal carcinoma[J]. *Semin Cancer Biol*, 2002,12(6):421 – 429.
- [45] Raab-Traub N. Epstein-Barr virus and nasopharyngeal carcinoma[J]. *Semin Cancer Biol*, 1992,3(5):297 – 307.
- [46] Raab-Traub N. Epstein-Barr virus in the pathogenesis of NPC[J]. *Semin Cancer Biol*, 2002,12(6):431 – 441.
- [47] Davison AJ, Eberle R, Ehlers B, et al. The order Herpesvirales[J]. *Arch Virol*, 2009,154(1):171 – 177.
- [48] Delecluse HJ, Feederle R, O'Sullivan B, et al. Epstein Barr virus-associated tumours: an update for the attention of the working pathologist[J]. *J Clin Pathol*, 2007,60(12):1358 – 1364.
- [49] Kim JW, Wieckowski E, Taylor DD, et al. Fas ligand-positive membranous vesicles isolated from sera of patients with oral cancer induce apoptosis of activated T lymphocytes[J]. *Clin Cancer Res*, 2005,11(3):1010 – 1020.
- [50] Bergmann C, Strauss L, Wieckowski E, et al. Tumor-derived microvesicles in sera of patients with head and neck cancer and their role in tumor progression[J]. *Head Neck*, 2009,31(3):371 – 380.
- [51] Yang C, Robbins PD. The roles of tumor-derived exosomes in cancer pathogenesis[J]. *Clin Dev Immunol*, 2011,2011:842849.
- [52] Zheng SY, Li DC, Zhang ZD, et al. Adenovirus-mediated FasL gene transfer into human gastric carcinoma[J]. *World J Gastroenterol*, 2005,11(22):3446 – 3450.
- [53] Li X, Liu YH, Zhang YP, et al. Fas ligand delivery by a prostate-restricted replicative adenovirus enhances safety and antitumor efficacy[J]. *Clin Cancer Res*, 2007,13(18 Pt 1):5463 – 5473.
- [54] Ambar BB, Frei K, Malipiero U, et al. Treatment of experimental glioma by administration of adenoviral vectors expressing Fas ligand[J]. *Hum Gene Ther*, 1999,10(10):1641 – 1648.
- [55] Das SN, Khare P, Singh MK, et al. Fas receptor (CD95) & Fas ligand (CD178) expression in patients with tobacco-related intraoral squamous cell carcinoma[J]. *Indian J Med Res*, 2011,134(1):54 – 60.
- [56] 郭芳,范华骅,常春康. 外泌体及其抗肿瘤作用机制[J]. *生命的化学*, 2007,27(1):72 – 75.
- [57] Klibi J, Niki T, Riedel A, et al. Blood diffusion and Th1-suppressive effects of galectin-9-containing exosomes released by Epstein – Barr virus – infected nasopharyngeal carcinoma cells[J]. *Blood*, 2009,113(9):1957 – 1966.
- [58] Gourzones C, Barjon C, Busson P. Host-tumor interactions in nasopharyngeal carcinomas[J]. *Semin Cancer Biol*, 2012,22(2):127 – 136.
- [59] Houali K, Wang X, Shimizu Y, et al. A new diagnostic marker for secreted Epstein-Barr virus encoded LMP1 and BARF1 oncoproteins in the serum and saliva of patients with nasopharyngeal carcinoma[J]. *Clin Cancer Res*, 2007,13(17):4993 – 5000.
- [60] Wang J, Zhou Y, Lu J, et al. Combined detection of serum exosomal miR-21 and HOTAIR as diagnostic and prognostic biomarkers for laryngeal squamous cell carcinoma[J]. *Med Oncol*, 2014,31(9):148.

(收稿日期:2016 – 05 – 26)