

外泌体介导乳腺癌 MCF-7 细胞对多柔比星耐药性的机制

张如月, 李朵璐, 杨哲, 郭金秀, 周玉冰*

(郑州大学第一附属医院药学部, 河南省精准临床药学重点实验室, 河南 郑州 450052)

摘要: 本研究选用乳腺癌亲本细胞株 (MCF-7)、多柔比星 (doxorubicin) 耐药株 (MCF-7/Dox) 及多柔比星耐药株上清液共培养的敏感株 (MCF-7/Exo) 为模型, 探讨外泌体 (exosomes) 在乳腺癌细胞多柔比星耐药传递中的作用及初步分子机制。应用 CCK8 法和显微镜检测多柔比星对 MCF-7、MCF-7/Exo、MCF-7/Dox 细胞增殖活性的影响。通过荧光显微镜观察多柔比星对 3 种细胞凋亡的影响。超速离心法提取 3 种细胞上清液中的外泌体, 用透射电子显微镜、BCA 法、DiI 标记法检测外泌体的含量, Western blot 法检测外泌体特异分子 CD63 和 Flotillin-1 的表达水平。应用激光共聚焦显微镜观察 MCF-7 细胞对 MCF-7/Dox 细胞来源的外泌体的摄取情况。Western blot 检测 3 种细胞中多药耐药蛋白 (ATP-binding cassette subfamily B member 1, ABCB1) 的表达水平。细胞增殖活性检测显示, MCF-7/Exo 细胞对多柔比星的半数抑制浓度 (IC_{50}) 为 $0.83 \pm 0.09 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, 明显高于 MCF-7 细胞的 IC_{50} 值 $0.15 \pm 0.05 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ($P < 0.01$), 其耐药性提高了 5.5 倍。细胞凋亡检测显示, 多柔比星作用后, MCF-7 细胞明显发生凋亡 ($P < 0.001$), 而与耐药细胞上清共培养的 MCF-7/Exo 细胞凋亡不明显 ($P > 0.05$)。外泌体定量及特异性标记物检测显示, MCF-7/Exo 细胞的外泌体明显多于 MCF-7 细胞 ($P < 0.05$)。PKH67 示踪标记显示, MCF-7/Dox 细胞来源的外泌体可以被 MCF-7 摄取。Western blot 显示, MCF-7/Exo 细胞内 ABCB1 的表达水平明显高于 MCF-7。本研究结果表明, 多柔比星耐药乳腺癌细胞的外泌体可以向敏感细胞传递耐药性, 其机制可能与外泌体介导的 ABCB1 蛋白转运有关。

关键词: 外泌体; 乳腺癌; 耐药性; 多柔比星; 多药耐药蛋白

中图分类号: R966 文献标识码: A 文章编号: 0513-4870(2019)05-0861-06

Mechanisms of doxorubicin resistance of breast cancer MCF-7 cells mediated by exosomes

ZHANG Ru-yue, LI Duo-lu, YANG Zhe, GUO Jin-xiu, ZHOU Yu-bing*

(Department of Pharmacy, The First Affiliated Hospital, Zhengzhou University, Henan Key Laboratory for Precision Clinical Pharmacy, Zhengzhou 450052, China)

Abstract: This study aimed to explore the roles of exosomes in doxorubicin-resistance in breast cancer cells. Using breast cancer parental cell line (MCF-7), doxorubicin-resistant cell line (MCF-7/ADR) and sensitive cell line co-cultured with doxorubicin-resistant supernatant (MCF-7/EXO) as models, the effects of doxorubicin on proliferation or apoptosis of MCF-7, MCF-7/EXO and MCF-7/ADR cells were detected by CCK8, and light or fluorescent microscopy. Exosomes in the supernatants of cell culture were extracted by ultracentrifugation, and the quantity of exosomes was determined by transmission electron microscopy, BCA and DiI labeling assay. Expression levels of exosome-specific biomarkers CD63 and Flotillin-1 were detected by Western blot. The uptake of MCF-7/ADR cell-derived exosomes by MCF-7 cells was observed by laser confocal microscopy. Western blot was used to detect the expression levels of multidrug resistance protein ATP-binding cassette subfamily B member 1 (ABCB1) in all three cell strains. Cell proliferation assays showed that IC_{50} of MCF-7/EXO cells to doxorubicin

收稿日期: 2018-11-13; 修回日期: 2018-11-30.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81402266); 河南省科技攻关计划项目 (162102410057).

*通讯作者 Tel: 86-371-66295269, E-mail: zhouyubing1982@163.com

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2018-1024

was $0.83 \pm 0.09 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, which was significantly higher than $0.15 \pm 0.05 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ($P < 0.01$) of MCF-7 cells, suggesting 5.5 times of increase in drug resistance. Apoptosis of MCF-7 cells was induced after doxorubicin treatment ($P < 0.001$), but MCF-7/EXO cells were not significantly different ($P > 0.05$). Exosome quantification and specific marker detection showed that MCF-7/EXO cells had significantly more exosomes than MCF-7 cells ($P < 0.05$). PKH67 tracer markers indicated that MCF-7/ADR-derived exosomes could be taken up by MCF-7 cells. Western blot showed that the expression level of ABCB1 protein in MCF-7/EXO cells was significantly higher than that in MCF-7 cells. Taken together, these results indicate that exosomes of doxorubicin-resistant breast cancer cells can transmit drug resistance to sensitive cells, and the underlying mechanism may involve ABCB1 protein transport mediated by exosomes.

Key words: exosome; breast cancer; drug resistance; doxorubicin; multidrug resistance protein

乳腺癌是全世界女性中最常见的恶性肿瘤^[1,2]。虽然多柔比星在一线化疗中有着重要的作用,但化疗耐药仍然是乳腺癌治疗的主要障碍^[3]。随着对化疗耐药机制的深入研究,作为基因货物载体的肿瘤细胞来源的外泌体在细胞间耐药信息的转移逐渐引起研究人员的关注。外泌体是大多数细胞分泌的一种直径介于40~100 nm之间的小囊泡,其中含有各种活性分子,包括蛋白质、脂类、DNA、RNA^[4,5]。外泌体作为细胞间通讯的介质穿梭于肿瘤微环境中并被周围的癌细胞或基质细胞吸收,并可通过释放内容物传递信息从而引起肿瘤细胞的增殖、侵袭和转移及耐药^[6,7]。有研究表明,肿瘤来源的或与肿瘤相关的外泌体是调控肿瘤耐药的重要机制,它可以通过传递RNA、蛋白质等分子赋予敏感细胞耐药性^[8,9]。本文探讨外泌体在乳腺癌细胞多柔比星耐药传递中的作用及初步分子机制,旨在为乳腺癌多柔比星耐药的分子机制及治疗策略提供新的思路。

材料与方法

实验材料 乳腺癌亲本细胞株(MCF-7)和多柔比星耐药细胞株(MCF-7/Dox)由郑州大学第一附属医院精准临床药学重点实验室保存。不完全1640培养基、胎牛血清(Biological Industries生物公司);胰蛋白酶细胞消化液、SDS-PAGE蛋白上样缓冲液(上海碧云天生物技术有限公司);多柔比星(美国MedChem-Express公司);ABCB1抗体、Hoechst 33342(美国Cell Signaling Technology公司);BCA蛋白浓度测定试剂盒(北京索莱宝科技有限公司索莱宝);CD63抗体(武汉三鹰生物技术有限公司);Flotillin-1抗体(美国Abcam公司);荧光二抗(美国LI-COR公司);一抗二抗稀释液(武汉博士德生物工程有限公司);DiI、PKH67荧光染料(美国Sigma-Aldrich公司);CCK-8试剂盒、YF@488-Annexin V和PI凋亡试剂盒(苏州宇恒生物科技有限公司)。

细胞培养与外泌体共培养 MCF-7和MCF-7/Dox培养于RPMI 1640完全培养基(含10%胎牛血清、青霉素 $100 \text{ u} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、链霉素 $100 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$),在 37°C 、饱和湿度及5% CO_2 的细胞培养箱内培养,每2~3天传代1次。同时,收集对数生长期含有外泌体的MCF-7/Dox细胞的培养上清液, $1500 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心5 min,吸取上清,加入10%胎牛血清、 $100 \text{ u} \cdot \text{mL}^{-1}$ 青霉素、 $100 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 链霉素,用于MCF-7细胞的共培养,共培养的细胞标记为MCF-7/Exo。三种细胞同时培养,用于后续实验。

乳腺癌细胞对多柔比星的药物敏感性检测 将MCF-7、MCF-7/Exo、MCF-7/Dox 3种细胞悬液以每毫升 3×10^4 个的细胞浓度分别接种于96孔板,每孔体积为 $100 \mu\text{L}$,培养过夜后换用含不同浓度多柔比星的培养基继续培养72 h,然后向每孔加入 $10 \mu\text{L}$ CCK-8溶液并将孔板放入培养箱内孵育2 h,用酶标仪测定在450 nm处的吸光度。实验重复3次,每组设6个复孔。此外,将MCF-7、MCF-7/Exo、MCF-7/Dox细胞接种于6孔板,培养过夜后换用含多柔比星0和 $0.625 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 培养基继续培养72 h,显微镜观察3种细胞株的形态及生长状态变化。

荧光显微镜检测细胞凋亡 将MCF-7、MCF-7/Exo、MCF-7/Dox取对数期接种于24孔板内,在培养箱里培养过夜后用浓度分别为0和 $0.625 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 多柔比星处理24 h后用PBS洗涤细胞,用蒸馏水按4:1的比例稀释 $5 \times$ Annexin V结合缓冲液,每 $100 \mu\text{L}$ Annexin V结合缓冲液中加入 $10 \mu\text{L}$ YF@488-Annexin V,24孔板中加入足量的染液以覆盖全部细胞,冰上孵育30 min,用 $1 \times$ 结合缓冲液清洗细胞后加入足量的 $1 \times$ 结合缓冲液覆盖细胞,使用荧光显微镜观察3种细胞加药后早期凋亡情况。

细胞外泌体的提取 将对数生长期的MCF-7、MCF-7/Exo、MCF-7/Dox细胞用无血清1640培养基培养24 h后,收取等量的3种细胞的上清液,经高速离心

机 300 ×g 离心 5 min、500 ×g 离心 5 min、3 000 ×g 离心 30 min、6 000 ×g 离心 60 min、10 000 ×g 离心 60 min, 取上清, 用超高速离心机 100 000 ×g 低温超速离心 90 min, PBS 洗涤沉淀, 再经 100 000 ×g 低温超速离心 90 min, 收集沉淀重悬于 50 μL PBS 中, -80 °C 分装保存。

透射电镜观察外泌体形态与数量 取 10 μL 外泌体滴加于载样铜网上, 室温静置 1 min, 用滤纸从侧面吸干液体, 滴加 2% 磷钨酸溶液 10 μL 于铜网上, 室温负染 1 min, 用滤纸吸干负染液, 白炽灯下烤 10 min, 透射电镜下观察外泌体形态与数量。

BCA 法外泌体蛋白定量 收取等量的 3 组细胞的上清液并提取外泌体, 在提取的外泌体沉淀中, 加入 50 μL 裂解液, 用枪头吹打, 使裂解液与外泌体充分接触后将 EP 管放入提前预冷至 4 °C 的离心机中, 13 000 r·min⁻¹ 离心 10 min, 取上清液于 EP 管中。取各个稀释浓度的蛋白质标准品和待测蛋白质样品各 10 μL, 加入到做好标记的试管中。在每个试管中加入 0.2 mL 工作液, 充分混合。将混合液加入 96 孔板中, 37 °C 孵育 30 min 后用酶标仪测定 562 nm 的吸光值, 根据标准曲线计算出蛋白浓度, 用外泌体蛋白的量反映外泌体的量。

DiI 荧光染料检测外泌体含量 收取等量的 3 组细胞的上清液并提取外泌体, 将 DiI 加入到 200 μL 外泌体悬液中使终质量浓度为 2 g·mL⁻¹, 孵育 30 min, 用 1640 完全培养基洗脱去除多余染料, 100 000 ×g 超高速离心 90 min, 用 200 μL PBS 重悬外泌体, 将 DiI 标记的外泌体分别加入 24 孔板中, 荧光显微镜下观察 3 种外泌体的含量。

Western blot 检测外泌体特异分子 CD63 和 Flotillin-1 的表达 收取等量的 3 组细胞的上清液并提取外泌体, 加入 50 μL 裂解液混匀后 4 °C、13 000 r·min⁻¹ 离心 10 min, 取上清, 加入 12.5 μL SDS-PAGE 蛋白上样缓冲液 (5×) 后震荡、离心, 水浴锅煮沸 10 min 变性, 取 25 μL 蛋白样品电泳、转膜、洗涤封闭、孵育抗体 (一抗 CD63 和 Flotillin-1 的稀释倍数分别为 1:300、1:2 000, 荧光二抗的稀释倍数为 1:5 000)。将硝酸纤维素膜置于双色红外激光扫描成像系统 (Odyssey) 检测蛋白条带, 并进行信号强度分析。

外泌体共摄取实验 取 2 μg MCF-7/Dox 细胞来源的外泌体重悬于 1 mL 的 Diluent C 中, 将 4 μL PKH67 加入 1 mL Diluent C 中, 制备染料。将 1 mL 外泌体和 1 mL 染料悬液混合染色 5 min, 加入 2 mL 纯血清终止染色, 洗涤着色外泌体 1 次。将种植在 24 孔板里的小圆片上的 MCF-7 更换含有 PKH67 着色外泌体的完全培养基。在细胞培养箱中共培养 60 min 后, PBS 清洗

2 次, 多聚甲醛固定 40 min 后, PBS 清洗 2 次, 将 MCF-7 用 Hoechst 染色 10 min 后, PBS 清洗 2 次。滴加 20 μL 抗荧光衰减封片液于载玻片上封片。用激光共聚焦显微镜观察外泌体和 MCF-7 的相互作用情况。

Western blot 检测细胞中多药耐药蛋白 ABCB1 的表达水平 应用 RIPA 裂解液裂解 MCF-7、MCF-7/Exo、MCF-7/Dox 3 种细胞, 提取总蛋白, 应用 BCA 法经微量紫外分光光度计测定蛋白浓度。取 30 μg 蛋白样品进行 SDS-PAGE 电泳 (110 V, 90 min) 分离, 然后转移至硝酸纤维素膜, 用 Blocking buffer 常温下封闭 1 h 后, 加入兔抗人 ABCB1 一抗或鼠抗人 Actin 一抗 4 °C 孵育过夜, 加入 IRDye 680LT 标记的山羊抗兔 IgG 和 IRDye 800CW 标记的山羊抗鼠 IgG 常温避光孵育 2 h。将硝酸纤维素膜置于双色红外激光扫描成像系统 (Odyssey) 检测蛋白条带, 并进行信号强度分析。

统计学分析 应用 SPSS 21.0 软件进行统计分析, 计量资料采用方差分析, 组间两两比较采用 LSD 法, 数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

结果

1 多柔比星对不同细胞增殖活性的影响

将不同浓度的多柔比星作用于 3 组细胞 72 h 后, 应用 CCK-8 检测细胞的增殖活性。结果显示, 敏感细胞株 MCF-7 对多柔比星的半数抑制浓度 (IC₅₀) 为 0.15 ± 0.05 μmol·L⁻¹, MCF-7/Exo 对多柔比星的 IC₅₀ 为 0.83 ± 0.09 μmol·L⁻¹, 耐药倍数升高 5.5 倍, 两组细胞对多柔比星的 IC₅₀ 有统计学差异 ($P < 0.01$) (图 1A、B)。显微镜下观察发现, 0.625 μmol·L⁻¹ 多柔比星作用于细胞 72 h 后, MCF-7 细胞皱缩变圆, 明显脱落, 而 MCF-7/Exo 细胞的形态变化不大, 与 MCF-7/Dox 细胞相似 (图 1C)。结果提示, 耐药细胞 MCF-7/Dox 的外泌体可以向敏感细胞 MCF-7 传递多柔比星耐药性。

2 多柔比星对不同细胞凋亡的影响

多柔比星作用于不同细胞后, 应用 YF@488-Annexin V 染色检测早期凋亡细胞。荧光显微镜观察显示, 加入 0.625 μmol·L⁻¹ 多柔比星后, MCF-7 细胞凋亡数明显增加 ($P < 0.001$), 而与耐药细胞上清共培养的 MCF-7/Exo 细胞凋亡数无明显增加 ($P > 0.05$) (图 2A、B)。

3 外泌体的鉴定

收集 3 种细胞的上清液, 提取外泌体, 透射电镜下观察, 外泌体呈双层脂质膜包裹的杯状结构, 直径为 40~100 nm。与 MCF-7 细胞相比, MCF-7/Exo 细胞的外泌体明显增多, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$) (图 3A、B)。用 BCA 法测外泌体的蛋白含量, 并用蛋白含量反映外泌体的含量。实验结果显示, 与 MCF-7 细胞

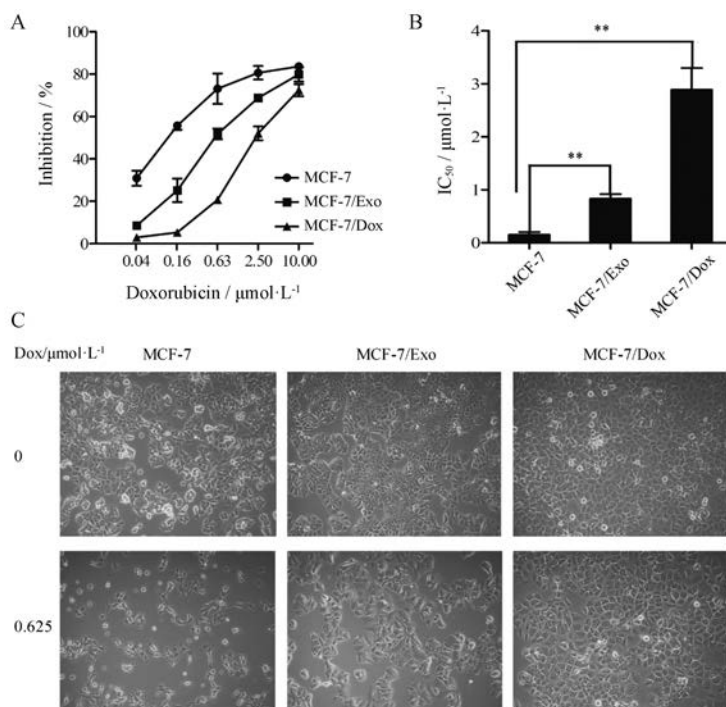


Figure 1 Effects of doxorubicin (Dox) on different cells proliferation. A: Inhibitory effects of doxorubicin on the proliferation of different cell lines; B: Statistical analysis of IC₅₀ of doxorubicin on different cell lines; C: Effects of doxorubicin on different cells morphology (100 \times). $n = 3, \bar{x} \pm s. **P < 0.01$. Exo: Exosome

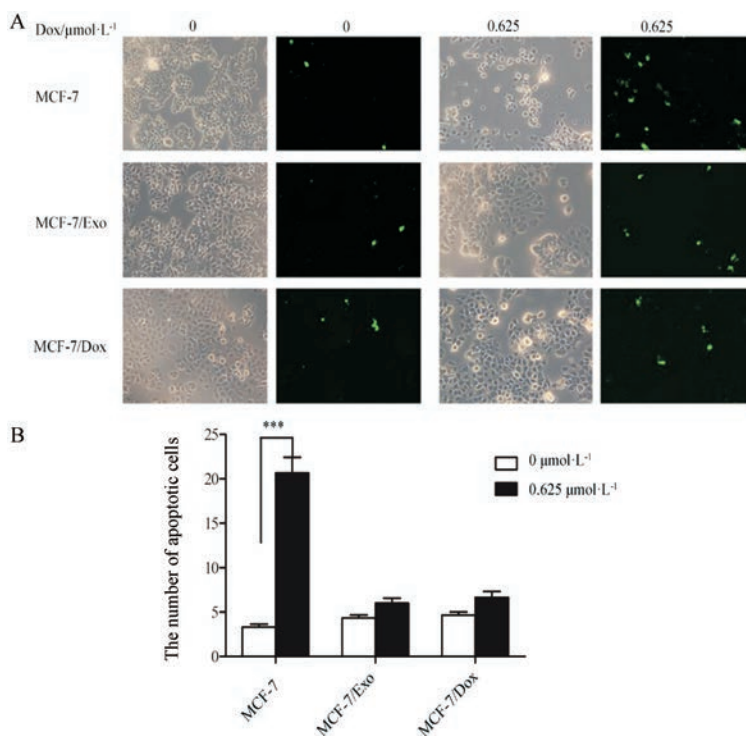


Figure 2 Cell apoptosis determination by fluorescence microscopy. A: Cell apoptosis was observed under a fluorescence microscope after exposure to 0.625 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ doxorubicin (100 \times); B: Statistical analysis of the number of apoptotic cells after treatment with 0 or 0.625 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ of doxorubicin. $***P < 0.001$

相比, MCF-7/Exo细胞的外泌体含量明显增多, 差异具有统计学意义 ($P < 0.001$) (图3C)。用DiI荧光染料标记

3组细胞的外泌体, 荧光显微镜下观察, 发现MCF-7/Exo细胞的外泌体数量明显多于MCF-7细胞, 差

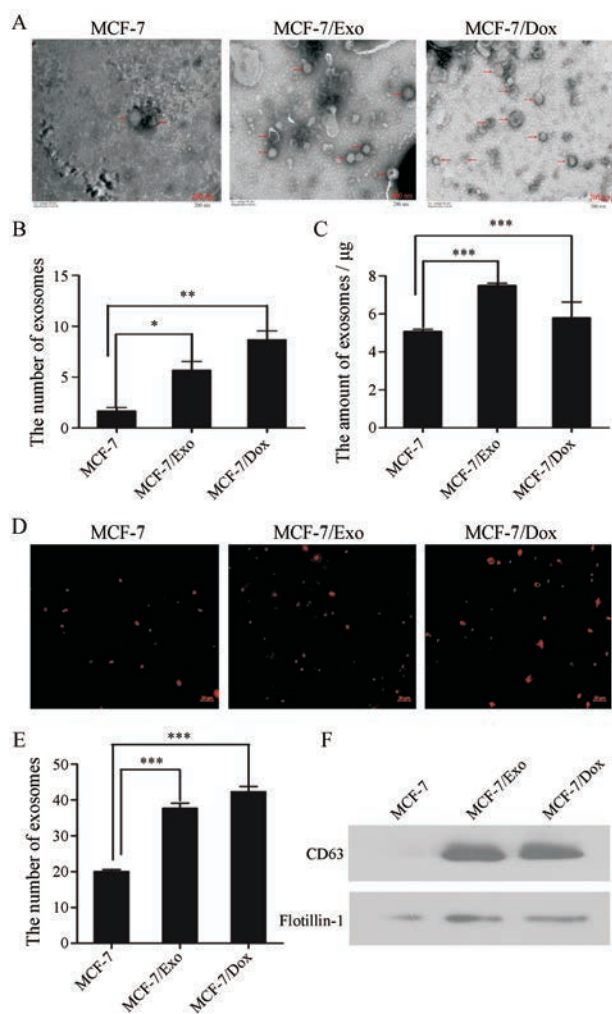


Figure 3 Identification of exosomes in cell culture supernatant. A: Exosomes in the cell culture supernatant of MCF-7, MCF-7/Exo and MCF-7/Dox cells detected by transmission electron; B: Statistical analysis of the number of exosomes from three cell lines; C: Quantity of exosomes determined *via* the BCA standard curve; D, E: DiI fluorescent dyes-labeled exosomes from three cell lines; F: Expressions of CD63 and Flotillin-1 in exosomes from MCF-7, MCF-7/Exo and MCF-7/Dox cell lines. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$

异具有统计学意义 ($P < 0.001$) (图3D、E)。进一步通过 Western blot 检测外泌体特异性蛋白分子的表达, 结果显示 MCF-7/Exo 细胞的外泌体表达 CD63、Flotillin-1, 与耐药细胞 MCF-7/Dox 表达水平相当, 而敏感细胞 MCF-7 的外泌体无或少有 CD63 和 Flotillin-1 表达 (图3F)。

4 外泌体摄取实验

为了验证耐药细胞来源的外泌体能否进入敏感细胞, 本研究应用 PKH67 标记耐药细胞 MCF-7/Dox 的外泌体, 与 MCF-7 细胞共培养 60 min 后, 用激光共聚焦显微镜观察, 发现耐药细胞 MCF-7/Dox 的外泌体可以

被敏感细胞 MCF-7 摄取 (图4)。

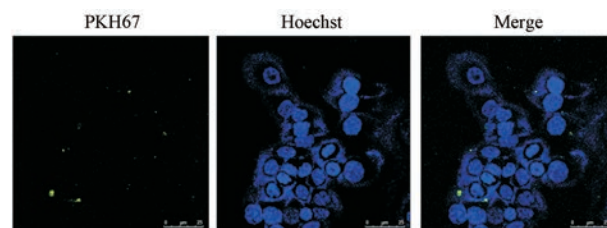


Figure 4 MCF-7/Dox-derived exosomes were uptaken by MCF-7. MCF-7/Dox-derived exosomes were labeled with PKH67 (green fluorescent) and were added to MCF-7 cells. After co-incubation with MCF-7/Dox-derived exosomes for 60 min, MCF-7 cells were stained with Hoechst (blue fluorescent) and observed under a laser confocal microscopy (630 \times)

5 多药耐药蛋白 ABCB1 在不同细胞株的表达水平

为了初步探讨外泌体传递多柔比星耐药的分子机制, 本研究进一步应用 Western blot 技术检测了多柔比星作用前后 3 组细胞多药耐药蛋白 ABCB1 的表达水平。结果显示, MCF-7/Exo 与 MCF-7/Dox 细胞均高表达 ABCB1, 而敏感细胞 MCF-7 不表达 ABCB1。0.625 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 多柔比星作用后, 细胞内 ABCB1 的表达无明显变化 (图5)。

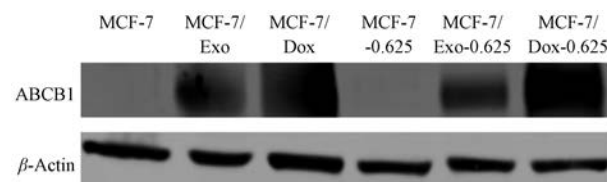


Figure 5 Expression levels of multidrug resistance protein ABCB1 in different cell lines

讨论

外泌体是细胞间物质和信息的交流载体^[10]。它被认为是原发性肿瘤微环境中细胞-细胞间通讯的关键介质, 这些胞吐起源的小囊泡被释放到肿瘤微环境中将一些蛋白质和核酸转运到受体细胞从而改变受体细胞的表型, 如细胞增殖、迁移和耐药发生。在肿瘤细胞耐药信息传递方面, 耐药肿瘤细胞源性外泌体可以在细胞外环境中通过将其内容物 (DNA、mRNA、miRNA、lncRNA 和耐药蛋白质等) 转运到敏感细胞, 从而增强或诱导耐药^[11]。有研究表明, 与肺癌敏感细胞株相比, 顺铂耐药细胞株分泌的外泌体明显增多, 同时研究人员发现耐药细胞来源的外泌体降低了敏感细胞对顺铂的敏感性^[12]。

外泌体对抗肿瘤药物耐药的影响已有较为广泛的报道, 说明外泌体在肿瘤耐药中的作用成为目前研

研究的热点。近年来已有多项研究表明,外泌体可以通过传递 miRNA、lncRNA、蛋白质使肿瘤细胞获得耐药性^[13-16]。然而,目前的主流研究方法是首先提取外泌体,作用于受体细胞,观察受体细胞药物敏感性的变化。但是,人工提取外泌体费时费力,且不能保证外泌体浓度、纯度、完整度等质量指标的均一性和一致性。更重要的是,人为提取外泌体,可能会破坏耐药肿瘤细胞的微环境,无法真实反映细胞上清液中外泌体的功能。本研究直接将含有外泌体的耐药细胞上清液加入敏感细胞,简便快捷,没有人为干预和修饰,更有利于外泌体发挥本能作用,也保证了实验的可重复性。实验结果表明,将含有外泌体的多柔比星耐药乳腺癌细胞的上清液加入敏感乳腺癌细胞,受体细胞的多柔比星敏感性显著降低,说明细胞上清液的外泌体可以传递耐药性。此外,本研究发现多柔比星耐药乳腺癌细胞的外泌体多于敏感乳腺癌细胞,并可以被敏感乳腺癌细胞直接摄取,而摄取了耐药细胞外泌体的敏感细胞可以获得多药耐药蛋白 ABCB1 的表达。由此,本研究结果证实,多柔比星耐药乳腺癌细胞可以分泌大量的外泌体,并通过外泌体可以向敏感细胞传递耐药性,其机制可能与外泌体介导的 ABCB1 蛋白转运有关,从而为乳腺癌多柔比星耐药机制的阐述和耐药的检测、预防或逆转提供了新的研究方向。

本研究结果只是揭示了乳腺癌耐药细胞可以大量分泌外泌体,并通过外泌体向敏感细胞传递耐药性,其初步机制与传递多药耐药蛋白 ABCB1 相关,但具体的作用机制有待于进一步研究。课题组后续将以外泌体中的 miRNA、lncRNA、circRNA 为出发点,深入研究外泌体介导肿瘤耐药传递的分子机制,旨在为乳腺癌多柔比星耐药机制的阐述及治疗策略的发现提供新的思路。

References

- [1] Ahmadiankia N, Bagheri M, Fazli M. Gene expression changes in pomegranate peel extract-treated triple-negative breast cancer cells [J]. Rep Biochem Mol Biol, 2018, 7: 102-109.
- [2] Meng QS, Zhang PC, Yin Q, et al. Photo-sensitive liposomes loading doxorubicin hydrochloride reverse drug resistance of breast cancer [J]. Acta Pharm Sin (药学报), 2017, 52: 809-820.
- [3] Oteo J, Belen Aracil M. Molecular characterization of resistance mechanisms: methicillin resistance *Staphylococcus aureus*, extended spectrum beta-lactamases and carbapenemases [J]. Enferm Infecc Microbiol Clin, 2015, 33 Suppl 2: 27-33.
- [4] Raposo G, Stoorvogel W. Extracellular vesicles: exosomes, microvesicles, and friends [J]. J Cell Biol, 2013, 200: 373-383.
- [5] Yuan P, Guo XC, Zhang JP, et al. Research progress of the exosomes as drug delivery vehicles of Chinese herbal drugs [J]. Acta Pharm Sin (药学报), 2017, 52: 1667-1672.
- [6] Deng H, Zhang J, Shi J, et al. Role of long non-coding RNA in tumor drug resistance [J]. Tumour Biol, 2016, 37: 11623-11631.
- [7] Fan Q, Yang L, Zhang X, et al. The emerging role of exosome-derived non-coding RNAs in cancer biology [J]. Cancer Lett, 2018, 414: 107-115.
- [8] Hu W, Tan C, He Y, et al. Functional miRNAs in breast cancer drug resistance [J]. Onco Targets Ther, 2018, 11: 1529-1541.
- [9] Saleem SN, Abdel-Mageed AB. Tumor-derived exosomes in oncogenic reprogramming and cancer progression [J]. Cell Mol Life Sci, 2015, 72: 1-10.
- [10] Xu J, Liao K, Zhou W. Exosomes regulate the transformation of cancer cells in cancer stem cell homeostasis [J]. Stem Cells Int, 2018, 2018: 4837370.
- [11] Huang L, Zeng L, Chu J, et al. Chemoresistance-related long noncoding RNA expression profiles in human breast cancer cells [J]. Mol Med Rep, 2018, 18: 243-253.
- [12] Xiao X, Yu S, Li S, et al. Exosomes: decreased sensitivity of lung cancer A549 cells to cisplatin [J]. PLoS One, 2014, 9: e89534.
- [13] Wang J, Hendrix A, Hernot S, et al. Bone marrow stromal cell-derived exosomes as communicators in drug resistance in multiple myeloma cells [J]. Blood, 2014, 124: 555-566.
- [14] Kong JN, He Q, Wang G, et al. Guggulsterone and bexarotene induce secretion of exosome-associated breast cancer resistance protein and reduce doxorubicin resistance in MDA-MB-231 cells [J]. Int J Cancer, 2015, 137: 1610-1620.
- [15] Kang M, Ren M, Li Y, et al. Exosome-mediated transfer of lncRNA PART1 induces gefitinib resistance in esophageal squamous cell carcinoma via functioning as a competing endogenous RNA [J]. J Exp Clin Cancer Res, 2018, 37: 171.
- [16] Ning K, Wang T, Sun X, et al. UCH-L1-containing exosomes mediate chemotherapeutic resistance transfer in breast cancer [J]. J Surg Oncol, 2017, 115: 932-940.