

• 论著 •

脑胶质瘤细胞外泌体对血管新生的影响及其机制

许乐宜¹ 张敏² 孔令军¹ 王静予¹ 费智敏¹

(1. 上海中医药大学附属曙光医院神经外科, 上海 201203; 2. 上海中医药大学, 上海 201203)

【摘要】 目的 探讨脑胶质瘤细胞外泌体对血管新生的影响及其机制。**方法** 差速离心法提取人脑胶质瘤细胞 U373 和 U87 以及脑胶质瘤细胞 HEB 所分泌的外泌体,透射电镜观察外泌体结构,Western blot 鉴定外泌体标志蛋白;将 0.2 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ 的外泌体和等体积 PBS 分别与人脐静脉内皮细胞 HUVECs 共孵育,CCK-8 法检测细胞增殖能力,Transwell 实验检测细胞迁移能力,小管形成实验检测体外血管生成,流式细胞术检测细胞凋亡水平,Western blot 检测凋亡蛋白 Bax、Caspase3、Caspase9、VEGF、VEGFR2 的表达及 AKT 的磷酸化水平。**结果** 提取的外泌体符合其特征;相比于 PBS 组,与 HEB-exo 共孵育后,HUVECs 增殖、迁移、小管形成、细胞凋亡均无显著变化($P>0.05$);而与 U373-exo 和 U87-exo 共孵育后 HUVECs 增殖、迁移、小管形成能力均显著提高($P<0.05$);细胞凋亡水平显著降低($P<0.001$),Bax、Caspase3、Caspase9 表达显著下降($P<0.001$),VEGF、VEGFR2 的表达以及 AKT 的磷酸化水平显著提高($P<0.001$)。**结论** 脑胶质瘤细胞外泌体能够激活调控 VEGF/AKT 信号通路而促进血管新生。

【关键词】 脑胶质瘤;外泌体;血管新生;机制

【中图分类号】 R739 **【文献标志码】** A **DOI:**10. 3969/j. issn. 1672-3511. 2022. 04. 003

The effect and mechanism of glioma cell exosomes on angiogenesis

XU Leyi¹, ZHANG Min², KONG Lingjun¹, WANG Jingyu¹, FEI Zhiming¹

(1. Department of Neurosurgery, Shuguang Hospital Affiliated to Shanghai University of

Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China;

2. Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China)

【Abstract】 Objective To investigate the effect of glioma cell exosomes on angiogenesis and its mechanism.
Methods Differential centrifugation was used to extract exosomes secreted by human glioma cells U373 and U87 and human glial cells HEB cells. The exosomes were observed by transmission electron microscopy, and the exosomes were identified by Western blot. 0.2 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ exosomes and equal volume of PBS were incubated with HUVECs, CCK-8 method was used to detect cell proliferation ability, Transwell test was used to detect cell migration ability, tubule formation experiment was used to detect angiogenesis in vitro, flow cytometry was used to detect apoptosis, Western blot The expression of apoptotic proteins Bax, Caspase3, Caspase9, the expression of VEGF, VEGFR2 and the phosphorylation level of AKT were detected by blot.
Results The exosomes extracted accorded with its characteristics. Compared with the PBS group, HUVECs had no significant changes in proliferation, migration, tubule formation, and apoptosis after co-incubation with HEB-exo; compared with U373-exo after incubation with U87-exo, HUVECs proliferation, migration, and tubule formation ability were significantly increased ($P<0.05$); apoptosis levels were significantly reduced ($P<0.001$), and Bax, Caspase3, and Caspase9 expressions were significantly decreased ($P<0.001$). The expression of VEGF, VEGFR2 and the phosphorylation level of AKT were significantly increased ($P<0.001$).
Conclusion Exosomes of glioma can activate VEGF/AKT signaling pathway and promote angiogenesis.

【Key words】 Glioma; Exosomes; Angiogenesis; Mechanism

脑胶质瘤是发病于成人中枢神经系统的原发性 实体瘤,占原发性中枢神经系统恶性肿瘤的 46.1%,

通信作者:费智敏,主任医师,硕士生导师,E-mail:afgkjfdsd@sohu.com

引用本文:许乐宜,张敏,孔令军,等.脑胶质瘤细胞外泌体对血管新生的影响及其机制[J].西部医学,2022,34(4):482-487. DOI:10. 3969/j. issn. 1672-3511. 2022. 04. 003

世界卫生组织(WHO)依据其病理特点将之分为 4 级,分别为 I 级、II 级、III 级和 IV 级,恶性程度最高的恶性肿瘤患者的 5 年生存率极低,且中位生存期仅为 12~15 个月,预后极差,其主要的治疗方法为手术切除及放化疗,但是外科手术难以完全切除肿瘤,并且手术后放化疗效果不佳,肿瘤复发严重^[1-2]。因此,深入探讨脑胶质瘤的发生发展机制从而寻找有效的治疗方法至关重要。抗血管新生是临床上肿瘤治疗的常用策略^[3],但是脑胶质瘤微环境中含有大量的异质性新生血管,临床上针对血管内皮生长因子(Vascular endothelial growth factor, VEGF)的药物,如贝伐单抗等对于其治疗效果并不佳^[4]。外泌体是一类由大多数活细胞分泌的纳米级囊泡,肿瘤细胞可分泌外泌体调控肿瘤微环境^[5-6],而脑胶质瘤细胞外泌体是否能够作用于 VEGF 而调控肿瘤血管新生尚无明确研究。因此,本研究探讨了脑胶质瘤外泌体对血管新生的影响及机制。

1 材料与方法

1.1 材料 人脑胶质瘤细胞株 U373、U87,人脐静脉内皮细胞 HUVEC,人脑胶质细胞 HEB(中科院上海生化细胞所),Transwell 小室、Matrigel 胶(福麦斯生物技术有限公司),细胞凋亡检测试剂盒(沈阳万类生物技术有限公司),Bax、Caspase3、Caspase9、VEGF、VEGFR2、p-AKT、AKT、GAPDH 一抗、山羊抗兔二抗(沈阳万类生物技术有限公司)。

1.2 细胞培养 取液氮保存的 HEB、U373、U87 细胞于 37℃ 水浴锅中迅速解冻,离心后重悬于含 10% 胎牛血清的 DMEM 高糖培养基中,于 37℃、5% CO₂ 培养箱中培养;HUVEC 细胞培养于含 10% 胎牛血清及 1% 的内皮细胞生长因子的 DMEM 高糖培养基中;当细胞生长至汇合率达 80% 时进行传代。

1.3 外泌体的提取与鉴定 将对数生长期的 HEB、U373、U87 细胞培养基更换为 10% 的无外泌体胎牛血清的 DMEM 培养基,培养 48 h 后收集细胞培养上清液,使用差速离心法提取细胞培养上清中外泌体,具体步骤:将上清液 3000×g,4℃ 离心 15 min 去除死细胞;然后将上清液 6000×g 离心 40 min,去除细胞碎片;10000×g 离心 1 h,取上清;100000×g 离心 1 h,收集沉淀即为外泌体,用 400 μL PBS 重悬外泌体,并放在 -80℃ 保存。使用透射电镜拍照观察外泌体的形态结构;将透射电镜所用的铜网平放到称量纸上,滴加 20 μL 外泌体溶液,红外灯下烘烤 10 min;烘干后再滴加 2 滴磷钨酸,继续烘烤 10 min,用滤纸吸走多余液体,透射电镜下观察外泌体结构并拍照。Western blot 鉴定外泌体标志蛋白的表达,具体步骤:

取 200 μL 外泌体加入 50 μL 的 RIPA 蛋白裂解液,于冰上裂解 30 min,12000×r,离心 15 min 后,取上清,即为外泌体总蛋白。采用 BCA 蛋白定量试剂盒进行蛋白定量,取外泌体蛋白裂解液进行 SDS-PAGE 凝胶电泳,经转膜,封闭后 CD9、CD63、TSG101 一抗孵育过夜,然后二抗孵育,洗膜后,曝光成像。

1.4 细胞迁移实验 用不含胎牛血清及血管内皮生长因子的 DMEM 培养基重悬 HUVEC 细胞,调整 HUVEC 细胞密度至 5×10⁴ 个/mL,并取 200 μL 上述 HUVEC 细胞接种至 Transwell 小室中,每个小室加入外泌体并使其终浓度为 0.2 μg/μL,每组 3 个复孔,小室放置于含有 600 μL 完全培养基的 24 孔板,使其底部完全浸入培养基中,并将 24 孔板置于 37℃、5% CO₂ 培养箱培养 24 h,取出小室用 PBS 清洗 3 次,小室倒扣,底部用甲醇固定 30 min,晾干后用结晶紫对小室底部染色 10 min,清洗并晾干后,在显微镜下观察拍照。

1.5 细胞增殖 取对数生长期的 HUVEC 细胞,调整细胞密度至 3×10⁴ 个/mL,于 96 孔板中每孔加入 100 μL 上述细胞稀释液,并且设置 24、48、72 h 时间梯度,按相同的方法平行接种 3 块相同的 96 孔板;96 孔板细胞完全贴壁后,每孔加入外泌体并使其终浓度为 0.2 μg/μL,然后将 3 块 96 孔板放置在培养箱中培养,分别于 24、48、72 h 后取出对应的 96 孔板,避光向每孔中加入 10 μL 的 CCK-8 试剂,继续在培养箱中培养 2 h,然后使用酶标仪在 450 nm 波长处检测每孔的吸光度,以空白组吸光度为背景值。

1.6 小管形成实验 4℃ 条件下融化 Matrigel 胶,96 孔板中每孔加入 50 μL Matrigel 胶,轻轻摇晃 96 孔板,使 Matrigel 胶均匀覆盖于 96 孔板底部,37℃ 培养箱中放置 30 min,使 Matrigel 胶充分凝固。取对数生长期的 HUVEC 细胞,调整细胞密度至 3×10⁵ 个/mL,于 96 孔板中每孔加入 100 μL 细胞稀释液,然后每孔加入外泌体并使其终浓度为 0.2 μg/μL,每组 3 个复孔,于 37℃、5% CO₂ 培养箱中培养 6 h,然后在显微镜下观察并拍照,使用 Image J 软件计算小管形成。

1.7 细胞凋亡 取 3×10⁵ 个对数生长期的 HUVEC 细胞接种于 6 孔板中,每孔加入外泌体并使其终浓度为 0.2 μg/μL,每组 3 个复孔,共孵育 48 h 后进行细胞凋亡检测。根据细胞凋亡检测试剂盒,每孔取 5×10⁵ 个 HUVEC 细胞于离心管中,用 500 μL 的 Binding Buffer 重悬细胞成单细胞悬液,而后添加 5 μL 的 Annexin V-FLTC 和 5 μL 的 PI 染料,混匀后室温避光孵育 15 min,并设置 Annexin V-FLTC 和 PI 单阳性管用于调荧光补偿,空白管用于调电压。使用流式

细胞仪检测上述各样品的荧光值,使用 FlowJo v5.5.73 软件分析细胞凋亡数。

1.8 Western blot 检测蛋白水平 取 3×10^5 个对数生长期的 HUVEC 细胞接种于 6 孔板中,每孔加入外泌体并使其终浓度为 $0.2 \mu\text{g}/\mu\text{L}$,每组 3 个复孔,共孵育 48 h 后,每孔细胞加入 $120 \mu\text{L}$ 的 RIPA 蛋白裂解液和 $1.2 \mu\text{L}$ 的 PMSF 蛋白酶抑制剂,冰上裂解 30 min 后 $12000 \times g$, 4°C 离心 10 min,取上清,即为细胞总蛋白。BCA 蛋白定量后蛋白沸水浴加热变性,然后进行 SDS-PAGE 凝胶电泳,转膜,用 5% 的脱脂牛奶对 PVDF 膜封闭 2 h,然后以 1:1000 比例稀释后的 VEGF、GAPDH 一抗 4°C 孵育过夜, TBST 洗膜后二抗室温孵育 1.5 h,再用 TBST 洗膜后按照 ECL 试剂盒说明书配置发光液,并将 PVDF 膜浸入发光液中反应 30 s,曝光并拍照,用 Image J 软件对曝光结果进行定量分析。

1.9 统计学分析 采用 SPSS22.0 软件进行统计学分析,计量资料以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,多组间差异使用方差分析(one-way ANOVA),两组间比较采用 LSD 法。 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 外泌体鉴定结果 透射电镜观察外泌体结构显示,外泌体具有双层膜结构,形态呈“杯托”状,粒径在 $50 \sim 100 \text{ nm}$,符合外泌体的形态结构,见图 1; Western blot 检测结果显示,提取的外泌体表达标志蛋白 CD63、CD9、Alix,见图 2。

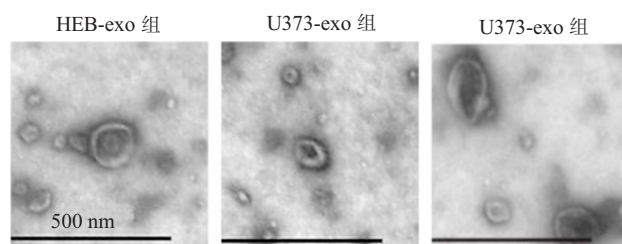


图 1 透射电镜观察外泌体形态结构

Figure 1 Observation of the morphology and structure of exosomes by transmission electron microscope

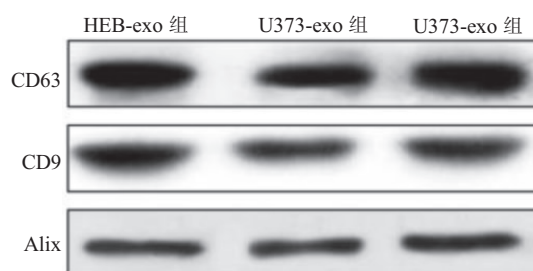


图 2 Western blot 检测 CD63、CD9、Alix 表达

Figure 2 Western blot was used to detect CD63, CD9 and Alix expression

2.2 脑胶质瘤外泌体促进 HUVEC 迁移能力 细胞迁移检测结果显示,HEB-exo 组 HUVEC 细胞迁移数目与 PBS 组比较差异无统计学意义($P > 0.05$); U373-exo 和 U87-exo 组 HUVEC 细胞迁移数目显著高于 PBS 组($P < 0.05$),见图 3。说明脑胶质瘤外泌体能够显著促进 HUVEC 细胞迁移能力。

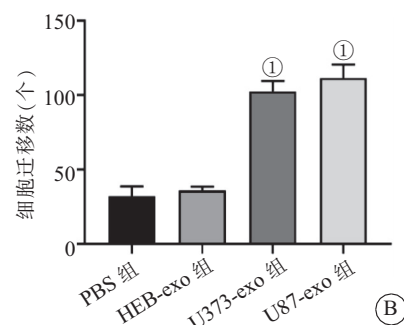
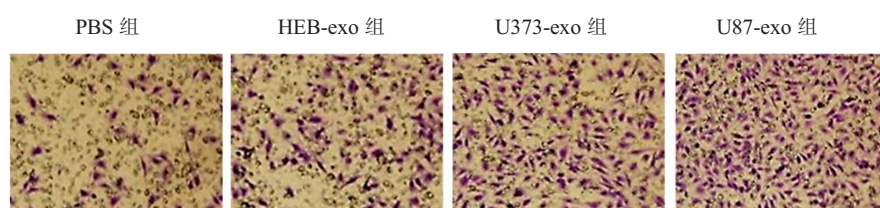


图 3 各组 HUVEC 细胞迁移数目比较

Figure 3 Comparison of HUVEC cell migration number in each group

注:A. HUVEC 细胞迁移图;B. HUVEC 细胞迁移图数。与 PBS 组相比,① $P < 0.001$

2.3 脑胶质瘤外泌体促进 HUVEC 细胞增殖能力 CCK-8 法检测细胞增殖能力结果显示,相比于 PBS 组,HEB-exo 组 HUVEC 细胞增殖能力无显著变化($P > 0.05$);而 U373-exo 和 U87-exo 组 HUVEC 细胞 24、48、72 h 增殖能力显著高于 PBS 组(均 $P < 0.05$),见图 4。这提示脑胶质瘤外泌体能够显著促进 HUVEC 细胞增殖能力,从而促进血管新生。

2.4 脑胶质瘤外泌体促进 HUVEC 细胞小管形成 小管形成实验结果显示,HEB-exo 组 HUVEC 小管形成与 PBS 组比较差异无统计学意义($P > 0.05$),而 U373 和 U87 细胞所分泌的外泌体能够显著促进 HUVEC 细胞体外小管形成($P < 0.001$),见图 5。这说明脑胶质瘤外泌体能够显著促进体外小管形成。

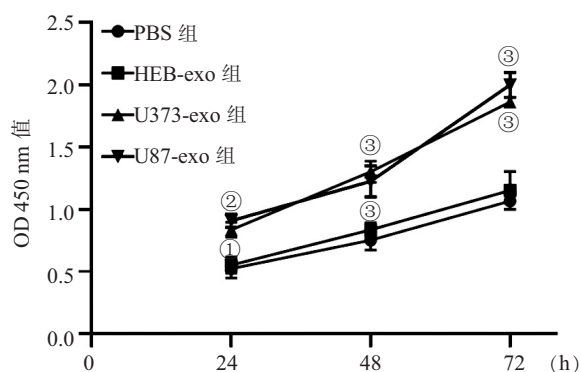


图 4 CCK-8 法检测脑胶质瘤外泌体对 HUVEC 增殖能力的影响

Figure 4 CCK-8 method to detect the effect of glioma exosomes on the proliferation of HUVEC

注:与 PBS 组相比,① $P<0.05$,② $P<0.01$,③ $P<0.001$

2.5 脑胶质瘤外泌体抑制 HUVEC 细胞凋亡 流式细胞术检测结果显示,HEB-exo 组 HUVEC 细胞凋亡率与 PBS 组比较差异无统计学意义($P>0.05$); U373-exo 和 U87-exo 组 HUVEC 细胞凋亡率均显著低于 PBS 组(均 $P<0.01$),见图 6。Western blot 检测结果显示, U373-exo 和 U87-exo 组 HUVEC 细胞促凋亡蛋白 Bax、Caspase3、Caspase9 表达水平均显著低于 PBS 组($P<0.001$),见图 7。说明脑胶质瘤外泌体能够显著抑制抑制促凋亡蛋白的表达而抑制 HUVEC 细胞凋亡。

2.6 脑胶质瘤外泌体对 VEGF 信号通路的影响

Western blot 检测结果显示,相比于 PBS 组, HEB-exo 组 HUVEC 细胞 VEGF、VEGFR2 表达水平及

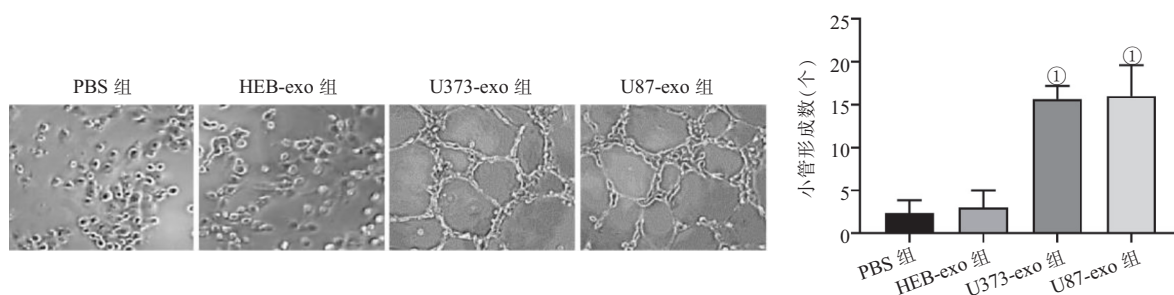


图 5 小管形成实验检测脑胶质瘤外泌体对小管形成的影响

Figure 5 Tubule formation experiment to detect the effect of glioma exosomes on tubule formation

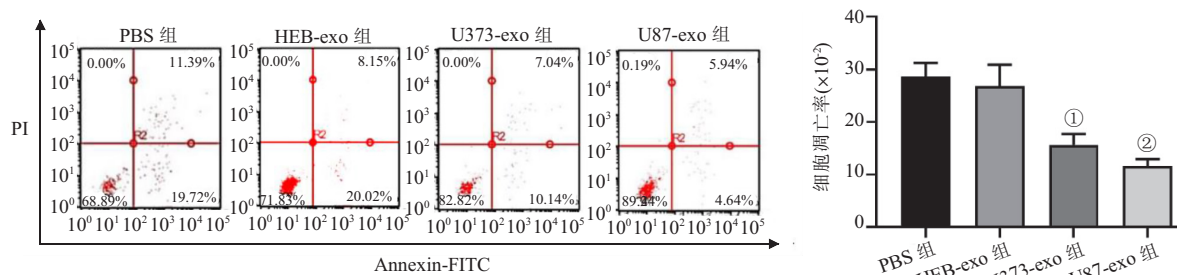
注:与 PBS 组相比,① $P<0.001$ 

图 6 流式细胞术检测脑胶质瘤外泌体对 HUVEC 凋亡的影响

Figure 6 Flow cytometry to detect the effect of glioma exosomes on HUVEC apoptosis

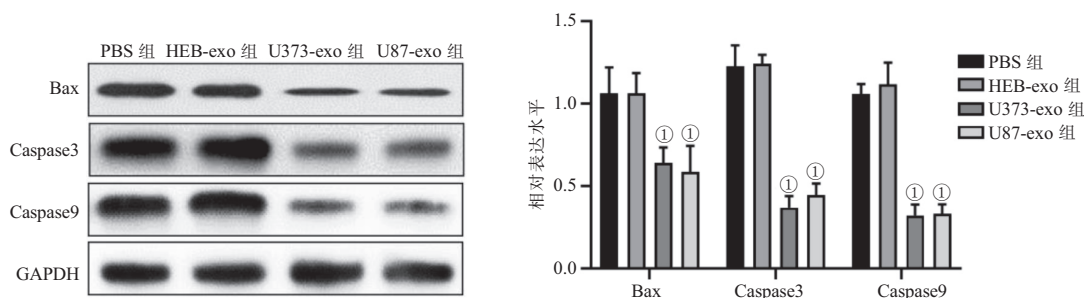
注:与 PBS 组相比,① $P<0.01$,② $P<0.001$ 

图 7 Western blot 检测脑胶质瘤外泌体对凋亡蛋白表达的影响

Figure 7 Western blot to detect the effect of brain glioma exosomes on the expression of apoptotic proteins

注:与 PBS 组相比,① $P<0.001$

AKT 磷酸化水平比较差异均无统计学意义 ($P > 0.05$); 而 U373-exo 和 U87-exo 组 HUVEC 细胞 VEGF、VEGFR2 表达水平显著高于 PBS 组 ($P < 0.001$), AKT 磷酸化水平亦显著高于 PBS 组 ($P <$

0.001), 见图 8。说明脑胶质瘤外泌体能够促进 VEGF、VEGFR2 的表达进而激活促血管生成的 AKT 信号通路。

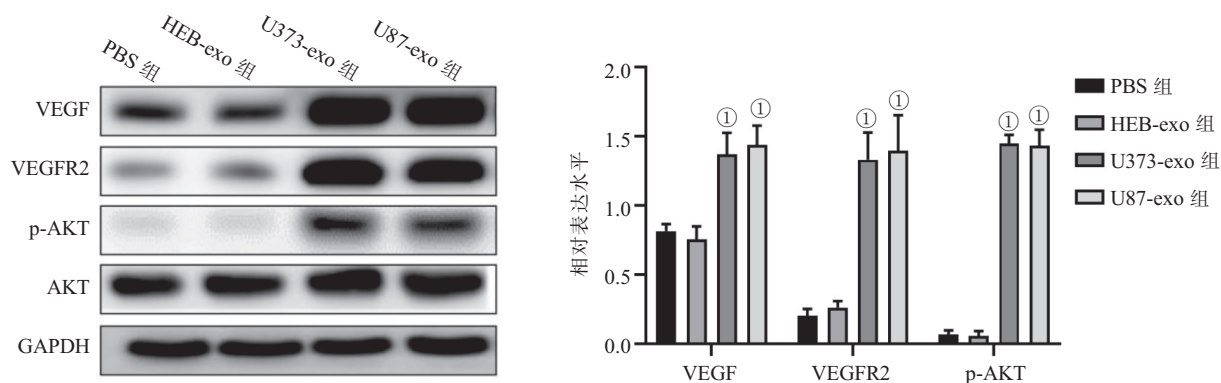


图 8 Western blot 检测脑胶质瘤外泌体对 VEGF 信号通路的影响

Figure 8 Western blot to detect the effect of glioma exosomes on the VEGF signaling pathway

注:与 PBS 组相比,① $P < 0.001$

3 讨论

脑胶质瘤是一般来自于原始胚胎神经细胞或者为其他神经胶质细胞在颅内的原发肿瘤,临床上脑胶质瘤的主要治疗手段有手术治疗及放、化疗等^[7-8],但由于脑胶质瘤血管密集,血运丰富,肿瘤细胞的浸润性极高,不能准确区分肿瘤组织的边界,为外科手术的治疗带来了极大的挑战,所以探究脑胶质瘤血管新生的机制,对于提高脑胶质瘤的治疗效果至关重要^[9-10]。肿瘤微环境中的血管新生不仅可以为肿瘤的生长提供氧气和营养物质,还参与肿瘤细胞的远端转移以及肿瘤的复发^[11]。血管新生在正常生理条件下受到严格的调控,只有在病理条件或者特殊的情况下才能够被激活,并且血管过度的生成以及缺陷都会导致疾病的发生、发展。正常生理条件下的大部分血管呈现发育成熟静止状态,但是血管内皮细胞仍具有对生理刺激产生应答反应而快速增殖和迁移的能力,在接受外界信号刺激后,血管内皮细胞启动增殖迁移的应答反应,开始血管新生的生理过程^[12-14]。外泌体是一种由细胞分泌的粒径在 30~100 nm 的纳米级囊泡,可包裹 RNA、蛋白质、脂质等生物活性物质,能够与靶细胞受体结合或水平传递生物活性物质而发挥生物学功能,包括血管新生、免疫逃逸、肿瘤耐药等^[15-18]。

已有研究^[19-21]表明,肿瘤外泌体具有调控血管新生的功能,例如卵巢癌外泌体 miR-205 能够诱导血管新生而促进肿瘤的转移,胃癌外泌体 miR-130a 可靶向血管内皮细胞 C-MYB 而诱导血管新生,宫颈鳞状

细胞癌外泌体 miR-221-3p 可靶向 THBS2 而诱导血管新生。本研究脑胶质瘤细胞 U373 和 U87 细胞所分泌的外泌体相比于正常脑胶质瘤细胞外泌体能够显著促进血管内皮细胞的增殖、迁移以及体外小管形成能力、抑制血管内皮细胞的凋亡能力,并且下调促凋亡蛋白 Bax、Caspase3、Caspase9 表达水平。说明脑胶质瘤细胞外泌体能够促进血管内皮细胞血管形成的能力。

血管新生受多种细胞因子的调控,如肿瘤坏死因子(Tumor Necrosis Factor, TNF)、VEGF、血管紧张素 I/II (Angiotensin, Ang I/II) 等^[22-24]。其中,VEGF 是属于血小板源性生长因子家族超家族之一,是促血管活性因子中活性最强、特异性最高的血管生成因子,VEGF 与其受体特异性结合后能够激活酪氨酸激酶信号通路,促进血管内皮细胞的生长和增殖,诱导血管新生,并且增加血管的通透性,促进肿瘤的转移^[25]。脑胶质瘤细胞 U373 和 U87 细胞外泌体可促进促血管生成因子 VEGF 及其受体 VEGFR2 的表达,促血管新生的 PI3K/AKT 信号通路中 AKT 的磷酸化水平显著增加,PI3K/AKT 信号通路被激活。PI3K/AKT 信号通路是调控血管新生的重要通路,激活 PI3K/AKT 信号通路可诱导膀胱癌、皮肤癌、非小细胞肺癌等肿瘤的血管新生^[26-28]。本研究发现脑胶质瘤外泌体可调控 VEGF 表达和 PI3K/AKT 信号通路而促进血管新生。

4 结论

脑胶质瘤细胞 U373 和 U87 外泌体能够促进体

外血管新生,其机制为上调 VEGF 的表达,激活 PI3K/AKT 信号通路。

【参考文献】

- [1] YANG K, REN X, TAO L, *et al.* Prognostic implications of epidermal growth factor receptor variant III expression and nuclear translocation in Chinese human gliomas[J]. Chinese Journal of Cancer Research, 2019, 31(1): 188-202.
- [2] ZHAO J, HUANG S, XIE H, *et al.* An evidence-based approach to evaluate the accuracy of amide proton transfer-weighted MRI in characterization of gliomas[J]. Medicine, 2019, 98(10): e14768.
- [3] 鲁美钰, 仲维兰, 司春枫, 等. 肿瘤血管生成机制及抗肿瘤血管新生的靶向药物研究进展[J]. 安徽医药, 2018, 22(5): 798-802.
- [4] 王海兰, 詹正宇, 冯苗, 等. 贝伐单抗治疗高级别脑胶质瘤的研究进展[J]. 中国肿瘤临床, 2013, (16): 1001-1004.
- [5] MILANE L, SINGH A, MATTHEOLABAKIS G, *et al.* Exosome mediated communication within the tumor microenvironment[J]. Journal of Controlled Release, 2015, 219(Complete): S0168365915300018.
- [6] CHANG-HONG L, MING-HUA W U, GUI-YUAN L I, *et al.* Tumor Cells-derived Exosome on Tumor Malignant Progression and Chemotherapy[J]. Chinese Journal of Biochemistry and Molecular Biology, 2014, 30(6): 526-532.
- [7] LI Q, GAO Z, WANG Q, *et al.* Glioma Segmentation Using a Novel Unified Algorithm in Multimodal MRI Images[J]. IEEE Access, 2018, PP(99): 1-1.
- [8] GOODE B, MONDAL G, HYUN M, *et al.* A recurrent kinase domain mutation in PRKCA defines chordoid glioma of the third ventricle[J]. Nat Commun, 2018, 9(1): 810-817.
- [9] HERVEY-JUMPER S L, BERGER M S. Insular glioma surgery: an evolution of thought and practice[J]. J Neurosurg, 2019, 130(1): 9-16.
- [10] REIFENBERGER G, WIRSCHING H G, KNOBBE-THOMSEN C B, *et al.* Advances in the molecular genetics of gliomas: implications for classification and therapy[J]. Nat Rev Clin Oncol, 2017, 14(7): 434-452.
- [11] HINSHAW D C, SHEVDE L A. The Tumor Microenvironment Innately Modulates Cancer Progression[J]. Cancer Res, 2019, 79(18): 4557-4566.
- [12] TODOROVA D, SIMONCINI S, LACROIX R. Extracellular Vesicles in Angiogenesis[J]. Circ Res, 2017, 120(10): 1658-1673.
- [13] WU L, CHEN L, LI L. Apelin/APJ system: A novel promising therapy target for pathological angiogenesis[J]. Clin Chim Acta, 2017, 466: 78-84.
- [14] VIALARD C, LARRIVÉE B. Tumor angiogenesis and vascular normalization: alternative therapeutic targets[J]. Angiogenesis, 2017, 20(4): 409-426.
- [15] SEO N, AKIYOSHI K, SHIKU H. Exosome-mediated regulation of tumor immunology[J]. Cancer Sci, 2018, 109(10): 2998-3004.
- [16] WORTZEL I, DROR S, KENIFIC C M, *et al.* Exosome-Mediated Metastasis: Communication from a Distance[J]. Dev Cell, 2019, 49(3): 347-360.
- [17] MASHOURI L, YOUSEFI H, AREF A R, *et al.* Exosomes: composition, biogenesis, and mechanisms in cancer metastasis and drug resistance[J]. Mol Cancer, 2019, 18(1): 75-88.
- [18] OLEJARZ W, KUBIAK-TOMASZEWSKA G, CHRZANOWSKA A, *et al.* Exosomes in Angiogenesis and Anti-angiogenic Therapy in Cancers[J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(16): 5840-5864.
- [19] HE L, ZHU W, CHEN Q, *et al.* Ovarian cancer cell-secreted exosomal miR-205 promotes metastasis by inducing angiogenesis[J]. Theranostics, 2019, 9(26): 8206-8220.
- [20] YANG H, ZHANG H, GE S, *et al.* Exosome-Derived miR-130a Activates Angiogenesis in Gastric Cancer by Targeting C-MYB in Vascular Endothelial Cells[J]. Mol Ther, 2018, 26(10): 2466-2475.
- [21] WU X G, ZHOU C F, ZHANG Y M, *et al.* Cancer-derived exosomal miR-221-3p promotes angiogenesis by targeting THBS2 in cervical squamous cell carcinoma[J]. Angiogenesis, 2019, 22(3): 397-410.
- [22] CARMELIET P. Mechanisms of angiogenesis and arteriogenesis[J]. Nature Medicine, 2000, 6(4): 389-395.
- [23] MU H Q, HE Y H, WANG S B, *et al.* MiR-130b/TNF- α /NF- κ B/VEGFA loop inhibits prostate cancer angiogenesis[J]. Clin Transl Oncol, 2020, 22(1): 111-121.
- [24] MELINCOVICI C S, BOŞCA A B, ŞUŞMAN S, *et al.* Vascular endothelial growth factor (VEGF) - key factor in normal and pathological angiogenesis[J]. Rom J Morphol Embryol, 2018, 59(2): 455-467.
- [25] CHEN J, FU Y, DAY D S, *et al.* VEGF amplifies transcription through ETS1 acetylation to enable angiogenesis[J]. Nature communications, 2017, 8(1): 383-395.
- [26] HOU T, ZHOU L, WANG L, *et al.* Leupaxin Promotes Bladder Cancer Proliferation, Metastasis, and Angiogenesis Through the PI3K/AKT Pathway[J]. Cell Physiol Biochem, 2018, 47(6): 2250-2260.
- [27] CHAMCHEU J C, ROY T, UDDIN M B, *et al.* Role and Therapeutic Targeting of the PI3K/Akt/mTOR Signaling Pathway in Skin Cancer: A Review of Current Status and Future Trends on Natural and Synthetic Agents Therapy[J]. Cells, 2019, 8(8): 803-835.
- [28] ZHOU Y, LI S, LI J, *et al.* Effect of microRNA-135a on Cell Proliferation, Migration, Invasion, Apoptosis and Tumor Angiogenesis Through the IGF-1/PI3K/Akt Signaling Pathway in Non-Small Cell Lung Cancer[J]. Cell Physiol Biochem, 2017, 42(4): 1431-1446.

(收稿日期: 2021-03-02; 修回日期: 2021-06-07; 编辑: 黎仕娟)