【基础研究】

血浆外泌体微 RNA-21 对弥漫大 B 细胞淋巴瘤细胞生长和转移的影响

李　丹，李　娜，梁　英，李洵婷，曹苏娟*
（湘南学院附属医院肿瘤科，湖南郴州 423000）

摘要：目的 探讨血浆外泌体中微 RNA（micro RNA，miR）-21 对弥漫性大 B 细胞淋巴瘤（diffuse large B-cell lymphoma，DLBCL）细胞生长和转移的影响及机制。**方法** 提取并鉴定 DLBCL 患者血浆外泌体，将 U2932 细胞分为 miR-21 模拟阴性对照（mimic negative control，NC）组、miR-21 组、miR-21 ＋人第 10 号染色体缺失的磷酸酶及张力蛋白同源（phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome ten，PTEN）组、磷酸盐缓冲液（phosphate buffer solution，PBS）组、DLBCL 患者外泌体组、DLBCL 患者外泌体＋ miR-21 抑制剂组（A 组）以及 DLBCL 患者外泌体＋ PTEN 组（B 组）。采用实时荧光定量聚合酶链反应检测 U2932 细胞中 miR-21 表达；采用双荧光素酶验证 miR-21 与 PTEN 的靶向关系；采用细胞计数试剂盒 -8 和 Transwell 检测各组 U2932 细胞增殖、迁移和侵袭能力。**结果** DLBCL 患者外泌体为双层膜，且形态呈“茶托”样，粒径 30 ～ 100 nm，表面表达标志蛋白肿瘤易感基因 101、分化抗原 9 以及热激蛋白 70。双荧光素酶结果显示 *PTEN* 为 miR-21 的靶基因。与 miR-NC 组相比，miR-21 组 U2932 细胞的增殖、迁移和侵袭能力显著增强（$P < 0.05$）；与 miR-21 组比较，miR-21 ＋ PTEN 组 U2932 细胞增殖、迁移和侵袭能力均降低（$P < 0.05$）。与 PBS 组比较，DLBCL 患者血浆外泌体组 U2932 细胞中 miR-21 表达增加，细胞增殖、迁移和侵袭能力增强（$P < 0.05$）；A、B 组 U2932 细胞增殖、迁移和侵袭能力低于 DLBCL 患者血浆外泌体组（$P < 0.05$）。**结论** 血浆外泌体 miR-21 可抑制 PTEN，促进 U2932 细胞的增殖、迁移和侵袭。

关键词：血浆外泌体；微 RNA-21；弥漫大 B 细胞淋巴瘤；生长和转移
中图分类号：R733.4　　**文献标志码：**A　　**文章编号：**1672-9188（2024）01-0011-07
DOI：10.13683/j.wph.2024.01.003

Effects of plasma exosomal micro RNA-21 on the growth and metastasis of diffuse large B-cell lymphoma cells

LI Dan, LI Na, LIANG Ying, LI Xunting, CAO Sujuan*
（*Department of Oncology, Affiliated Hospital of Xiangnan University, Chenzhou 423000, Hunan Province, China*）

Abstract: ***Objective*** To investigate the effects of plasma exosomal micro RNA（miR）-21 on the growth and metastasis of diffuse large B-cell lymphoma（DLBCL） cells and its mechanism. ***Methods*** Extraction and identification of plasma exosomes from DLBCL patients. U2932 cells were divided into miR-21 mimic negative control（NC） group, miR-21 group, miR-21＋phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome ten（PTEN） group, phosphate buffer solution（PBS） group, DLBCL exosome group, DLBCL exosome＋miR-21 inhibitor group（A group）, DLBCL exosome＋PTEN group（B group）. Real time fluorescent quantitative polymerase chain reaction was used to detect miR-21 expression in U2932 cells. Dual luciferase was used to verify the targeting relationship between miR-21 and PTEN. The proliferation, migration and invasion ability of U2932 cells were detected by cell counting kit-8 and Transwell assay. ***Results*** The exosomes of DLBCL patients had a bilayer membranes with a "saucer-like" shape, with a particle size of 30～100 nm. The marker proteins tumor susceptibility gene 101, cluster of differentiation 9 and heat shock protein 70 were expressed on the surface. Dual luciferase

收稿日期：2022-10-18；**修回日期：**2023-09-08
作者简介：李丹，副主任医师，研究方向：淋巴瘤、骨髓瘤诊治。
通信作者：曹苏娟，主任医师，研究方向：肿瘤免疫微环境。
基金项目：湖南省自然科学基金委员会项目（2021JJ40916）

reporter gene assay showed that *PTEN* was the target gene of miR-21. Compared with the miR-NC group, the proliferation, migration and invasion abilities of the U2932 cells in the miR-21 group were significantly increased ($P<0.05$). Compared with miR-21 group, the proliferation, migration and invasion ability of U2932 cells in miR-21+PTEN group were significantly decreased ($P<0.05$). Compared with PBS group, the expression of miR-21 in plasma exosome U2932 cells of DLBCL patients was significantly increased, and cell proliferation, migration and invasion were significantly enhanced ($P<0.05$). The proliferation, migration and invasion ability of U2932 cells in A and B groups were significantly lower than those in the plasma exosome group of DLBCL patients ($P<0.05$). ***Conclusion*** The plasma exosome miR-21 promotes the proliferation, migration and invasion of U2932 cells by inhibiting PTEN.

Key words: plasma exosome; micro RNA-21; diffuse large B-cell lymphoma; growth and metastasis

弥漫性大B细胞淋巴瘤（diffuse large B-cell lymphoma，DLBCL）是一种常见的淋巴系统恶性肿瘤，侵袭性高，随着化疗联合免疫治疗的发展，其临床疗效显著提高，但仍有约30%的患者死于DLBCL[1]，故需探究更多DLBCL发展的机制，发现更多用于DLBCL治疗和诊断的新靶点。

外泌体是具有肿瘤临床诊断和治疗潜力的纳米级囊泡，外泌体可调控肝癌、肺癌以及DLBCL等肿瘤的病理发展[2—3]。在DLBCL中，外泌体可直接与肿瘤细胞接触并调控其生物学行为[4]。外泌体也可通过血液循环而向远端的靶组织和器官运输DNA、长链非编码RNA（long non-coding RNA，lncRNA）以及微RNA（micro RNA，miR）等多种遗传物质，其中miR是被研究最为广泛的，其具有肿瘤诊断和治疗的潜力[5]。研究表明，血清中miR-21高表达与DLBCL预后不良密切相关，是评估患者预后的新潜在标志物[6]；同时抑制miR-21可调控DLBCL的生长和转移能力[7]。但血液外泌体中miR-21对DLBCL细胞生物学行为的影响尚无相关报道，本研究通过探讨DLBCL患者血浆外泌体中miR-21的调控功能及机制，旨在为DLBCL的临床研究提供帮助。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

选取2020年5月至2021年5月我院初次诊断为DLBCL的患者10例，男性7例，女性3例，年龄为35～67岁，纳入标准：①符合《中国淋巴瘤治疗指南（2021年版）》[8]中DLBCL诊断标准。②经免疫组化染色、病理组织学确诊为ABC型DLBCL，符合2017版《WHO造血与淋巴组织肿瘤病理学和遗传学》[9]分型标准。③国际预后指数（international prognostic index，IPI）[10]评分2～4分。④霍奇金淋巴瘤分期（Ann Arbor分期系统）为Ⅰ～Ⅲ期者[10]。所有受试者均签署知情同意书，并经医院医学伦理委员会批准通过（20200215）。另外自中国科学院上海细胞库购得人DLBCL细胞U2932进行研究。

细胞计数试剂盒（cell counting kit，CCK）-8（C6005-50000T）购自北京博知源生物科技有限公司；TRIzol试剂盒（15596018）和Lipofectamine 2000转染试剂盒（11668019）购自美国Invitrogen公司；反转录试剂盒（K1622）购自赛默飞世尔（中国）；2×SYBR Green定量聚合酶链反应（quantitative polymerase chain reaction，qPCR）MasterMix试剂盒（SR1110）、双荧光素酶报告基因检测试剂盒（D0010）均购自北京索莱宝生物科技有限公司；Hieff快速外泌体提取分离试剂盒（41202ES）购自上海翊圣生物科技有限公司；肿瘤易感基因101（tumor susceptibility gene 101，*TSG101*，ab225877）、分化抗原（cluster of differentiation，CD）9（ab223052）、热休克蛋白70（heat shock protein 70，HSP70，ab31010）、人第10号染色体缺失的磷酸酶及张力蛋白同源（phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome ten，PTEN，ab79156）、甘油醛-3-磷酸脱氢酶（glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase，

GAPDH）抗体和山羊抗兔二抗购自 Cell Signaling Technology 公司。离心机（H1650-W）购自购自湖南湘仪实验室仪器开发有限公司；磷酸盐缓冲液（phosphate buffer solution，PBS）购自北京索莱宝生物科技有限公司；透射电镜（HT7700）购自日立分析仪器（上海）有限公司；免疫印迹（western blot，WB）检测试剂盒（KGP1201），10% 胎牛血清（fetal bovine serum，FBS）和 RPMI 1640 培养基购自购自江苏凯基生物技术有限公司；放射免疫沉淀法（radio immunoprecipitation assay，RIPA）裂解液购自沈阳万类生物技术有限公司；外泌体抽提试剂 41202-A 购自翌圣生物科技（上海）股份有限公司；miR-21 和 PTEN 引物序列由广州锐博公司合成；miR-21 模拟物和抑制物及阴性对照均购自上海艾博思生物科技有限公司；PTEN 质粒（QC6763）购自上海钦诚生物科技有限公司。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养

将 U2932 细胞培养于含 10 ml/dl FBS 的 RPMI 1640 培养基中，显微镜下观察到细胞生长至密度约 90% 时，消化并传代培养。

1.2.2 细胞转染与分组

收集对数生长期 U2932 细胞，胰酶消化，以 5×10^5/ 孔接种于 6 孔板常规培养，待细胞生长融合至 80% 时进行转染，参照 Lipofectamine 2000 转染试剂盒说明书将 miR-21 模拟阴性对照（mimic negative control，NC）、miR-21 模拟物、miR-21 模拟物＋ PTEN 质粒、10 μg/ml PBS 缓冲液、10 μg/ml DLBCL 患者血浆外泌体、10 μg/ml DLBCL 患者血浆外泌体＋ PTEN 质粒、10 μg/ml DLBCL 患者血浆外泌体＋ miR-21 抑制物分别转染至 U2932 细胞中，5% 二氧化碳培养箱孵育 48 h，获得稳定表达的细胞株。将转染后的细胞分别设为 miR-NC 组、miR-21 组、miR-21 ＋ PTEN 组、PBS 组、DLBCL 患者外泌体组及 DLBCL 患者血浆外泌体＋ PTEN 组（A 组）和 DLBCL 患者血浆外泌体＋ miR-21 抑制剂组（B 组），收集各组细胞用于后续试验。

1.2.3 双荧光素酶报告基因试验

通过 miRDB 数据库（http://www.mirdb.org/）预测 miR-21 与 PTEN 的结合位点，构建包含 miR-21 结合位点在内的 PTEN 野生型（wild type，WT）和突变型（mutant，MUT）荧光素酶报告质粒，后按照 Lipofectamine 2000 转染试剂盒说明书将 PTEN WT 质粒、PTEN MUT 质粒分别与 miR-NC 和 miR-21 模拟物转染至 U2932 细胞，记为 PTEN WT ＋ miR-NC 组、PTEN WT ＋ miR-21 组及 PTEN MUT ＋ miR-NC 组、PTEN MUT ＋ miR-21 组，培养 48 h 后裂解细胞，将裂解液与荧光素酶底物一起孵育，检测其荧光强度，根据双荧光素酶报告基因试剂盒检测各组细胞荧光强度。

1.2.4 CCK-8 法检测细胞增殖情况

将转染后各组 U2932 细胞接种至 96 孔板，每孔 2×10^3 个细胞，每孔体积为 100 μl。细胞接种后置于 37 ℃、5% 二氧化碳条件下培养，在 0、24、48 以及 72 h 时，各孔加 10 μl CCK-8 溶液，孵育 4 h，用酶标仪检测 450 nm 条件下的吸光度（optical density，OD）值。

1.2.5 Transwell 小室法检测细胞迁移和侵袭能力

细胞迁移检测：用 RPMI-1640 将转染后的各组 U2932 细胞稀释至 1×10^5 个 /ml，每个 Transwell 小室中加入 100 μl 稀释后的 U2932 细胞并放在含有 600 μl RPMI 1640 完全培养基的 24 孔板中，于 37 ℃、5% 二氧化碳培养 48 h，取出小室，擦去小室内未迁移或侵袭的细胞，底部分别用无水甲醛固定 30 min，结晶紫染色 10 min，清洗晾干，拍照，使用 photoshop 软件计数工具统计细胞迁移数。细胞侵袭检测使用铺满 50 μl Matrigel 胶的 Transwell 小室，其余操作同迁移检测步骤。

1.2.6 实时荧光 qPCR（real time fluorescent quantitative polymerase chain reaction，RT-qPCR）

采用 TRIzol 试剂盒分别提取 PBS 组、DLBCL 患者外泌体组 U2932 细胞的总 RNA，按照反转录试

剂盒说明书合成互补 DNA，以此为模板配置 PCR 反应体系。根据 BlasTaq 2X qPCR MasterMix 试剂盒进行 RT-qPCR 反应，反应条件为 95 ℃预变性 3 min，95 ℃变性 1 min，60 ℃退火 35 s，72 ℃延伸 10 s，40 个循环。记录各孔 CT 值，U6 为内参，$2^{-\Delta\Delta Ct}$ 方法计算 miR-21 和 PTEN 的相对表达量。引物序列为，miR-21 正向：5'-CGCGGTAGCTTATCAGACTGATG-3'，反向：5'-CAGTGCAGGGTCCGAGGTG-3'；PTEN 正向：5'-ATAACTAATATACACAGGCTTCGGC-3'，反向：5'-CATGTCGTTTGAATCACGCTTCG-3'；U6 正向：5'-GCTTCGGCAGCACATATACTAAAAT-3'，反向：5'-CGCTTCACGAATTTGCG TGTCAT-3'。

1.2.7 WB 检测外泌体蛋白表达

用 RIPA 裂解液提取 DLBCL 患者血浆外泌体的总蛋白，进行聚丙烯酰胺凝胶电泳分离蛋白质，转膜，聚偏二氟乙烯膜用 5% 脱脂牛奶溶液封闭 2 h，与稀释后的 GAPDH（1 ∶ 5 000 稀释）、TSG101（1 ∶ 1 000 稀释）、CD9（1 ∶ 1 000 稀释）、HSP70（1 ∶ 1 000 稀释）以及 PTEN（1 ∶ 1 000 稀释）一抗 4 ℃孵育过夜，次日清洗 3 次，加入相应二抗孵育 1.5 h，清洗 3 次，根据化学发光试剂盒曝光并拍照。

1.2.8 血浆外泌体的提取及形态观察

抽取 DLBCL 患者外周血 3 ml 至抗凝管中，3 000 *g* 离心 5 min，根据 Hieff 快速外泌体提取分离试剂盒说明书，将血浆离心取上清，用 4 倍体积的 PBS 溶液稀释，加入与血浆等体积的 41202-A 试剂，静置 2 h，离心，所得沉淀用 PBS 溶液重悬，再次离心 2 min，所得沉淀即为血浆外泌体，透射电镜下观察外泌体的形态。

1.3 统计学方法

使用 GraphPad Prism7 进行统计分析，计数资料以（$\bar{x}\pm s$）表示，两组间比较采用独立样本 *t* 检验，多组间差异比较采用单因素方差分析，组间两两比较用 SNK-*q* 检验。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 双荧光素酶检测荧光素酶活性

通过 miRDB 网站检测结果显示，miR-21 与 PTEN 存在结合位点，见图 1。双荧光素酶检测结果显示，与 PTEN WT ＋ miR-NC 组比较，PTEN WT ＋ miR-21 组 U2932 细胞的荧光素酶活性降低，差异有统计学意义（$P<0.01$）；PTEN MUT ＋ miR-NC 组和 PTEN MUT ＋ miR-21 组 U2932 细胞荧光素酶活性差异无统计学意义（$P>0.05$），见表 1。

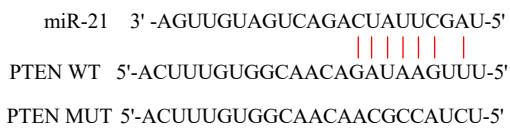


图 1 MiR-21 与 PTEN 结合位点预测

Figure 1 Prediction of binding sites of miR-21 and PTEN

表 1 双荧光素酶检测荧光素酶活性（$\bar{x}\pm s$）

Table 1 Results of luciferase activity by double luciferase assay（$\bar{x}\pm s$）

组别	荧光素酶活性	组别	荧光酶活性
PTEN WT＋miR-NC组	1.05±0.01	PTEN MUT＋miR-NC组	1.03±0.06
PTEN WT＋miR-21组	0.35±0.05	PTEN MUT＋miR-21组	1.01±0.17
*t*值	23.778	*t*值	0.192
*P*值	＜0.001	*P*值	0.856

2.2 MiR-21 和 PTEN 对 DLBCL 细胞增殖的影响

与 miR-NC 组比较，miR-21 组 U2932 细胞 OD 值升高，差异有统计学意义（$P<0.05$）；与 miR-21 组比较，miR-21 ＋ PTEN 组 U2932 细胞 OD 值下降，差异有统计学意义（$P<0.05$）；A 组和 B 组 U2932 细胞 OD 值均显著低于 DLBCL 患者外泌体组，差异有统计学意义（$P<0.05$），见表 2。

2.3 MiR-21 和 PTEN 对 U2932 细胞迁移、侵袭的影响

与 miR-NC 组比较，miR-21 组 U2932 细胞迁移、侵袭能力均升高，差异有统计学意义（$P<0.05$）；与 miR-21 组比较，miR-21 ＋ PTEN 组 U2932 细胞

表 2 各转染组 U2932 细胞 OD 值比较（$\bar{x}\pm s$）

Table 2 Comparison of OD value of U2932 cells in each transfection group（$\bar{x}\pm s$）

组别	OD值			
	0 h	24 h	48 h	72 h
miR-NC组	0.51±0.07	0.81±0.07	1.64±0.17	1.90±0.18
miR-21组	0.53±0.03	1.19±0.14*	2.27±0.23*	2.79±0.18*
miR-21＋PTEN组	0.55±0.05	0.74±0.09#	1.69±0.17#	2.03±0.21#
PBS组	0.53±0.03	0.93±0.05	1.52±0.14	1.93±0.19
DLBCL患者外泌体组	0.51±0.04	1.39±0.13▲	2.76±0.10▲	3.56±0.12▲
A组	0.55±0.06	1.10±0.02	1.77±0.16▼	2.20±0.15▼
B组	0.52±0.02	1.27±0.05	1.87±0.22▼	2.45±0.17▼
*F*值	0.399	22.523	18.676	36.656
*P*值	0.868	＜0.001	＜0.001	＜0.001

注：较miR-NC组，*P＜0.01；较miR-21组，#P＜0.01；较PBS组，▲P＜0.01；较 DLBCL 患者外泌体组，▼P＜0.01。

Note: *vs* miR-NC group, *P ＜ 0.01; *vs* miR-21 group, #P ＜ 0.01; *vs* PBS group, ▲P ＜ 0.01; *vs* DLBCL exosome group, ▼P ＜ 0.01.

迁移、侵袭能力均降低，差异有统计学意义（P＜0.05）；A 组和 B 组 U2932 细胞迁移、侵袭能力均低于 DLBCL 患者外泌体组，差异有统计学意义（P＜0.05），见表 3。

表 3 各转染组 U2932 细胞迁移和侵袭数比较（$\bar{x}\pm s$）

Table 3 Comparison of migration and invasion numbers of U2932 cells in each transfection group（$\bar{x}\pm s$）

组别	细胞迁移数/个	细胞侵袭数/个
miR-NC组	73.30±8.33	46.67±7.64
miR-21组	258.70±16.17*	218.00±13.08*
miR-21＋PTEN组	83.33±5.51#	60.35±4.16#
PBS组	64.67±13.65	31.05±3.61
DLBCL患者外泌体组	303.70±15.01▲	328.01±18.08▲
A组	60.04±6.02▼	86.21±8.54▼
B组	70.10±10.01▼	61.15±12.17▼
*F*值	249.723	322.017
*P*值	＜0.001	＜0.001

注：较miR-NC组，*P＜0.01；较miR-21组，#P＜0.01；较PBS组，▲P＜0.01；较 DLBCL 患者外泌体组，▼P＜0.01。

Note: *vs* miR-NC group, *P ＜ 0.01; *vs* miR-21 group, #P ＜ 0.01; *vs* PBS group, ▲P ＜ 0.01; *vs* DLBCL exosome group, ▼P ＜ 0.01.

2.4 外泌体中 miR-21 对 DLBCL 细胞中 miR-21 和 PTEN 表达的影响

与 PBS 组相比，DLBCL 患者外泌体组 U2932 细胞中 miR-21 相对表达升高，PTEN 相对表达降低，见表 4；DLBCL 患者外泌体组 U2932 细胞中 PTEN 蛋白表达显著降低，差异有统计学意义（P＜0.01），见图 2。

表 4 各转染组 U2932 细胞中 miR-21 和 PTEN 相对表达量比较（$\bar{x}\pm s$）

Table 4 Comparison of relative expression levels of miR-21 and PTEN in U2932 cells of different transfection groups（$\bar{x}\pm s$）

组别	miR-21相对表达量	PTEN相对表达量
PBS组	1.00±0.01	1.07±0.04
DLBCL患者外泌体组	3.41±0.52	0.59±0.07
*t*值	−8.026	10.312
*P*值	＜0.01	＜0.001

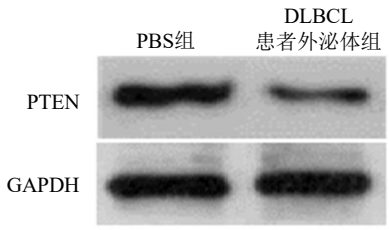


图 2 WB 检测转染外泌体的 U2932 细胞中 PTEN 蛋白表达

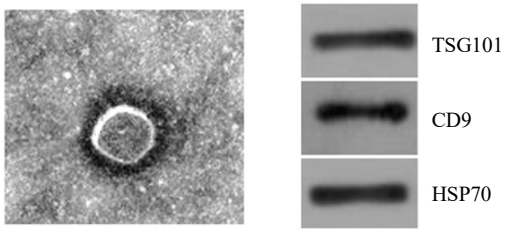
Figure 2 Results of PTEN protein expression in exosomal transfected U2932 cells by WB

2.5 血浆外泌体检测结果

透射电镜下观察，DLBCL 患者外泌体为双层膜，且形态呈“茶托”样，粒径在 30 ～ 100 nm，如图 3A 所示；WB 检测显示，DLBCL 患者外泌体表达标志蛋白 TSG101、CD9 以及 HSP70 均可见外泌体已成功从血浆中分离，见图 3B。

3 讨论

DLBCL 是一种恶性程度高、侵袭能力强的淋巴



注：A：透射电镜下观察 DLBCL 患者外泌体形态；
B：WB 检测 DLBCL 患者外泌体标志蛋白表达
Note: observation of exosomes morphology in DLBCL patients under transmission electron microscopy; B: The expression of exosomal marker protein in DLBCL patients detected by WB

图 3 血浆外泌体检测

Figure 3 Detection of plasma exosomes

系统恶性肿瘤。研究表明，约 40% 的 DLBCL 患者对目前的临床疗法存在抗性 [1]。外泌体广泛存在于体液中 [3]，本文观察到的 DLBCL 患者外泌体结构、粒径、形态以及标志蛋白等，均符合外泌体特征，可用于后续血浆外泌体的研究。

研究显示，外泌体是细胞间信号传递的重要载体，母细胞分泌的外泌体可通过体液运输至远端的靶组织和靶器官，发挥调控功能 [11]。外泌体 miR 被认为具有用于肿瘤诊疗的前景。Lakshmi 等 [12] 研究结果提示，外泌体 miR 可用于乳腺癌患者的预后评价。Hu 等 [13] 研究表明外泌体 miR 有望成为肺癌诊断和治疗的标志物。Najjary 等 [14] 研究表明，miR-21 通过调节细胞凋亡、细胞周期、DNA 损伤修复以及核因子 -κB 信号传导，在抗乳腺癌治疗耐药中发挥作用。Monteleone 等 [15] 研究表明，15- 羟基前列腺素脱氢酶与 miR-21 在结直肠癌患者中呈负相关，miR-21 水平升高与 15- 羟基前列腺素脱氢酶低表达相关。本研究结果显示，miR-21 可促进 DLBCL 细胞的生长和转移。宋国齐等 [16] 研究报道，ABC 型 DLBCL 细胞株中 miR-21 表达明显高于 GCB 型细胞株，miR-21 在转录水平后可对 PTEN、程序性细胞死亡因子 4 进行调控，参与 DLBCL 的发病。故本研究选择 ABC 型 DLBCL 患者血液样本。结合课题组前期研究结果为 DLBCL 血浆外泌体中 miR-21 高表达，将 DLBCL 血浆外泌体与 U2932 细胞共孵育后，显示 U2932 细胞中 miR-21 表达显著上调，说明 DLBCL 血浆外泌体可向 U2932 细胞转移 miR-21。

Wang 等 [17] 研究表明，*PTEN* 突变和 PTEN 表达缺失与 DLBCL 不良预后密切相关，Wu 等 [18] 研究结果显示，miR-425-5p 可通过靶向抑制 PTEN 的表达而促进 DLBCL 的生长。本研究结果表明，*PTEN* 为 miR-21 的靶基因，miR-21 可通过抑制 PTEN 表达促进 DLBCL 的生长和转移，且将 DLBCL 外泌体与 U2932 共孵育后，U2932 细胞的生长和转移能力均显著增强；转染 miR-21 抑制剂抑制 miR-21 表达后，U2932 细胞的生长和转移能力显著下降，说明 DLBCL 外泌体可通过转移 miR-21 促进 U2932 的生长和转移；将 U2932 细胞与 DLBCL 外泌体共孵育后转染 PTEN 过表达质粒，U2932 细胞的生长和转移能力显著下降，说明 DLBCL 外泌体中 miR-21 可通过调控 PTEN 表达影响 U2932 细胞的生长和转移。此外，Zhou 等 [19] 指出，血浆外泌体 miR-15a-5p 可作为子宫内膜癌早期检测标志物。Joković 等 [20] 研究表明，外泌体 miR-21 可作为前列腺癌诊断的标志物。本研究结果提示血浆外泌体 miR-21 也可能作为 DLBCL 诊断的标志物。因样本量较少，在之后的研究中，本课题组会扩大样本量，探究血浆外泌体 miR-21 表达与 DLBCL 的相关性。

4 结论

综上所述，DLBCL 患者血浆外泌体可通过转移 miR-21，促进 DLBCL 细胞的增殖、迁移和侵袭，其机制可能为 miR-21 靶向抑制抑癌基因 *PTEN* 的表达。

参考文献：

[1] Wright CM, Koroulakis AI, Baron JA, *et al*. Palliative radiotherapy for diffuse large B-cell lymphoma[J]. Clin Lymphoma Myeloma Leuk, 2021, 21(10): 650-658.

[2] Xie QH, Zheng JQ, Ding JY, *et al*. Exosome-mediated immunosuppression in tumor microenvironments[J]. Cells, 2022, 11(12): 1946.

[3] Dai J, Su Y, Zhong S, *et al*. Exosomes: key players in cancer and potential therapeutic strategy[J]. Signal Transduct Target Ther, 2020, 5(1): 145.

[4] Baris IC, Haci oglu S, Turk NS, *et al*. Expression and DNA methylation profiles of *EZH2*-target genes in plasma exosomes and matched primary tumor tissues of the patients with diffuse large B-cell lymphoma[J]. Clin Transl Oncol, 2021, 23(6): 1152-1166.

[5] Nafar S, Nouri N, Alipour M, *et al*. Exosome as a target for cancer treatment[J]. J Investig Med, 2022, 70(5): 1212-1218.

[6] Li J, Fu R, Yang L, *et al*. MiR-21 expression predicts prognosis in diffuse large B-cell lymphoma[J]. Int J Clin Exp Pathol, 2015, 8(11): 15019-15024.

[7] Chen L, Zhan CZ, Wang T, *et al*. Curcumin inhibits the proliferation, migration, invasion, and apoptosis of diffuse large B-cell lymphoma cell line by regulating miR-21/VHL axis[J]. Yonsei Med J, 2020, 61(1): 20-29.

[8] 中国抗癌协会淋巴瘤专业委员会, 中国医师协会肿瘤医师分会, 中国医疗保健国际交流促进会肿瘤内科分会. 中国淋巴瘤治疗指南(2021年版)[J]. 中华肿瘤杂志, 2021, 43(7): 707-735.

[9] Polyatskin IL, Artemyeva AS, Krivolapov YA. Revised WHO classification of tumors of hematopoietic and lymphoid tissues, 2017(4th edition): lymphoid tumors[J]. Arkh patol, 2019, 81(3). 59-65.

[10] 宋腾, 张亚瑞, 赵可, 等. 预后营养指数评估弥漫性大B细胞淋巴瘤患者预后的临床价值[J]. 中国肿瘤临床, 2019, 46(17): 903-908.

[11] Mashouri L, Yousefi H, Aref AR, *et al*. Exosomes: composition, biogenesis, and mechanisms in cancer metastasis and drug resistance[J]. Mol Cancer, 2019, 18(1): 75.

[12] Lakshmi S, Hughes TA, Priya S. Exosomes and exosomal RNAs in breast cancer: a status update[J]. Eur J Cancer, 2021, 144: 252-268.

[13] Hu C, Meiners S, Lukas C, *et al*. Role of exosomal microRNAs in lung cancer biology and clinical applications[J]. Cell Prolif, 2020, 53(6): e12828.

[14] Najjary S, Mohammadzadeh R, Mokhtarzadeh A, *et al*. Role of miR-21 as an authentic oncogene in mediating drug resistance in breast cancer[J]. Gene, 2020, 738: 144453.

[15] Monteleone NJ, Moore AE, Iacona JR, *et al*. MiR-21-mediated regulation of 15-hydroxyprostaglandin dehydrogenase in colon cancer[J]. Sci Rep, 2019, 9(1): 5405.

[16] 宋国齐, 顾玲, 何帮顺, 等. MicroRNA-21在弥漫大B细胞淋巴瘤中的表达及其意义[J]. 中国实验血液学杂志, 2014, 22(6): 1603-1609.

[17] Wang X, Cao X, Sun R, *et al*. Clinical significance of PTEN deletion, mutation, and loss of PTEN expression in de novo diffuse large B-cell lymphoma[J]. Neoplasia, 2018, 20(6): 574-593.

[18] Wu W, Chen L, Chen C, *et al*. MiRNA-425-5p enhances diffuse large B cell lymphoma growth by targeting PTEN[J]. Transl Cancer Res, 2021, 10(11): 4905-4913.

[19] Zhou L, Wang W, Wang F, *et al*. Plasma-derived exosomal miR-15a-5p as a promising diagnostic biomarker for early detection of endometrial carcinoma[J]. Mol Cancer, 2021, 20(1): 57.

[20] Joković SM, Dobrijević Z, Kotarac N, *et al*. MiR-375 and miR-21 as potential biomarkers of prostate cancer: comparison of matching samples of plasma and exosomes[J]. Genes(Basel), 2022, 13(12): 2320.

(编辑：沈佳婕)