

DOI:10.13350/j.cjpb.230825

• 综述 •

HBV 与外泌体的相关性研究进展*

邢燕¹, 张源清¹, 怀天然¹, 田景惠^{1,2,*}

(1. 山东第一医科大学公共卫生与健康管理学院, 山东济南 250000; 2. 山东第一医科大学第二附属医院)

【摘要】 乙型肝炎病毒(Hepatitis B virus, HBV)感染导致乙型肝炎,也是我国肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)发生最主要的危险因素,但其致病机制迄今并不完全清楚。尽管抗病毒治疗可有效抑制 HBV 聚合酶的活性并减缓疾病进展,但不能完全根除慢性感染者体内的 HBV 病毒。因此,对于 HBV 致病机制及其治疗仍然需要持续和深入研究。外泌体是一种细胞间物质和信息传递的载体,参与抗原提呈、免疫应答及肿瘤进展等多种生理病理过程。近年来的研究发现,外泌体在 HBV 的致病过程中发挥重要作用,且在 HBV 感染的诊断和治疗中具有重要的应用价值。本文对外泌体与 HBV 的相关性研究进行了综述。

【关键词】 外泌体;乙型肝炎病毒;miRNA;综述

【中图分类号】 R373.2

【文献标识码】 A

【文章编号】 1673-5234(2023)08-0991-04

[*Journal of Pathogen Biology*. 2023 Aug;18(8):991-992, inside back cover, back cover.]

Recent advances in the study of HBV and exosomes

XING Yan¹, ZHANG Yuanqing¹, HUAI Tianran¹, TIAN Jinghui^{1,2} (1. School of Public Health and Health Management, Shandong First Medical University & Shandong Academy of Medical Sciences, Jinan 250000, China; 2. The Second Affiliated Hospital of Shandong First Medical University)

【Abstract】 Hepatitis B virus (HBV) infection leads to hepatitis B and is the most major risk factor for hepatocellular carcinoma (HCC) in China, but the pathogenesis of HCC remains unclear. Although antiviral therapy can effectively inhibit HBV polymerase activity and slow the progression of disease, HBV virus cannot be completely eradicated in patients with chronic infection. Therefore, the pathogenesis and treatment of HBV still need continuous and intensive research. Exosomes are carriers of intercellular substances and information transmission, which are involved in many physiological and pathological processes such as antigen presentation, immune response and tumor progression. Recent studies have found that exosomes play an essential role in the pathogenesis of HBV and have important application value in the diagnosis and treatment of HBV infection. This paper reviews the correlation between exosomes and HBV.

【Key words】 exosome; hepatitis B virus (HBV); miRNA; review

***乙型肝炎病毒(Hepatitis B virus, HBV)感染是全球性的公共卫生问题。目前,由 HBV 所致的乙型肝炎仍然在广泛传播,严重危害着人类的健康。尽管 HBV 基因工程疫苗的生产、投入及接种普及率在逐年上升,但每年仍然有千万例新增患者。外泌体(exosomes)是近年来广受关注的一种细胞外囊泡,介导细胞间信息和物质的交换,相关研究已经深入到基础医学、免疫和肿瘤等领域。有证据表明,HBV 患者血清外泌体中含有 HBV 核酸和 HBV 蛋白,并以活跃的方式将 HBV 转移至肝细胞^[1]。外泌体参与了 HBV 的体内传播与致病过程,并为 HBV 感染的诊断和抗 HBV 感染的治疗提供了新视角和探索方向。

1 概述

1.1 HBV HBV 最早被发现于 20 世纪六十年代,是导致乙型肝炎及其相关疾病的病原体。HBV 是一种小型包膜 DNA 病毒,属于嗜肝 DNA 病毒科、正嗜肝 DNA 病毒属。HBV 基因组具有四个互有重叠的开放读框(open reading frame, ORF),分别编码前表面/表面抗原(Pre-S/S)、前核心/核心抗原(Pre-C/C)、DNA 多聚酶(P)和乙型肝炎病毒 X 蛋白(hepatitis B virus x protein, HBx)等产物^[2]。

据世界卫生组织报道,全世界约有 20 亿人曾经感染过

HBV,其中有 3.5 亿人发展为慢性乙型肝炎(chronic hepatitis B, CHB)^[3],而 CHB 则是导致肝硬化(hepatic cirrhosis, LC)和肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)最主要的危险因素^[4]。因此,预防和治疗 HBV 感染对降低 HBV 相关疾病的发病率和死亡率非常重要。

尽管 HBV 疫苗应用已有 30 多年,但是截止目前,HBV 感染的发病率并未有明显下降,且死于 LC、肝功能衰竭和 HCC 的人数仍在持续增加^[5]。目前,用于治疗 HBV 慢性感染的药物包括干扰素 Alpha(interferon Alpha, IFN- α)和核苷酸类似物(nucleoside analogues, NAs)等^[6]。这些药物虽然能够有效减

* **【基金项目】** 山东省自然科学基金项目(No. ZR2022MH104);山东第一医科大学青年科学基金培育资助计划(No. 202201-032);泰安市科技发展规划(2021NS364);山东第一医科大学公共卫生与健康管理学院学术计划提升项目(No. GW202202)。

** **【通讯作者】** 田景惠, E-mail: tjh.good@163.com

【作者简介】 邢燕(1996-),女,山东济南人,在读硕士研究生。研究方向:细胞与分子免疫学。
E-mail: xingyan20210912@163.com

缓疾病的进展,但由于 HBV 感染的相关潜在分子机制仍未完全明确,HBV 感染仍然难以完全控制,因此科学家们一直在寻求新的治疗方案。

1.2 外泌体 外泌体是一种直径为 40~100 nm 的脂质双层的内源性小囊泡,发现于绵羊网织红细胞中,初始被当做细胞碎片^[7]。外泌体的主要成分是蛋白质、脂质和核酸等生物分子^[7]。外泌体由 T 细胞、B 细胞、巨噬细胞、树突状细胞(dendritic cell, DC)和自然杀伤(natural killer, NK)细胞等释放,存在于血液、尿液、唾液、腹水和母乳等体液中^[7]。外泌体大小和负载的不同可反映细胞的来源和类型,因此,患者体内外泌体成分的变化可以作为疾病诊断、进展和疗效的判断指标。

研究表明,外泌体在诸多生理病理过程中发挥重要作用。除介导神经系统之间的信号传递^[8]、生殖与发育^[9]以及细胞增殖和成熟^[10]等生理过程以外,外泌体还可通过提呈抗原^[11]、释放促炎细胞因子^[12]、肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)^[13]和增强 NK 细胞活性等途径促进免疫系统的激活,从而参与肿瘤进展、炎症和病原体的感染与传播等病理过程。

2 外泌体与 HBV 的致病机制

作为细胞间物质与信息传输的载体,外泌体可以促进 HBV 及机体抗病毒效应的细胞间传播,还可影响固有免疫细胞活性并与 HBV 的持续感染有关。

2.1 外泌体促进 HBV 在细胞间的传播 肝细胞表面的 HBV 受体牛磺酸胆酸钠共转运多肽(Na^+ /taurocholate cotransporting polypeptide, NTCP)介导 HBV 与肝细胞之间的相互作用,是 HBV 进入肝细胞的关键因素^[1]。然而,近年来,非受体依赖的病毒传播方式引起了人们的广泛关注。外泌体是一种细胞间的通讯囊泡,可在细胞之间转运功能蛋白和核酸等信号分子,参与细胞渗透、入侵和融合等过程^[14]。此外,由于外泌体的生成过程与多种病毒的组装和释出存在较多重叠,因此外泌体可能是病毒在细胞间的传播过程中发挥作用的关键载体。

有文献报道,CHB 患者血清外泌体中存在 HBV DNA 和 HBV RNA^[1]。将 HLCZ01 细胞和外泌体分别标记后进行共孵育,实时荧光显微镜下可观察到外泌体在培养基中快速自由运动并进入 HLCZ01 细胞的全过程。暴露于 HBV 阳性外泌体两天后, HLCZ01 细胞的乙型肝炎表面抗原(HBsAg)和 HBV 核心抗原(HBcAg)呈阳性,且其水平与同样经 HepG2. 2. 15 培养细胞的上清液处理后的水平相当,提示 CHB 患者血清外泌体与 HepG2. 2. 15 培养细胞上清液中的游离病毒功能一致。另外,与 HBV 阳性外泌体共孵育后, NCTP 阴性的 HepG2 细胞也显示 HBsAg 和 HBcAg 呈阳性^[1]。上述研究表明, CHB 患者血清外泌体中含有 HBV 核酸和 HBV 蛋白等成分,并可将其在体外以非受体依赖的方式转移至 HBV 阴性的肝细胞,外泌体可能是受体途径以外的另一种细胞间的 HBV 传播方式。

2.2 外泌体可在细胞间传递细胞因子介导的抗 HBV 效应

除了可以促进细胞间 HBV 的传播,外泌体还可以在细胞间传递由细胞因子介导的抗 HBV 效应。

细胞因子 IFN- α 由巨噬细胞、单核细胞等多种细胞产生,具有抗病毒、抗肿瘤和免疫调节等功能^[15]。研究表明,敲除 T 细胞免疫球蛋白和粘蛋白受体 1(T-cell immunoglobulin and mucin domain 1, TIM-1)后,巨噬细胞来源的外泌体进入肝癌

细胞 HepG2 显著减少^[16],表明巨噬细胞来源的外泌体可以通过 TIM-1 依赖的方式进入肝细胞。该过程可通过网格蛋白介导的内吞和胞饮作用及与内体融合的方式,有效地向肝细胞转移具有抗病毒、抗增殖和免疫调节作用的细胞因子 IFN- α ,从而提高肝细胞抗 HBV 感染的活性^[16]。另有研究表明,人源 IFN- α 可减轻 HBV 感染小鼠的病毒血症和病毒抗原血症^[17],由 IFN- α 诱导的抗病毒效应可以通过外泌体,从肝非实质细胞传递给 HBV 感染的肝细胞^[18]。

2.3 外泌体影响机体对 HBV 感染的固有免疫应答 病毒与宿主免疫系统之间的相互作用决定了宿主病毒感染的结局,免疫应答的强弱与 HBV 感染者临床表现的轻重及转归密切相关。外泌体通过激活或抑制固有免疫细胞的功能参与了机体抗 HBV 感染的免疫应答过程^[19]。

树鼯动物模型证明,由 HBV 感染诱导产生的外泌体通过激活巨噬细胞和 NK 细胞等固有免疫细胞增强机体抗 HBV 感染的固有免疫应答^[19]。由 HBV 感染的肝细胞释放的含病毒 DNA 或 RNA 的外泌体首先被转移到巨噬细胞,通过 MyD88、TICAM-1 和 MAVS 依赖性途径诱导巨噬细胞 NKG2D 配体的表达^[19],继而促进 NK 细胞活化产生 IFN- γ ^[20];IFN- γ 再通过上调 DDX60 的表达促进病毒 RNA 降解,从而发挥抗病毒作用^[19];而外泌体的缺失可使巨噬细胞 NKG2D 配体的表达显著降低,提示外泌体对巨噬细胞和 NK 细胞的活化具有重要作用^[19]。

另有研究发现,CHB 患者血清外泌体抑制 NK 细胞 IFN- γ 、TNF- α 、CD107a 及其受体 NKp44 的表达;另外,CHB 感染患者的 NK 细胞视黄酸诱导基因 I(retinoic acid-inducible gene I, RIG-1)的表达水平降低,其下游的 NF- κ B 和 p38 信号通路也被抑制;而 NK 细胞 CD107a 的水平可以通过过表达 RIG-1 得以恢复^[1],提示 HBV 阳性的外泌体以 RIG-1 依赖的方式直接干扰 NK 细胞的功能,从而抑制固有免疫应答。

以上证据表明,HBV 诱导的外泌体可通过影响固有免疫细胞活性及其产生的细胞因子和相关信号通路的活性参与机体抗 HBV 的固有免疫应答。

2.4 外泌体与 HBV 的持续感染有关 研究发现,HBV 感染细胞来源的外泌体微小 RNA(microRNA, miRNA)可以抑制机体免疫应答并导致免疫细胞的功能障碍,进而干扰 HBV 从宿主细胞的清除,导致病毒的持续感染^[21]。

前期研究发现,HBV 通过诱导 miR-146a 的表达下调 STAT1 的水平,进而使由 IFN 诱导的抗病毒免疫应答受到抑制^[22]。CD4⁺ T 细胞产生的白细胞介素-21(interleukin-21, IL-21)能够增强效应 T 细胞和 NK 细胞的活性,从而有利于 HBV 的清除^[23],而 HBV 感染诱导产生的外泌体 miRNA(包括 miR-21, miR-192, miR-215, miR-221 和 miR-222 等)则靶向人 IL-21 基因使其表达下降^[24],从而导致 HBV 的免疫逃逸。

IL-12 由巨噬细胞、单核细胞和 B 细胞等抗原提呈细胞(antigen-presenting cells, APC)受抗原刺激后分泌,其生物学活性形式是由 p40 和 p35 两个亚基通过二硫键连接形成的异二聚体,可以促进 NK 和细胞毒性 T 淋巴细胞(cytotoxic T lymphocyte, CTL)的增殖与活化,具有重要的免疫调节作用。HBV 感染诱导产生的血清外泌体 miR-29a 使 IL-12 p40 基因

表达水平下调^[25], IL-12 活性下降,影响了 NK 和 CTL 细胞的增殖和活化,进而导致 HBV 的清除障碍。

以上研究表明,由 HBV 感染诱导产生的外泌体 miRNA 通过影响相关细胞因子的产生及其介导的信号通路,影响免疫细胞的活化,使机体对 HBV 的识别和清除障碍,进一步加重 HBV 诱导的慢性炎症,最终导致 HBV 的持续感染。

3 外泌体与 HBV 感染的诊断

大量研究发现,健康人群和 HBV 感染者外泌体的组成存在定性和定量差异,其中,血清外泌体 miRNA 表达谱随疾病进展而发生变化,外泌体 miRNA 的种类及水平变化可反映 HBV 感染所致疾病及其进展的不同阶段^[26-27]。

有文献报道,HBV 感染的 PXB 嵌合小鼠肝细胞外泌体相关 miRNA 水平增加 2 倍以上^[24]。HBV 感染者血清外泌体 miR-21、miR-221 和 miR-222 水平均显著升高^[26], Wang 等^[28]也证明 HCC 和 CHB 患者血清外泌体富含 miR-21,且具有比血清 miRNA 更高的检测灵敏度。miR-122 是肝脏特异性 miRNA 之一,能够直接靶向病毒 RNA 或调节宿主基因的表达,通过与 HBV 靶序列的相互作用抑制 HBV 基因的表达和复制,是 HBV 复制的重要调控因子^[29]。研究发现,与健康人群相比,HBV 感染者血清外泌体 miR-122-5p 水平显著升高^[30],且 CHB 患者血清外泌体中 miR-122 与 HBV DNA、ALT 和 HBsAg 水平呈负相关,提示血清外泌体 miR-122 水平可以反映 CHB 患者体内 HBV 病毒复制及肝脏损伤的程度^[29]。另有研究发现,血清外泌体 miR-130、miR-183、miR-196、miR-209 和 miR-96 的水平能够区分不同阶段的肝炎和肝损伤^[31]。

血清外泌体 miRNA 可以反映 HBV 相关 HCC。有研究分析了 HBV 相关 HCC 血清外泌体 miRNA 的整体表达谱,发现包括 miR-150 和 miR-342-3p 在内的多种 miRNA 的水平发生了改变^[32],且 miR-122 增加近 4 倍^[33]。另有研究发现,血清外泌体异型核糖核蛋白 H1 mRNA (heterogeneous nuclear ribonucleoprotein H1, hnRNP H1 mRNA) 可作为 HBV 高发地区 HCC 的有效标志物^[34]。文献报道,HCC 的患者血清外泌体 miR-212 的表达水平显著升高,其敏感性和特异性均优于 AFP、CA125 和 HBx 蛋白^[35]。

上述研究表明,不同类型的 HBV 患者和健康人群血清外泌体 miRNA 的表达谱不同,且水平随着疾病进程而变化,能够指示不同的生理或病理状态,因此,血清外泌体 miRNA 的检测能够明显提高 HBV 感染不同临床阶段的诊断准确,有利于 HBV 相关 HCC 的早期诊断和识别,从而提高患者的疗效及预后。

4 外泌体与抗 HBV 治疗

尽管目前有多种抗 HBV 药物可供选择,但由 HBV 感染引发的相关疾病仍在严重威胁着人类的健康,研究人员一直在寻找新的抗 HBV 治疗方法。外泌体作为多种生物活性物质的天然载体,在抗 HBV 感染的治疗中具有广阔的应用前景。

来自免疫细胞的外泌体具有免疫刺激作用,能够诱导机体针对抗原特异性 CTL 的免疫应答,因此,外泌体可以作为疫苗佐剂用于增强机体对 HBV 的免疫应答,促进机体对 HBV 的清除。

Nef 蛋白突变体(Nef^{mut})是一种与外泌体脂膜有高度融合性但其本身不具有生物活性的蛋白质,可以作为外泌体的良好载体,增强机体对外泌体抗原成分的免疫应答^[36]。研究发现,将经过体外抗原改造的外泌体与 Nef^{mut} 外泌体锚定蛋白融合后接种小鼠,能够增强抗原特异性 CTL 的免疫应答效应^[37]。HBcAg 由于存在于 HBV 病毒颗粒的核心且其外被 HBsAg 所覆盖,因此不易在血液循环中检出,但大量存在于受 HBV 感染的肝细胞内^[38],是 CTL 免疫治疗的理想靶标。研究发现,全长的 HBcAg 与 Nef^{mut} 融合后,其抗原信息可被有效整合到外泌体中,外泌体免疫原性增加,引发 CTL 免疫应答,进而促进 HBV 感染细胞被 CTL 清除^[39],提示将与 Nef^{mut} 融合的改造外泌体诱导 CTL 免疫应答用于抗 HBV 治疗具有良好的可行性。Nef^{mut} 作为外泌体的载体。

此外,外泌体还可作为载体向体内递送特定分子。研究发现,将人单核细胞系(human monocytic cell line, THP-1)经脂多糖刺激后产生的外泌体注射于正常小鼠皮下,结果发现小鼠分泌细胞因子 TNF- α 和 IL-1 β 增加;另外,小鼠皮下联合接种外泌体与重组 HBsAg 的混合溶液,结果显示外泌体触发了小鼠的免疫调节,增加了小鼠 IFN- γ 的分泌^[40],进而增强了小鼠对 HBV 的免疫应答,促进了小鼠对 HBV 的清除。

外泌体作为抗病毒治疗的载体和疫苗佐剂正在被不断探索,随着相关研究的逐渐深入,外泌体在抗 HBV 治疗领域的特殊临床应用价值将不断展现。

5 展望

外泌体作为一种细胞间物质和信息传递的载体,是一种独特的细胞间沟通的工具。外泌体可以在细胞间传递 HBV 多种相关物质,在 HBV 感染、传播及相关疾病的发生发展过程中发挥重要作用。外泌体 miRNA 的种类及其水平变化可反映 HBV 相关疾病的不同阶段。此外,外泌体作为治疗性药物的天然内源性载体用于临床治疗具有独特的优势,为临床抗 HBV 治疗提供了新的方向。

目前,有关 HBV 与外泌体的相关研究仍处于早期阶段,深入研究外泌体在 HBV 致病、诊断和治疗中的作用,将有助于揭示 HBV 和宿主细胞的相互作用方式并进一步明确 HBV 的致病机制,有利于我们了解如何通过外泌体影响 HBV 感染的最终转归,以及进一步了解如何通过改变外泌体的成份来进行抗 HBV 的治疗。

【参考文献】

- [1] Yang YL, Han QJ, Hou ZH, et al. Exosomes mediate hepatitis B virus (HBV) transmission and NK-cell dysfunction[J]. Cell Mol Immunol, 2017, 14(5): 465-475.
- [2] Jiang Y, Han QJ, Zhao HJ, et al. The mechanisms of HBV-induced hepatocellular carcinoma[J]. Hepatocell Carcinoma, 2021, 8: 435-450.
- [3] Trepo C, Chan HL, Lok A. Hepatitis B virus infection[J]. Lancet, 2014, 384(9959): 2053-2063.
- [4] Levrero M, Zucman-rossi J. Mechanisms of HBV-induced hepatocellular carcinoma[J]. Hepatol, 2016, 64(1): S84-S101.
- [5] Terrault NA, Bzowej NH, Chang KM, et al. AASLD guidelines for treatment of chronic hepatitis B[J]. Hepatology, 2016, 63(1): 261-283.

- [6] 曹振环,陈新月. 慢性乙型肝炎联合抗病毒治疗研究进展[J]. 中国病原生物学杂志,2009,4(11):865-867.
- [7] Zhang Y,Bi JY,Huang JY,et al. Exosome:a review of its classification, isolation techniques, storage, diagnostic and targeted therapy applications[J]. Int J Nanomedicine,2020,15:6917-6934.
- [8] Budnik V,Canada CR,Wendler F. Extracellular vesicles round off communication in the nervous system [J]. Nat Rev Neurosci, 2016,17(3):160-172.
- [9] Machtinger R,Laurent LC,Baccarelli AA. Extracellular vesicles: roles in gamete maturation, fertilization and embryo implantation [J]. Hum Reprod Update,2016,22(2):182-193.
- [10] 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.
- [11] Wolfers J,Lozier A,Raposo G,et al. Tumor-derived exosomes are a source of shared tumor rejection antigens for CTL cross-priming[J]. Nat Med,2001,7(3):297-303.
- [12] Bhatnagar S,Schorey JS. Exosomes released from infected macrophages contain *Mycobacterium avium* glycopeptidolipids and are proinflammatory[J]. J Biol Chem,2007,282(35):25779-25789.
- [13] Vega VL,Silva MR,Frey T,et al. Hsp70 translocates into the plasma membrane after stress and is released into the extracellular environment in a membrane-associated form that activates macrophages[J]. J Immunol,2008,180(6):4299-4307.
- [14] He CJ,Zheng S,Luo Y,et al. Exosome theranostics:biology and translational medicine[J]. Theranostics,2018,8(1):237-355.
- [15] Arico E,Belardelli F. Interferon- α s antiviral and antitumor vaccine adjuvants:Mechanisms of action and response signature[J]. J Interferon Cytokine Res,2012,32(6):235-247.
- [16] Yao ZL,Qiao YS,Li XF,et al. Exosomes exploit the virus entry machinery and pathway to transmit alpha interferon-induced antiviral activity[J]. J Virol,2018,92(24):e01578-18.
- [17] Zhang M,Zhang ZS,Michio Imamura,et al. Infection courses, virological features and IFN- α responses of HBV genotypes in cell culture and animal models[J]. J Hepatol,2021,75(6):1335-1345.
- [18] Li JH,Liu KC,Liu Y,et al. Exosomes mediate the cell-to-cell transmission of IFN- α -induced antiviral activity[J]. Nat Immunol,2013,14(8):793-803.
- [19] Kouwaki T,Fukushima Y,Daito T,et al. Extracellular vesicles including exosomes regulate innate immune responses to hepatitis b virus infection[J]. Front Immunol,2016,7:335.
- [20] Ebihara T,Masuda H,Akazawa T,et al. Induction of NKG2D ligands on human dendritic cells by TLR ligand stimulation and RNA virus infection[J]. Int Immunol,2007,19(10):1145-1155.
- [21] Mondelli MU,Varchetta S,Oliviero B. Natural killer cells in viral hepatitis:facts and controversies[J]. Eur J Clin Invest,2010,40(9):851-863.
- [22] Hou ZH,Han QJ,Zhang C,et al. miR146a impairs the IFN-induced anti-HBV immune response by downregulating STAT1 in hepatocytes[J]. Liver Int,2014,34(1):58-68.
- [23] Li L,Liu M,Cheng ZH,et al. HBcAg-specific IL-21-producing CD4⁺ T cells are associated with relative viral control in patients with chronic hepatitis B[J]. Scand J Immunol,2013,78(5):439-446.
- [24] Enomoto Y,Takagi R,Naito Y,et al. Identification of the novel 3'UTR sequences of human IL-21 mRNA as potential targets of miRNAs[J]. Sci Rep,2017,7(1):7780.
- [25] Brain O,Owens BM,Pichulik T,et al. The intracellular sensor NOD2 induces microRNA-29 expression in human dendritic cells to limit IL-23 release[J]. Immunity,2013,39(3):521-536.
- [26] Won Sohn,Jonghwa Kim,So Hee Kang,et al. Serum exosomal microRNAs as novel biomarkers for hepatocellular carcinoma [J]. Exp Mol Med,2015,47(9):e184.
- [27] Xing TJ,Xu HT,Yu WQ,et al. Expression profile and clinical significance of miRNAs at different stages of chronic hepatitis B virus infection[J]. Int J Clin Exp Med,2015,8(4):5611-5620.
- [28] Wang HW,Hou LJ,Li AH,et al. Expression of serum exosomal microRNA-21 in human hepatocellular carcinoma[J]. Biomed Res Int,2014,2014:864-894.
- [29] Waidmann O,Bihrer V,Pleli T,et al. Serum microRNA-122 levels in different groups of patients with chronic hepatitis B virus infection[J]. J Viral Hepat,2012,19(2):e58-65.
- [30] Lak R,Yaghobi R,Garshasbi M. Importance of miR-125a-5p and miR-122-5p expression in patients with HBV infection[J]. Cell Mol Biol (Noisy-le-grand),2020,66(5):1-8.
- [31] Musaddaq G,Shahzad N,Ashraf MA,et al. Circulating liver-specific microRNAs as noninvasive diagnostic biomarkers of hepatic diseases in human[J]. Biomarkers,2019,24(2):103-109.
- [32] Wang GY,Dong FL,Xu ZY,et al. MicroRNA profile in HBV-induced infection and hepatocellular carcinoma[J]. BMC Cancer,2017,17(1):805.
- [33] Mjelle R,Dima SO,Bacalbasa N,et al. Comprehensive transcriptomic analyses of tissue,serum,and serum exosomes from hepatocellular carcinoma patients[J]. BMC Cancer,2019,19(1):1007.
- [34] Xu H,Dong XY,Chen YM,et al. Serum exosomal hnRNPH1 mRNA as a novel marker for hepatocellular carcinoma[J]. Clin Chem Lab Med,2018,56(3):479-484.
- [35] Zhang YG,Xi HZ,Nie X,et al. Assessment of mir-212 and other biomarkers in the diagnosis and treatment of hbv-infection-related liver diseases[C]. Curr Drug Metab,2019,20(10):785-798.
- [36] Lattanzi L,Federico M. A strategy of antigen incorporation into exosomes:comparing cross-presentation levels of antigens delivered by engineered exosomes and by lentiviral virus-like particles [J]. Vaccine,2012,30(50):7229-7237.
- [37] Di Bonito P,Ridolfi B,Columba-Cabezas S,et al. HPV-E7 delivered by engineered exosomes elicits a protective CD8⁺ T cell-mediated immune response[J]. Viruses,2015,7(3):1079-99.
- [38] Seeger C,Mason WS. Molecular biology of hepatitis B virus infection[J]. Virology,2015,479-480:672-686.
- [39] Ferrantelli F,Manfredi F,Chiozzini C,et al. DNA vectors generating engineered exosomes potential ctl vaccine candidates against aids, hepatitis b,and tumors[J]. Mol Biotechnol,2018,60(11):773-782.
- [40] Jesus S,Soares E,Cruz MT,et al. Exosomes as adjuvants for the recombinant hepatitis B antigen: First report[J]. Eur J Pharm Biopharm,2018,133:1-11.