

## 外泌体在胆管细胞癌中的研究进展

慈鸿飞 贾户亮<sup>△</sup>

(复旦大学附属华山医院普外科 上海 200040)

**【摘要】** 胆管细胞癌(cholangiocarcinoma, CCA)是一种恶性程度较高,可发生于胆管树任何位置的实体肿瘤。CCA由于症状不明显且进展迅速,往往发现时已处于进展阶段,即使及时手术,5年存活率也小于10%。因此寻找CCA特异的生物标记物,早期筛查出CCA可疑人群十分必要。外泌体属于细胞外囊泡的一种亚型,能够被细胞分泌出来,广泛分布于体液之中。由于外泌体包含有分泌细胞的某些特异物质,近年来作为潜在的生物标记物在肿瘤的发生和转移领域被广泛关注。本文总结了外泌体在CCA中的研究进展,分析目前研究存在的问题,以期为进一步研究提供帮助。

**【关键词】** 胆管细胞癌(CCA); 外泌体; 细胞外囊泡

**【中图分类号】** R735.8 **【文献标志码】** B **doi:**10.3969/j.issn.1672-8467.2022.06.022

## Research progress of exosomes in cholangiocarcinoma

CI Hong-fei, JIA Hu-liang<sup>△</sup>

(Department of General Surgery, Huashan Hospital, Fudan University, Shanghai 200040, China)

**【Abstract】** Cholangiocarcinoma (CCA) is a highly malignant solid tumor that can occur in any part of the biliary tract. Because of its unobvious symptoms and rapid progress, CCA is usually diagnosed at the advanced stage. Even if resection is performed in time, the overall five-year survival rate of patients is less than 10%. Therefore, finding specific biomarkers and early screening of CCA susceptible people are the current top priorities. Exosome is a subtype of extracellular vesicles that can be secreted by cells and transferred widely in body fluids. Because exosomes contain some specific cargos secreted by cells, they have been widely used in the field of tumorigenesis and metastasis as the biomarker in recent years. Concerned, this article sums up the recent progress of exosomes in CCA, discusses the existing problems about current research in order to provide help for follow-up research.

**【Key words】** cholangiocarcinoma (CCA); exosomes; extracellular vesicles

\* This work was supported by the General Program of National Natural Science Foundation of China (81872356).

胆管细胞癌(cholangiocarcinoma, CCA)于1840年首次被报道,然而当时这一疾病并没有受到人们的重视,直到100年后才有系统的综述介绍CCA<sup>[1-2]</sup>。CCA可以起源于胆道的任何位置,临床上多数按解剖学位置将其分为肝内胆管癌(intrahepatic cholangiocarcinoma, iCCA)、肝门部胆管癌(perihilar cholangiocarcinoma, pCCA)和远端胆

管癌(distal cholangiocarcinoma, dCCA),60%的CCA都发生在肝胆管分叉处<sup>[3]</sup>。大多数CCA患者早期无明显症状,有些患者直到晚期发生了胆道梗阻才来就诊,目前常规超声筛查难以发现早期的小病灶,确诊时间较晚也是导致CCA总体5年生存率小于10%的原因之一。因此,寻找特异的生物学标志物,早期筛查出CCA已成为目前临床关注的

国家自然科学基金面上项目(81872356)

<sup>△</sup>Corresponding author E-mail: jbl-1@163.com

网络首发时间:2022-03-08 12:53:35 网络首发地址:https://kns.cnki.net/kcms/detail/31.1885.R.20220304.1749.010.html

重点<sup>[4]</sup>。

外泌体是由内涵体分泌产生的直径在30~150 nm的胞外囊泡(extracellular vesicle, EV),根据大小、功能、运输方式等不同,胞外囊泡还包括微泡(microvesicles)、凋亡小体(apoptosis bodies)等<sup>[5]</sup>。细胞分泌外泌体这一现象最早是在1983年由Johnstone等<sup>[6]</sup>在培养绵羊网织红细胞时发现,但是当时认为其只是细胞处理代谢废物的一种途径,在1987年的后续研究<sup>[7]</sup>中将这种特殊的囊泡命名为外泌体。目前已知外泌体参与的生理过程有器官发育、抗原呈递和免疫反应、神经元通信及控制和细胞增殖等过程<sup>[8]</sup>。由于外泌体不但能够在体液中稳定广泛存在,而且能够携带有细胞的特异分子,这就为探究外泌体相关肿瘤标记物、载药治疗技术提供了可能。

随着分子生物学技术的进步,不同外泌体携带的组分逐渐被鉴定出来。尽管外泌体的来源细胞特性高度影响外泌体成分的表达,但一些蛋白诸如四次跨膜蛋白(CD9、CD26、CD58)、Rab蛋白家族、热休克蛋白家族(Hsp70、Hsp90)、核内体相关蛋白(Alix、TSG101)等都是常见的共同表达成分<sup>[9]</sup>。外泌体中的核酸分子无论是DNA还是编码的mRNA和非编码RNA(miRNA、lncRNA、circRNA)都没有缺席,这丰富了外泌体对于靶细胞表达调控的机制。此外,外泌体的膜上还能检测到多种丰富的脂质,如磷脂酰丝氨酸和胆固醇<sup>[10]</sup>。

#### 外泌体中的核酸分子在CCA中的作用

**环状RNA** 环状RNA(circular RNA, circRNA)是非编码长链RNA的一种,共价闭环的结构是它的特征,由于没有极性和polyA尾部结构,具有相对无干扰的结构框架;并且circRNA在真核转录组中表达具有高度特异性,这使得circRNA在一些疾病中扮演分子标志物的角色<sup>[11-12]</sup>。

研究发现,circ-0000284在胆管癌细胞系分泌的外泌体中表达增多,并具有明显的促进迁移、侵袭的能力<sup>[13]</sup>。该团队也发现circ-0000284能够作为miRNA海绵与miR-637结合抑制其作用,同时在结肠癌中发现其与miR-7也有类似机制<sup>[14]</sup>。有研究发现circ-0000284在肝癌细胞中显著上调,促进肿瘤细胞增殖;而另有研究发现该分子也可以抑制膀胱癌的生长和转移<sup>[15-16]</sup>。circ-0000284究竟是致癌还是抑癌分子还需要更深入的研究。

circ-CCAC1是新发现的在CCA组织和胆汁外泌体中都过表达的circRNA,发挥功能时circ-CCAC1主要通过海绵作用结合miR-514a-5p上调阴阳蛋白1(Yin-Yang 1, yy1)表达,进一步激活钙调亲环蛋白配体(calcium signal-modulating cyclophilin ligand, CAMLG)来促进CCA进展,这也是首次证明circ-CCAC1/miR-514a-5p/yy1/CAMLG轴在CCA中的重要性,而且CCA分泌的携带circ-CCAC1的外泌体还有促进血管内皮细胞生成的作用,因此CCA组织和胆汁的外泌体中都上调的circ-CCAC1被认为可能是一种CCA潜在标记物<sup>[17-18]</sup>。

在CCA患者中高表达的circDNM3OS与肿瘤的大小、TNM分期和淋巴结浸润有关,这一现象是circDNM3OS通过海绵作用于miR-145-5p后上调致癌基因MORC2,促进了CCA细胞的恶性转化和谷氨酰胺代谢<sup>[19-20]</sup>。不过该分子在外泌体中的表达情况还未有实验验证。

**miRNA** miRNA(microRNA)因为具有靶向mRNA的能力而在转录后调控中扮演重要角色,并参与各种生理、病理过程<sup>[21]</sup>。研究发现血浆或胆汁中都存在核糖核酸酶(ribonuclease, RNase),并且外源性miRNA会被降解以维持机体稳态,内源性miRNA能够稳定发挥作用的机制目前尚未完全确定,但外泌体作为miRNA的主要载体保护其不被分解已经得到验证<sup>[22-24]</sup>。外泌体miRNA的功能中,与CCA相关的研究主要是作为生物标记物的功能<sup>[25]</sup>。

有研究比较CCA细胞系来源的外泌体中miRNA与胆管上皮细胞的差异,在CCA中miR-205-5p上调最明显,miR-199a-5p下调最明显,通过京都基因和基因组百科全书(kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG)富集分析发现这些差异miRNA与癌症相关的途径有显著的关联<sup>[26]</sup>。随后在CCA患者血清中检测外泌体来源miRNA,筛选出5个有显著差异的miRNA分子,其中MiR-200家族中有4个microRNA(miR-141-3p、miR-200a-3p、miR-200b-3p和miR-200c-3p)的AUC高于CA19-9(0.78),miR-200a/c-3p不仅是诊断CCA的生物标志物,且浓度与CCA分期成正相关,这使其成为反映疾病进展的指标<sup>[27]</sup>。

治疗方面,在CCA及其基质中下调的外泌体中

的 miR-195 能够抑制 CCA 的生长和侵袭能力, CCA 小鼠模型中注入包裹 miR-195 的外泌体后也观察到同样的现象, 但是具体机制还不清楚<sup>[28]</sup>。有关 miRNA 的实验室研究较多, 而临床试验相对较少, 因此还需要更多的临床数据验证实验室结果<sup>[29]</sup>。

**mRNA** 早在 2007 年研究者就观察到, 将鼠源的外泌体与人肥大细胞体外共培养后, 肥大细胞表达鼠源特异性蛋白, 便推测外泌体中 mRNA 有能够到靶细胞翻译的功能。目前基于外泌体携带功能性 mRNA 的核酸疗法备受关注, 通过外泌体的载体特性可能更好地解决 mRNA 无法有效递送至目标组织或细胞的问题<sup>[30-31]</sup>。

Haga 等<sup>[32]</sup>将 CCA 细胞系提取出来的外泌体与骨髓间充质干细胞共培养后, 增强了间充质干细胞的迁移能力和  $\alpha$ -平滑肌肌动蛋白 mRNA 的表达, 以及 CXCL-1、CCL2 和 IL-6 mRNA 的表达和释放, 通过将外泌体与胆管癌细胞中 mRNA 比较, 发现外泌体中相关 mRNA 显著上调, 因此推测是 CCA 外泌体携带的 mRNA 释放到间充质细胞中发挥了作用<sup>[32]</sup>。随着分子生物学技术的进步, 有多篇文献报道了运用多组学技术检测 CCA 患者血清及尿液分子中可用作标记物的 mRNA, 但筛选出多个特异分子而未进行深入临床及分子机制研究, 距离用于临床实际问题还有较远距离<sup>[33]</sup>。

**外泌体中的蛋白质分子在 CCA 中的研究** 外泌体所携带的蛋白质一般分成非特异性和特异性两大类: 非特异性蛋白包括细胞骨架蛋白、与转运有关的四跨膜蛋白家族成员 (CD9、CD63、CD81 和 CD82)、热休克蛋白、整合素等, 在研究中主要作为外泌体鉴定的标志物; 特异性蛋白主要与分泌细胞有关, 随着疾病的进展, 含量和定位会有明显变化<sup>[34-35]</sup>。目前外泌体相关文献中, 对于蛋白质的研究只占了小部分, 但是随着蛋白质组学技术的发展, 对于蛋白质在外泌体功能方面的关注越来越多, 外泌体蛋白质的研究不仅能增加对其生物学作用机制的认识, 还可能发现新的生物标志物<sup>[36]</sup>。当前对于 CCA 相关外泌体中蛋白质的鉴定方法以蛋白质质谱为主, 而外泌体来源有多种方式, 包括患者血浆提取、体外培养的 CCA 细胞上清液提取、动物原位 CCA 模型的血浆提取以及直接从人 CCA 组织提取, 由于外泌体来源和质谱的参数不同, 得到的差异蛋白的种类和数量也不同<sup>[37-39]</sup>。

有研究对比了 CCA 患者与健康人血清中外泌体蛋白质谱, 试图找出具有诊断意义的差异蛋白, 在其中 AUC 值与敏感性最高的是氨肽酶 N (aminopeptidase N, APN), APN 用于筛查 CCA 的敏感性超过常用指标 CA199, 但特异性略低<sup>[38]</sup>。APN 是一种可以裂解蛋白质 N 端氨基酸的锌酶, 属于 M1 锌金属肽酶家族成员, 在多种肿瘤及其周围血管组织都有发现<sup>[40]</sup>。APN 关注焦点是作为检测肝细胞肝癌干细胞的标记物, 而 CCA 中癌症干细胞的比例远高于大多数实体瘤, 因此推测血清中外泌体 APN 的升高与 CCA 的进展存在关联, 其中具体机制还需要进一步的探索<sup>[41-42]</sup>。

除了血清, 胆汁也是重要的胆管癌外泌体来源之一。最近有研究使用组学分析比较了 CCA 患者和胆结石患者胆汁中外泌体携带的蛋白质, 发现 Claudin-3 具有作为 CCA 生物标记物的潜力, 因为其表达升高显著, 敏感性和差异性都高达 0.875<sup>[39]</sup>。Claudin-3 具有不依赖钙离子的细胞黏附活性, 在紧密连接细胞、消除细胞间隙、细胞旁运输以及细胞增殖迁移中起重要作用, 在结肠癌中 Claudin-3 的表达上调会破坏紧密连接的稳定性, 导致大分子的细胞旁通量增加, 促使细胞迁移和集落形成的诱导, 不过这一现象还未在 CCA 中得到验证<sup>[43-44]</sup>。

通过对 CCA 细胞系与正常人胆管上皮细胞系 H69 培养后分离出的外泌体蛋白质质谱组学分析, 筛选出 38 种差异表达蛋白, 差异最大的是半乳糖凝集素 3 结合蛋白 (lectin galactoside binding soluble 3 binding protein, LG3BP), 也被称为 MAC2BP、M2BP<sup>[37]</sup>。将 CCA 细胞分离出的外泌体与 H69 细胞系共培养, 发现 CCA 细胞系的外泌体增强了 H69 细胞的转移和侵袭能力, 而对其增殖能力影响不大, 但该研究样本数量较少, 有待进一步验证。LG3BP 为一种分泌蛋白, 广泛存在于细胞外基质中, 在正常人的肝组织中表达量较低, 参与调节 Wnt 蛋白的胞外扩散, 提示其在肿瘤的免疫逃逸中有重要作用<sup>[45]</sup>。研究发现, LG3BP 在高复发风险的子宫内膜癌患者血清外泌体中富集, 在人类大肠癌和前列腺癌的细胞外基质中表达升高<sup>[46-47]</sup>。LG3BP 曾经被认为是一种用于诊断非酒精性肝硬化及丙型肝炎等慢性肝病的标志物, 然而最近有研究对其诊断效能产生了质疑, 借助外泌体来提高 LG3BP 的诊断效能可能成为一个新的突破点<sup>[48-49]</sup>。

成纤维细胞生长因子(fibroblast growth factor, FGF)及其下游的信号通路参与调节多种生物学功能,包括细胞增殖、分化、组织修复、血管生成等,成纤维细胞生长因子受体(fibroblast growth factor receptor, FGFR)轴的异常激活是肿瘤发生的重要因素<sup>[50]</sup>。最近的研究发现,iCCA中几种不同的FGFR2基因有较高的概率发生融合,但是pCCA/dCCA中几乎没有融合,这提示发生在不同位置的CCA可能在起源上存在差异<sup>[51-52]</sup>。FGFR2融合蛋白通过激活丝裂原活化蛋白激酶来激活FGFR相关通路,并促进非锚位生长;存在FGFR异位的肿瘤中FGFR的结合配体介导低聚化和相应的FGFR激酶的激活,这些基因融合现象的发现为靶向治疗提供帮助,首个针对膀胱癌FGFR突变位点的靶向药物厄达替尼在2019年4月被FDA批准上市<sup>[53-54]</sup>。FGF2被骨髓基质细胞分泌到外泌体中,携带FGF2的外泌体被白血病细胞摄取后能够逃脱化疗药物的攻击,但关于CCA进展中是否存在外泌体相关FGF家族的现象还需要进一步研究<sup>[55]</sup>。

胞质异戊柠檬酸脱氢酶1(isocitrate dehydrogenase [NADP] cytoplasmic, IDH1)是一种能催化异柠檬酸还原型NADP生成 $\alpha$ 酮戊二酸的酶,IDH1基因突变现象在多种肿瘤中都有发现,IDH1突变通过抑制其正常催化的反应来起到负性调节作用<sup>[56]</sup>。研究发现IDH1突变的胆管癌细胞系中外泌体分泌量明显减少,通过通路分析推测可能是一种ATP受体P2RX7高表达导致的,与P2RX7共表达的基因多与外泌体的释放和定位相关,该发现是IDH1突变的CCA在外泌体研究中的首次尝试<sup>[57]</sup>。

**结语** CCA作为肝胆系统第二高发的癌症,近年来发病率和死亡率都有上升的趋势,临床工作中应对该疾病有足够的重视,当务之急是开发出高效的早期诊断手段。外泌体是近年来新发现的细胞间信息交流信使,分布广泛且稳定性好,拥有疾病诊断和靶向治疗的潜能是外泌体目前广受关注的重要原因。当前限制外泌体领域进展的一大因素是外泌体富集和纯化技术,目前尚无实现高通量、高纯度、高速率的外泌体提取方法。总体来说,外泌体应用于CCA的诊疗研究数量较少,这可能与CCA的患者基数较小有关,虽然已有几个基于外泌体的组学研究筛选出的潜在标记物,但尚无后续的

深入研究能够得到可靠的依据。外泌体应用于诊断还处于早期阶段,随着研究深入,外泌体应用于CCA这一类高度恶性肿瘤的早期诊断具有深远的临床意义。

**作者贡献声明** 慈鸿飞 文献检索,论文设计和撰写。贾户亮 论文构思和修订。

**利益冲突声明** 所有作者均声明不存在利益冲突。

## 参 考 文 献

- [ 1 ] STEWART HL. Carcinoma of the extrahepatic bile ducts [J]. *Arch Surg*, 1940, 41(3): 662-713.
- [ 2 ] KHAN SA, THOMAS HC, DAVIDSON BR, et al. Cholangiocarcinoma [J]. *The Lancet*, 2005, 366 (9493): 1303-1314.
- [ 3 ] KHAN AS, DAGEFORDE LA. Cholangiocarcinoma [J]. *Surg Clin North Am*, 2019, 99(2): 315-335.
- [ 4 ] BRAGAZZI M C, RIDOLA L, SAFARIKIA S, et al. New insights into cholangiocarcinoma: multiple stems and related cell lineages of origin [J]. *Ann Gastroenterol*, 2018, 31(1): 42-55.
- [ 5 ] HAN L, LAM EW, SUN Y. Extracellular vesicles in the tumor microenvironment: old stories, but new tales [J]. *Mol Cancer*, 2019, 18(1): 59.
- [ 6 ] JOHNSTONE RM, ADAM M, HAMMOND JR, et al. Vesicle formation during reticulocyte maturation association of plasma membrane activities with released vesicles (EXOSOMES) [J]. 1987, 262(19): 9412-9420.
- [ 7 ] PAN BT, JOHNSTONE RM. Fate of the transferrin receptor during maturation of sheep reticulocytes in vitro: selective externalization of the receptor [J]. *Cell*, 1983, 33 (3): 967-978.
- [ 8 ] YANEZ-MO M, SILJANDER PR, ANDREU Z, et al. Biological properties of extracellular vesicles and their physiological functions [J]. *J Extracell Vesicles*, 2015, 4: 27066.
- [ 9 ] JAN AT, RAHMAN S, BADIERAH R, et al. Expedition into exosome biology: a perspective of progress from discovery to therapeutic development [J]. *Cancers (Basel)*, 2021, 13(5): 1157.
- [ 10 ] LAI RC, LIM SK. Membrane lipids define small extracellular vesicle subtypes secreted by mesenchymal stromal cells [J]. *J Lipid Res*, 2019, 60(2): 318-322.
- [ 11 ] ZHANG HD, JIANG LH, SUN DW, et al. CircRNA: a novel type of biomarker for cancer [J]. *Breast Cancer*, 2018,

- 25(1):1-7.
- [12] MENG S, ZHOU H, FENG Z, *et al.* CircRNA: functions and properties of a novel potential biomarker for cancer[J]. *Mol Cancer*, 2017, 16(1):94.
- [13] WANG S, HU Y, LV X, *et al.* Circ-0000284 arouses malignant phenotype of cholangiocarcinoma cells and regulates the biological functions of peripheral cells through cellular communication [J]. *Clin Sci (Lond)*, 2019, 133(18):1935-1953.
- [14] ZENG K, CHEN X, XU M, *et al.* CircHIPK3 promotes colorectal cancer growth and metastasis by sponging miR-7 [J]. *Cell Death Dis*, 2018, 9(4):417.
- [15] ZHENG Q, BAO C, GUO W, *et al.* Circular RNA profiling reveals an abundant circHIPK3 that regulates cell growth by sponging multiple miRNAs [J]. *Nat Commun*, 2016, 7:11215.
- [16] LI Y, ZHENG F, XIAO X, *et al.* CircHIPK3 sponges miR-558 to suppress heparanase expression in bladder cancer cells [J]. *EMBO Rep*, 2017, 18(9):1646-1659.
- [17] LI W, LIU R, WEI D, *et al.* Circular RNA circ-CCAC1 Facilitates adrenocortical carcinoma cell proliferation, migration, and invasion through regulating the miR-514a-5p/C22orf46 axis [J]. *Biomed Res Int*, 2020, 2020:3501451.
- [18] XU Y, LENG K, YAO Y, *et al.* A Circular RNA, cholangiocarcinoma-associated circular RNA 1, contributes to cholangiocarcinoma progression, induces angiogenesis, and disrupts vascular endothelial barriers [J]. *Hepatology*, 2021, 73(4):1419-35.
- [19] SU Y, YU T, WANG Y, *et al.* Circular RNA circDNM3 OS functions as a miR-145-5p sponge to accelerate cholangiocarcinoma growth and glutamine metabolism by upregulating MORC2 [J]. *Onco Targets Ther*, 2021, 14:1117-1129.
- [20] LIAO G, LIU X, WU D, *et al.* MORC2 promotes cell growth and metastasis in human cholangiocarcinoma and is negatively regulated by miR-186-5p [J]. *Aging (Albany NY)*, 2019, 11(11):3639-3649.
- [21] CUI K, BIAN X. The microRNA cluster miR-30b/-30d prevents tumor cell switch from an epithelial to a mesenchymal-like phenotype in GBC [J]. *Mol Ther Methods Clin Dev*, 2021, 20:716-725.
- [22] TSUI NB, NG EK, LO YM. Stability of endogenous and added RNA in blood specimens, serum, and plasma [J]. *Clin Chem*, 2002, 48(10):1647-1653.
- [23] MITCHELL PS, PARKIN RK, KROH EM, *et al.* Circulating microRNAs as stable blood-based markers for cancer detection [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2008, 105(30):10513-10518.
- [24] SHIGEHARA K, YOKOMURO S, ISHIBASHI O, *et al.* Real-time PCR-based analysis of the human bile microRNAome identifies miR-9 as a potential diagnostic biomarker for biliary tract cancer [J]. *PLoS One*, 2011, 6(8):e23584.
- [25] FABRIS L, SATO K, ALPINI G, *et al.* The tumor microenvironment in cholangiocarcinoma progression [J]. *Hepatology*, 2021, 73(Suppl 1):75-85.
- [26] KITDUMRONGTHUM S, METHEETRAIRUT C, CHAROENSAWAN V, *et al.* Dysregulated microRNA expression profiles in cholangiocarcinoma cell-derived exosomes [J]. *Life Sci*, 2018, 210:65-75.
- [27] SHEN L, CHEN G, XIA Q, *et al.* Exosomal miR-200 family as serum biomarkers for early detection and prognostic prediction of cholangiocarcinoma [J]. *Int J Clin Exper Pathol*, 2019, 12(10):3870-3876.
- [28] LI L, PIONTEK K, ISHIDA M, *et al.* Extracellular vesicles carry microRNA-195 to intrahepatic cholangiocarcinoma and improve survival in a rat model [J]. *Hepatology*, 2017, 65(2):501-514.
- [29] BADER AG. miR-34 - a microRNA replacement therapy is headed to the clinic [J]. *Front Genet*, 2012, 3:120.
- [30] VALADI H, EKSTROM K, BOSSIOS A, *et al.* Exosome-mediated transfer of mRNAs and microRNAs is a novel mechanism of genetic exchange between cells [J]. *Nat Cell Biol*, 2007, 9(6):654-659.
- [31] YANG Z, SHI J, XIE J, *et al.* Large-scale generation of functional mRNA-encapsulating exosomes via cellular nanoporation [J]. *Nat Biomed Eng*, 2020, 4(1):69-83.
- [32] HAGA H, YAN IK, TAKAHASHI K, *et al.* Tumour cell-derived extracellular vesicles interact with mesenchymal stem cells to modulate the microenvironment and enhance cholangiocarcinoma growth [J]. *J Extracell Vesicles*, 2015, 4:24900.
- [33] LAPITZ A, ARBELAIZ A, O'ROURKE CJ, *et al.* Patients with cholangiocarcinoma present specific RNA profiles in serum and urine extracellular vesicles mirroring the tumor expression: novel liquid biopsy biomarkers for disease diagnosis [J]. *Cells*, 2020, 9(3):721.
- [34] KALLURI R, LEBLEU VS. The biology, function, and biomedical applications of exosomes [J]. *Science*, 2020, 367(6478):eaau6977.
- [35] BORIACHEK K, ISLAM MN, MOLLER A, *et al.* Biological functions and current advances in isolation and detection strategies for exosome nanovesicles [J]. *Small*, 2018, 14(6):doi:10.1002/sml.201702153.
- [36] SCHEY KL, LUTHER JM, ROSE KL. Proteomics characterization of exosome cargo [J]. *Methods*, 2015, 87:

- 75-82.
- [37] DUTTA S, REAMTONG O, PANVONGSA W, *et al.* Proteomics profiling of cholangiocarcinoma exosomes: a potential role of oncogenic protein transferring in cancer progression [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2015, 1852(9): 1989-1999.
- [38] ARBELAIZ A, AZKARGORTA M, KRAWCZYK M, *et al.* Serum extracellular vesicles contain protein biomarkers for primary sclerosing cholangitis and cholangiocarcinoma [J]. *Hepatology*, 2017, 66(4): 1125-1143.
- [39] IKEDA C, HAGA H, MAKINO N, *et al.* Utility of Claudin-3 in extracellular vesicles from human bile as biomarkers of cholangiocarcinoma [J]. *Sci Rep*, 2021, 11(1): 1195.
- [40] LUAN Y, MA C, WANG Y, *et al.* The characteristics, functions and inhibitors of three aminopeptidases belonging to the m1 family [J]. *Curr Protein Pept Sci*, 2012, 13(5): 490-500.
- [41] KIM HM, HARAGUCHI N, ISHII H, *et al.* Increased CD13 expression reduces reactive oxygen species, promoting survival of liver cancer stem cells via an epithelial-mesenchymal transition-like phenomenon [J]. *Ann Surg Oncol*, 2012, 19(Suppl 3): S539-S548.
- [42] LIU YC, YE H CT, LIN KH. Cancer stem cell functions in hepatocellular carcinoma and comprehensive therapeutic strategies [J]. *Cells*, 2020, 9(6): 1331.
- [43] WANG Y, SUN T, SUN H, *et al.* SCF/C-Kit/JNK/AP-1 signaling pathway promotes claudin-3 expression in colonic epithelium and colorectal carcinoma [J]. *Int J Mol Sci*, 2017, 18(4): 765.
- [44] DE SOUZA WF, FORTUNATO-MIRANDA N, ROBBS BK, *et al.* Claudin-3 overexpression increases the malignant potential of colorectal cancer cells: roles of ERK1/2 and PI3K-Akt as modulators of EGFR signaling [J]. *PLoS One*, 2013, 8(9): e74994.
- [45] PIKKARAINEN T, NURMI T, SASAKI T, *et al.* Role of the extracellular matrix-located Mac-2 binding protein as an interactor of the Wnt proteins [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2017, 491(4): 953-957.
- [46] WU CC, HUANG YS, LEE LY, *et al.* Overexpression and elevated plasma level of tumor-associated antigen 90K/Mac-2 binding protein in colorectal carcinoma [J]. *Proteomics Clin Appl*, 2008, 2(12): 1586-1595.
- [47] SONG Y, WANG M, TONG H, *et al.* Plasma exosomes from endometrial cancer patients contain LGALS3BP to promote endometrial cancer progression [J]. *Oncogene*, 2021, 40(3): 633-646.
- [48] EL-AZIZ RA, ALNAGGAR A, MOHAMED NABIH MI, *et al.* Mac-2 binding protein in non-alcoholic fatty liver disease: Is it a reliable diagnostic biomarker? A pilot study [J]. *Clin Exp Hepatol*, 2020, 6(1): 28-34.
- [49] KAMADA Y, ONO M, HYOGO H, *et al.* Use of Mac-2 binding protein as a biomarker for nonalcoholic fatty liver disease diagnosis [J]. *Hepatol Commun*, 2017, 1(8): 780-791.
- [50] RIZVI S, GORES GJ. Emerging molecular therapeutic targets for cholangiocarcinoma [J]. *J Hepatol*, 2017, 67(3): 632-644.
- [51] SIA D, LOSIC B, MOEINI A, *et al.* Massive parallel sequencing uncovers actionable FGFR2-PPHLN1 fusion and ARAF mutations in intrahepatic cholangiocarcinoma [J]. *Nat Commun*, 2015, 6: 6087.
- [52] GRAHAM RP, BARR FRITCHER EG, PESTOVA E, *et al.* Fibroblast growth factor receptor 2 translocations in intrahepatic cholangiocarcinoma [J]. *Hum Pathol*, 2014, 45(8): 1630-1638.
- [53] MAHIPAL A, TELLA S H, KOMMALAPATI A, *et al.* FGFR2 genomic aberrations: achilles heel in the management of advanced cholangiocarcinoma [J]. *Cancer Treat Rev*, 2019, 78: 1-7.
- [54] LORIOT Y, NECCHI A, PARK SH, *et al.* Erdafitinib in locally advanced or metastatic urothelial carcinoma [J]. *NEJM*, 2019, 381(4): 338-348.
- [55] JAVIDI-SHARIFI N, MARTINEZ J, ENGLISH I, *et al.* FGF2-FGFR1 signaling regulates release of Leukemia-Protective exosomes from bone marrow stromal cells [J]. *Elife*, 2019, 8: e40033.
- [56] FUJIWARA H, TATEISHI K, MISUMI K, *et al.* Mutant IDH1 confers resistance to energy stress in normal biliary cells through PFKP-induced aerobic glycolysis and AMPK activation [J]. *Sci Rep*, 2019, 9(1): 18859.
- [57] ZHANG X, MIAO R, LIU T, *et al.* IDH1 as a frequently mutated gene has potential effect on exosomes release by epigenetically regulating P2RX7 in intrahepatic cholangiocarcinoma [J]. *Biomed Pharmacother*, 2019, 113: 108774.

(收稿日期: 2021-04-16; 编辑: 王蔚)