

## 外泌体及其携带的非编码RNA在多囊卵巢综合征发病机制及诊疗中的研究进展

连一凯<sup>1,2</sup>, 周卫东<sup>1,2\*</sup>

(1. 厦门大学附属第一医院, 生殖医学中心, 福建 厦门 361100; 2. 厦门大学医学院, 福建 厦门 361102)

**摘要:** 多囊卵巢综合征 (polycystic ovary syndrome, PCOS) 是一种常见的生殖内分泌疾病, 其主要特征是高雄激素血症、稀发排卵或无排卵和卵巢多囊样改变。PCOS 危害严重, 病因错综复杂, 目前其发病机制尚未清楚。研究表明, 非编码RNA在PCOS发生发展中发挥重要作用, 主要包括激素代谢和卵泡发育的调控。外泌体作为一种天然的纳米级膜性囊泡, 含有细胞特异的蛋白质、脂质、核酸等多种生物活性分子, 是细胞间通讯的重要介质和疾病诊疗的新型靶点。近年研究显示, 作为卵泡发育微环境的重要组成部分, 外泌体与PCOS的发病机制密切相关。外泌体及其来源的非编码RNA有望作为PCOS潜在的新型诊疗靶点。本文将对外泌体及其携带的非编码RNA在PCOS发病机制和诊疗中的现有研究进行综述。

**关键词:** 多囊卵巢综合征; 外泌体; 非编码RNA; 作用机制; 诊断治疗

中图分类号: R966 文献标识码: A 文章编号: 0513-4870(2020)10-2256-08

## Advances in the research of exosome and exosomal non-coding RNA in the pathogenesis, diagnosis and treatment of polycystic ovary syndrome

LIAN Yi-kai<sup>1,2</sup>, ZHOU Wei-dong<sup>1,2\*</sup>

(1. Reproductive Medicine Center, the First Affiliated Hospital of Xiamen University, Xiamen 361100, China;

2. School of Medicine, Xiamen University, Xiamen 361102, China)

**Abstract:** Polycystic ovary syndrome (PCOS) is a common reproductive endocrine disease, which is mainly characterized by hyperandrogenemia, rare or anovulation, and polycystic ovarian changes. PCOS is seriously harmful and its causes are complex, which has not yet been clarified. Studies have shown that non-coding RNAs play important roles in the development of PCOS, including the regulation of hormone metabolism and follicle development. Exosomes are natural nano-scale membrane vesicles that contain cell-specific proteins, lipids, nucleic acids, and other biologically active molecules. Exosomes are important mediators for intercellular communication and new targets for disease diagnosis and treatment. Recent studies have shown that as an important component of follicle microenvironment, exosome is closely related to the pathogenesis of PCOS. Exosome and exosomal non-coding RNAs are expected to serve as potential new diagnostic and therapeutic targets for PCOS. In this review, we will summarize the function of exosome and exosomal non-coding RNA in the pathogenesis, diagnosis, and treatment of PCOS.

**Key words:** polycystic ovary syndrome; exosome; non-coding RNA; mechanism; diagnosis and treatment

收稿日期: 2020-03-14; 修回日期: 2020-04-15.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81871161); 厦门市科技计划项目 (3502Z20194012).

\*通讯作者 Tel: 86-592-2662313, Email: wdzhou@xmu.edu.cn

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2020-0323

多囊卵巢综合征 (polycystic ovary syndrome, PCOS)

是育龄期女性最常见的生殖内分泌疾病之一, 其临床特征表现主要有: 高雄激素血症 (临床或生化)、排卵功能障碍 (稀发排卵或无排卵) 和多囊卵巢形态, 全球发

病率为4%~21%<sup>[1,2]</sup>。PCOS不仅影响着女性的生殖和生理健康,还可导致2型糖尿病、血脂障碍、高血压、肥胖、代谢综合征、抑郁、焦虑、阻塞性睡眠窒息症、非酒精性脂肪肝、子宫内膜癌和心血管疾病等代谢和非代谢性并发症的发生<sup>[3-6]</sup>。因此,PCOS不仅是生殖系统疾病,其已超越妇产科领域累及全身各个重大系统,严重威胁女性身心健康,影响女性生活质量,可造成终生性内分泌代谢疾病,给社会和家庭带来了沉重的负担。

PCOS病因复杂,目前其发病机制仍不明确。PCOS患者在临床上表现出高度异质性,因此其病因很难由单一因素进行阐明<sup>[7]</sup>。胰岛素抵抗是PCOS的一个主要特征,其可导致代偿性高胰岛素血症,进而通过刺激卵巢雄激素分泌和抑制肝性激素结合球蛋白的产生而造成高雄激素血症<sup>[8]</sup>。研究表明,脂肪组织功能障碍可能是PCOS胰岛素抵抗的一个关键诱因<sup>[9]</sup>。异常的卵泡发生和促性腺激素生产,特别是促黄体生成激素的过度分泌,同样可能造成PCOS的发生发展<sup>[10]</sup>。现有研究显示,PCOS卵巢功能失调的机制主要涉及2大方面:①类固醇激素生成失调,包括先天性卵泡膜细胞功能障碍和肾上腺皮质雄激素功能障碍;②颗粒细胞功能障碍与卵泡发育紊乱,包括颗粒细胞功能障碍导致的卵泡膜雄激素过多和卵泡发育紊乱及多囊卵巢形态<sup>[11]</sup>。目前人们普遍认为,这些异常改变主要是由于环境因素和遗传因素共同作用的结果<sup>[12,13]</sup>。PCOS发病机制错综复杂,其治疗同样需要根据不同患者的异质性制定不同治疗方案,主要包括改善高雄激素症状,诱导排卵,调节月经以及防止心肌代谢并发症等<sup>[14]</sup>。未来需要进一步从新的角度解析其病因,以便为其有效防治及遗传学干预提供新的靶点。

外泌体是一种由细胞主动分泌的大小均一、直径为30~150 nm的脂质双分子层膜结构囊泡,含有细胞特异的蛋白质、脂质、DNA、mRNA、非编码RNA等多种生物活性分子,其广泛分布于血液、唾液、尿液、乳汁、精液、子宫腔液、卵泡液等各种体液中<sup>[15]</sup>。非编码RNA(non-coding RNA, ncRNA)是指一类不编码蛋白质的RNA,可参与多种生物学进程并发挥重要的调控功能<sup>[16]</sup>。根据RNA链长度的大小可将非编码RNA分为两大类,即长度大于200 nt(nucleotide)的长链非编码RNA(long non-coding RNA, lncRNA)和长度小于200 nt的小非编码RNA(small non-coding RNA)。lncRNA是一类大小在200 nt以上、缺少开放阅读框的非编码RNA,其可以在多个水平上调控基因表达,包括招募染色质修饰因子影响基因的转录以及通过与微小RNA(microRNA, miRNA)、mRNA和蛋白质相互作用在转录后水平上调控基因表达<sup>[17]</sup>。小

非编码RNA又分为miRNA、环状RNA(circular RNA, circRNA)和小干扰RNA(small interfering RNA, siRNA)等。近年来,外泌体在PCOS中的作用受到人们的广泛关注。已有研究表明,外泌体及其携带的非编码RNA参与PCOS的发生发展,特别是对PCOS卵泡发育具有潜在的调控作用<sup>[18]</sup>。本文将对外泌体及其携带的非编码RNA在PCOS发病中的研究进展进行综述,为PCOS病理机制的研究及疾病诊断和治疗药物的研发提供新思路。

## 1 外泌体及其生物学功能

胞外囊泡是细胞通讯的一种新机制,所有细胞包括真核细胞和原核细胞都能合成并分泌胞外囊泡,其中外泌体是胞外囊泡的一种主要类型。外泌体的生物发生是一个连续性的过程,涉及质膜的2次内陷和胞内多囊体的形成,并通过与质膜融合和胞吐作用,最终以直径约30~150 nm大小的外泌体形式分泌到细胞外环境<sup>[19]</sup>。外泌体可装载各种各样的“货物”,含有丰富的蛋白质、脂质、RNA、DNA及代谢物等,其中CD9(cluster of differentiation 9)、CD63、CD81、TSG101(tumor susceptibility gene 101)和Alix(apoptosis-linked gene 2-interacting protein X)等蛋白被广泛用作外泌体的标志物<sup>[20]</sup>。

外泌体作为一种新的细胞间通讯媒介具有重要的生物学作用。外泌体稳定性良好,其脂质双分子层膜结构能够保护内容物,避免内容物被降解或修饰,因此其携带的细胞特异性蛋白、脂质及核酸(包括DNA、mRNA和非编码RNA)能够作为信号分子传递给其他细胞从而改变受体细胞的生物功能,是细胞-细胞信息传递的重要方式。外泌体可参与维持生物体多种生理过程,涵盖了细胞质量控制、细胞间通讯、细胞废物清除、免疫调节、组织修复、干细胞分裂/分化、新血管生成和凝血等<sup>[15]</sup>。此外,外泌体还可介导信号传递和分子转移,有助于一系列正常的生理过程,包括组织内稳态、发育、衰老、代谢调节、孕期分子转移和母乳喂养等<sup>[21]</sup>。另外,外泌体可能通过跨胞吞作用而具有跨组织屏障(如血脑屏障)的潜力<sup>[22]</sup>。

外泌体可以稳定地在各种体液中传递,并已成为生物体内稳态的指标,其含量反映了起源细胞和病理生理状态的事实,突出了它们作为生物标志物的有效性<sup>[21]</sup>。研究显示<sup>[23]</sup>,人体细胞释放到循环系统和体液中的外泌体在健康人和不同疾病患者中显示出不同的蛋白质和RNA含量,提示其可作为疾病潜在的诊断指标。目前,外泌体已被证明在多种人类疾病的发病机制中具有潜在的作用,研究表明,外泌体可作为肿瘤<sup>[24]</sup>、神经退行性疾病<sup>[25]</sup>、心血管疾病<sup>[26]</sup>、代谢疾病<sup>[27]</sup>

等多种疾病潜在的新型诊断标志物。此外,外泌体具有负载货物并将其传递给靶细胞的能力,采用外泌体作为药物转运载体,具有免疫原性低、运输效率高、稳定性好、靶向性强以及能跨越血脑屏障等独特优势<sup>[28]</sup>。近年,人们开始积极探索外泌体自身或作为药物传递载体应用于各种疾病治疗的可行性。目前已有报道一些小分子化学药物及基因药物等被成功载入外泌体,并在神经系统疾病及肿瘤等的治疗中表现出巨大的潜力<sup>[29]</sup>。

## 2 非编码RNA在PCOS中的研究

非编码RNA作为细胞内基因调控网络的重要成员,影响细胞的各种生命活动,广泛参与各种疾病的发生发展<sup>[30,31]</sup>。研究表明<sup>[32]</sup>,非编码RNA在卵巢中也发挥重要作用,可参与卵巢颗粒细胞增殖、分化、凋亡以及激素合成的调控,并在卵母细胞的存活和发育中扮演重要角色。近年研究发现,多种非编码RNA在PCOS患者的血液、卵泡液和颗粒细胞中表达异常<sup>[33,34]</sup>。这些非编码RNA可通过调节相关基因的表达,影响激素代谢和颗粒细胞增殖、分化、凋亡等生物学功能,从而参与调控PCOS的发病过程。

### 2.1 非编码RNA在PCOS激素代谢中的研究

近年研究发现,多种非编码RNA(主要为miRNA和lncRNA)参与PCOS中多种激素代谢的调控。Murri等<sup>[35]</sup>通过病例对照发现PCOS患者血液中miR-21、miR-27b、miR-103和miR-155的表达量显著上调且与血液中游离的睾酮水平呈正相关,可能影响睾酮的释放。另外,PCOS患者血液中miR-222和miR-146a的含量与血清胰岛素水平及睾酮浓度具有相关性。Rashad等<sup>[36]</sup>研究发现,PCOS尤其是胰岛素抵抗患者的血清miR-320表达水平降低,且与空腹血清胰岛素、PCOS表型、多毛评分、卵巢体积和窦性卵泡计数等呈负相关。Xu等<sup>[37]</sup>通过miRNA表达谱测序共检测到59个miRNA在PCOS颗粒细胞中的表达具有显著差异,进一步通过生物信息学分析,发现这些差异表达的miRNA可以参与调控激素代谢和能量代谢等重要生物学过程。Sang等<sup>[38]</sup>检测到PCOS患者卵泡液中存在多种miRNA,其中与雌激素代谢相关的miR-132和miR-320表达量显著降低。Yin等<sup>[39]</sup>研究发现,PCOS患者卵泡液中miR-383的表达量升高并且参与调控类固醇激素的合成。Yao等<sup>[40]</sup>对PCOS患者卵泡液进行测序分析,发现共有16个miRNA表达显著下调和3个miRNA表达显著上调。其中miR-335-5p在PCOS中的丰度低于非PCOS组,并且与窦性卵泡计数、抗苗勒管激素和总睾酮水平呈负相关。

Liu等<sup>[41]</sup>研究发现,lncRNA CTBP1-AS在PCOS外周血中的表达量显著升高,且与血液中睾酮的浓度成正相关,提示CTBP1-AS可能与PCOS的激素代

谢相关。Liu等<sup>[42]</sup>的另一项研究发现,lncRNA SRA在PCOS外周血白细胞中的表达显著升高,且与体重指数(body mass index, BMI)呈正相关,提示其可能通过脂肪组织调节相关代谢通路。Qin等<sup>[43]</sup>研究发现,lncRNA H19水平升高是PCOS的危险因素,对于易感个体,lncRNA H19可能是PCOS内分泌和代谢紊乱的早期生物标志物。近期,Wu等<sup>[44]</sup>研究发现长链非编码RNA lnc-OC1在PCOS颗粒细胞中的表达显著高于非PCOS颗粒细胞,并且可促进细胞凋亡以及芳香化酶表达和雌二醇生成。在PCOS小鼠中,lnc-OC1可促进血清胰岛素释放,提示lnc-OC1在PCOS的发病机制中起着重要的作用。

### 2.2 非编码RNA在PCOS卵泡发育中的研究

PCOS卵泡颗粒细胞功能异常是PCOS卵泡发育异常的重要原因<sup>[45]</sup>。近年来,越来越多证据显示,非编码RNA在卵泡颗粒细胞生长过程中发挥重要调控作用。Sen等<sup>[46]</sup>研究发现,雄激素可以通过上调颗粒细胞中miR-125b的表达,在丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK) 3/1等信号通路的介导下,促进窦前卵泡生长,降低凋亡蛋白表达,从而抑制卵泡闭锁。Jiang等<sup>[47]</sup>报道,miR-93在PCOS患者颗粒细胞中表达上调,并通过靶向周期素依赖性激酶抑制剂(cyclin dependent kinase inhibitor 1A, CDKN1A)调控颗粒细胞增殖。Ding等<sup>[48]</sup>通过miRNA微阵列分析发现,PCOS大鼠卵巢中miR-9119表达上调,并且可通过介导Dicer表达调控PCOS颗粒细胞活性。He等<sup>[49]</sup>研究发现miRNA-200b和miRNA-200c在PCOS患者颗粒细胞中表达上调并通过靶向PTEN(phosphatase and tensin homolog)抑制人颗粒细胞KGN细胞的增殖。

lncRNA在PCOS颗粒细胞的异常增殖中也发挥重要作用。Liu等<sup>[50]</sup>通过lncRNA芯片技术检测了PCOS患者卵泡颗粒细胞的lncRNA表达谱,共发现862个显著差异表达的lncRNA,其中lncRNA HCG26表达下调并且可以抑制KGN细胞的增殖。Zhao等<sup>[51]</sup>研究发现,PCOS患者黄素化颗粒细胞中lncRNA linc-01572:28表达升高,并且可通过减少PCOS患者p27降解来抑制颗粒细胞的生长。Yang等<sup>[52]</sup>研究发现,PCOS患者颗粒细胞中lncRNA-BANCR的表达水平显著升高,并且可通过上调Bax和p53的表达促进颗粒细胞凋亡。近期,一些circRNA也被发现在PCOS患者的卵颗粒细胞中异常表达,其中hsa-circ-0043533在PCOS中的表达显著升高,而hsa-circ-0097636的表达则显著下调<sup>[53]</sup>。Zhang等<sup>[54]</sup>通过circRNA表达谱分析发现,PCOS患者颗粒细胞中有4个circRNA表达显著上调,23个circRNA表达显著下调。生物信息学分析显示,这27个差异表达

的circRNA参与细胞增殖等相关信号途径的调控,提示这些circRNA与PCOS的发生发展密切相关。

此外,近年来人们发现PCOS患者卵泡液中存在多种非编码RNA,并且与卵泡发育密切相关。Roth等<sup>[55]</sup>研究显示,PCOS患者卵泡液中miR-9、miR-18b、miR-32、miR-34c、miR-135a等5个miRNA的表达量显著升高。Jiao等<sup>[56]</sup>对PCOS患者和健康女性成熟卵泡及未成熟卵泡的卵泡液进行RNA测序,共鉴定出1583个新的lncRNA,并通过生物信息学的分析确定相关lncRNA与PCOS表型之间的调控关系。近期,He等<sup>[57]</sup>通过高通量测序技术对PCOS患者卵泡液circRNA表达谱进行分析,发现共有167个circRNA表达量上调,245个circRNA表达量下调,提示这些circRNA可能参与PCOS卵泡发育的调控。PCOS患者体内的非编码RNA表达异常总结见表1。

### 3 外泌体在PCOS中的研究进展

近年来,外泌体在人类生殖健康与疾病中的作用受到人们的广泛关注<sup>[15,18]</sup>。外泌体可作为关键调控因子在不同生殖过程发挥重要作用,如卵泡发育、胚胎种植等过程<sup>[18]</sup>。卵泡液中的外泌体可以通过介导MAPK、WNT (wingless-related integration site)、转化生长因子 $\beta$  (transforming growth factor beta, TGF $\beta$ )、表皮生长因子受体 (epidermal growth factor receptor, ErbB) 等与细胞增殖有关的信号通路影响卵泡生长发育和卵子的成熟<sup>[18]</sup>。PCOS作为一种卵泡发育异常的疾病,已有研究发现外泌体与PCOS的发病机制关系密切<sup>[15]</sup>,但相关研究尚处于起步阶段。Koiou等<sup>[58]</sup>研究发现,PCOS患者血浆中的微囊泡(主要是外泌体)数量显著升高,并且与卵泡数量呈正相关。McAllister等<sup>[59]</sup>的研究发现,PCOS患者尿液来源的外泌体中DENND1A (DENN domain containing 1A) 基因(一种PCOS候选位点)的表达显著高于正常对照组,提示其可作为一种潜在的PCOS标志物。

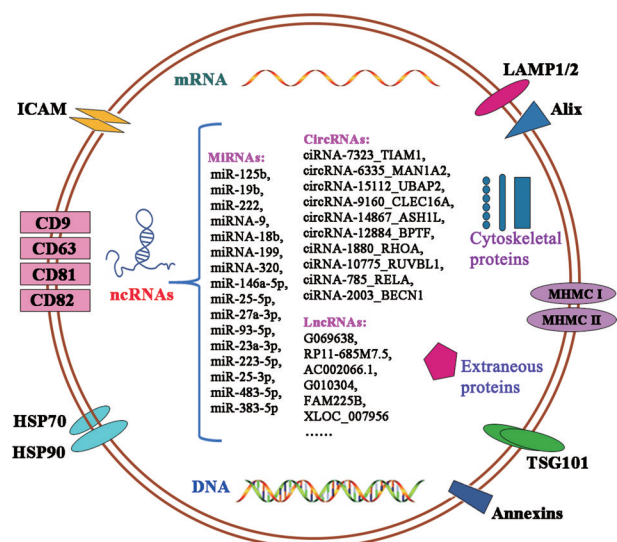
随着外泌体和非编码RNA在各种疾病中的重要作用不断被深入发掘,人们也将目光注意到外泌体及其携带的非编码RNA在PCOS发生发展过程中的作用。目前,外泌体及其携带的非编码RNA在PCOS中的研究较少,现有报道主要集中在外泌体来源的miRNA和circRNA,本课题组前期研究发现PCOS患者卵泡液外泌体中有多个lncRNA表达水平异常(数据未发表,图1)。Yang等<sup>[60]</sup>从PCOS患者卵泡液中提取鉴定了外泌体,并检测了3个典型miRNA(miR-125b、miR-19b和miR-222)在外泌体中的表达,从而证实了PCOS患者卵泡液中可以收集到外泌体并含有非编码RNA。Liu等<sup>[61]</sup>检测PCOS患者卵泡液外泌体中6种miRNA的表达情况,发现PCOS组中miRNA-9和miRNA-18b的表达水平显著高于对照组,而miRNA-199和miRNA-320的表达水平则显著低于对照组,提示这些miRNA可能与PCOS的发生发展有关。近期,Wang等<sup>[62]</sup>通过高通量测序检测了PCOS血清中外泌体miRNA的差异表达,结果发现共有115个miRNA在PCOS患者血清中的表达量升高,另有128个miRNA的表达量下降。进一步验证发现,miR-146a-5p、miR-25-5p、miR-27a-3p、miR-93-5p、miR-23a-3p、miR-223-5p、miR-25-3p、miR-483-5p和miR-383-5p等9个miRNA的表达具有显著差异性。进一步分析,提示这些PCOS患者差异表达的血清外泌体miRNA与类固醇激素的合成有关,可参与调节胰岛素信号受体通路。Wang等<sup>[63]</sup>通过高通量测序研究发现,与对照组相比,PCOS患者卵泡液外泌体中有167个circRNA表达显著上调和245个circRNA表达显著下调,提示这些表达异常的circRNA对于PCOS病理生理机制的研究具有重要研究价值。

### 4 外泌体及其携带的非编码RNA作为PCOS诊疗靶点的研究

由于外泌体在各种体液中分布广泛,且含有其来源细胞特异性非编码RNA,这些非编码RNA能够借助

**Table 1** Abnormal expressed non-coding RNAs in polycystic ovary syndrome (PCOS). MiRNA: MicroRNA; LncRNA: Long non-coding RNA; CircRNA: Circular RNA

Source	Abnormal expressed non-coding RNA	Reference
Blood	MiRNA: miR-222, miR-16, miR-19a, miR-106b, miR-30c, miR-146a, miR-24, miR-186, miR-21, miR-27b, miR-103, miR-155, and miR-320 LncRNA: lncRNA SRA, CTBP1-AS, and lncRNA H19	[35, 36, 41-43]
Granulosa cells	MiRNA: miRNA-200b, miRNA-200c, miR-125b, miR-93, miR-9119, miR556, miR-139, miR-126, and miR-21b LncRNA: lncRNA HCG26, linc-01572:28, lncRNA BANCR, and lnc-OC1 CircRNA: hsa-circ-0043533 and hsa-circ-0097636	[44, 46-49, 51-53]
Follicular fluids	MiRNA: miR-132, miR-320, miR-383, miR-9, miR-18b, miR-32, miR-34c, miR-135a, and miR-335-5p LncRNA: RP11-2N1.2, CTC-338M12.6, RP11-547D23.1, and RP11-834C11.4 CircRNA: circRNA-15918_GREBL1L, circRNA-2702_ANKH, circRNA-7788_HTT, circRNA-5762_SPHKAP, and circRNA-8717_FANCL	[38-40, 49, 55]



**Figure 1** Differentially expressed exosomal non-coding RNAs in patients with PCOS. ICAM: Intercellular adhesion molecule; LAMP1/2: Lysosomal associated membrane protein 1/2; Alix: Apoptosis-linked gene 2-interacting protein X; CD: Cluster of differentiation; ncRNAs: Non-coding RNAs; MHMC: Major histocompatibility complex; HSP: Heat shock protein; TSG101: Tumor susceptibility gene 101

外泌体的保护,防止其被体液中的核酸酶降解。因此,可以通过检测外泌体中特定非编码RNA的含量来进行疾病诊断,这也使其有可能成为被广泛用于疾病诊断的新型生物标志物<sup>[64]</sup>。Wang等<sup>[62]</sup>研究发现,PCOS血清外泌体中miR-27a-3p、miR-23a和miR-483-5p表达水平上调,且这些miRNA可能参与调控PCOS患者颗粒细胞的生长及卵泡激素的合成,提示这些外泌体携带的miRNA可能作为PCOS的新型诊断标志物。Liu等<sup>[61]</sup>研究发现,miRNA-199在PCOS患者卵泡液外泌体中表达水平下调,而在PCOS患者卵泡液中则高表达,同时考虑到miRNA-199是CYP19A1(cytochrome P450 family 19 subfamily A member 1)的潜在靶标,因此,检测并深入探讨卵泡液外泌体中miRNA-199的表达和作用对于PCOS病理机制和诊疗方法的研究具有重要的意义。Wang等<sup>[63]</sup>研究发现,PCOS患者卵泡液外泌体中有多个circRNA表达异常,并验证了其中10个circRNA具有显著性差异,提示这些circRNA可能作为PCOS的新型诊断标志物和治疗靶点。

此外,外泌体作为一种天然的载体,具有稳定性高、免疫原性低、可靶向作用于特定细胞等优势。近年来,将外泌体作为一种新型的药物载体应用于靶向治疗疾病的研究受到人们的广泛关注<sup>[28,29]</sup>,其中在肿瘤、心脑血管疾病、糖尿病、神经退行性病变等重大疾病中,以外泌体为基础的疾病诊断和药物的研发都取得

了快速的进步<sup>[65]</sup>。外泌体作为非编码RNA载体靶向治疗疾病的研究也开始受到关注。Katakowski等<sup>[66]</sup>将miR-146b质粒转染进骨髓间质细胞(marrow stromal cells, MSCs),获得载有富含miR-146b的外泌体,然后将其注射至小鼠体内的多形性成角质细胞瘤处,结果发现,利用外泌体运载miRNA的治疗方法可抑制小鼠肿瘤细胞的生长。另有研究显示<sup>[67,68]</sup>,在载有miR-133b的MSCs衍生的外泌体中,发现富含miR-133b的MSCs外泌体提高了体外神经突向外生长的水平,且消除了脑卒中诱导的脑中miR-133b的下调,表明采用载有特定miRNA的外泌体治疗脑卒中可以促进脑重塑。此外,MSCs来源的外泌体可以选择性地将一种特定的miRNA(let-7c)递送至损伤的肾脏,进而上调let-7c的表达水平,减少肾纤维化<sup>[69]</sup>。目前,外泌体在PCOS发病机制及诊疗中的研究也逐步兴起,虽然已有报道一些非编码RNA参与其发病过程并可能作为PCOS的新型诊断标志物,然而相关研究尚处于初步阶段。因此,外泌体及其携带的非编码RNA作为PCOS诊疗靶点仍需进一步深入的研究和探索。

## 5 总结与展望

外泌体具有重要的生物学作用,其含有细胞特异的蛋白、脂质和核酸(包括DNA、mRNA和非编码RNA),能够作为信号分子传递给其他细胞从而改变其他细胞的功能,是细胞-细胞间信息传递的重要方式。同时,外泌体可广泛并稳定地存在于体液中,且其免疫原性低、穿透屏障能力强,因此其作为疾病的生物标志物及药物递送载体具有天然的优势。近年来,外泌体在人类生殖健康领域中的作用受到广泛关注,但人们对其作用的认知仍然非常有限。PCOS作为一种常见的生殖内分泌疾病,是育龄期妇女排卵障碍型不孕的主要病因,其发病机制仍不明确。外泌体及非编码RNA在PCOS卵泡发育异常中的作用值得进一步深入探索。虽然目前有关外泌体及其携带的非编码RNA在PCOS中的研究尚处于起步阶段,但是其在PCOS发病机制中的作用具有广阔的研究前景,随着研究的深入,将来外泌体及其携带的非编码RNA有望作为PCOS潜在的新型诊断标志物和治疗靶点。

**作者贡献:** 连一凯主要负责论文的写作和修改;周卫东作为通讯作者主要负责论文的写作指导和校审。

**利益冲突:** 本文作者们声明该论文没有涉及任何利益冲突。

## References

- [1] Azziz R. Polycystic ovary syndrome [J]. *Obstet Gynecol*, 2018, 132: 321-336.

- [2] Lizneva D, Suturina L, Walker W, et al. Criteria, prevalence, and phenotypes of polycystic ovary syndrome [J]. *Fertil Steril*, 2016, 106: 6-15.
- [3] Cooney LG, Dokras A. Beyond fertility: polycystic ovary syndrome and long-term health [J]. *Fertil Steril*, 2018, 110: 794-809.
- [4] Palomba S, de Wilde MA, Falbo A, et al. Pregnancy complications in women with polycystic ovary syndrome [J]. *Hum Reprod Update*, 2015, 21: 575-592.
- [5] Kakoly NS, Earnest A, Teede HJ, et al. The impact of obesity on the incidence of type 2 diabetes among women with polycystic ovary syndrome [J]. *Diabetes Care*, 2019, 42: 560-567.
- [6] Anagnostis P, Tarlatzis BC, Kauffman RP. Polycystic ovarian syndrome (PCOS): long-term metabolic consequences [J]. *Metabolism*, 2018, 86: 33-43.
- [7] Escobar-Morreale HF. Polycystic ovary syndrome: definition, aetiology, diagnosis and treatment [J]. *Nat Rev Endocrinol*, 2018, 14: 270-284.
- [8] Jeanes YM, Reeves S. Metabolic consequences of obesity and insulin resistance in polycystic ovary syndrome: diagnostic and methodological challenges [J]. *Nutr Res Rev*, 2017, 30: 97-105.
- [9] Villa J, Pratley RE. Adipose tissue dysfunction in polycystic ovary syndrome [J]. *Curr Diab Rep*, 2011, 11: 179-184.
- [10] Goodarzi MO, Dumesic DA, Chazenbalk G, et al. Polycystic ovary syndrome: etiology, pathogenesis and diagnosis [J]. *Nat Rev Endocrinol*, 2011, 7: 219-231.
- [11] Rosenfield RL, Ehrmann DA. The pathogenesis of polycystic ovary syndrome (PCOS): the hypothesis of PCOS as functional ovarian hyperandrogenism revisited [J]. *Endocr Rev*, 2016, 37: 467-520.
- [12] Urbanek M. The genetics of the polycystic ovary syndrome [J]. *Nat Clin Pract Endocrinol Metab*, 2007, 3: 103-111.
- [13] Merkin SS, Phy JL, Sites CK, et al. Environmental determinants of polycystic ovary syndrome [J]. *Fertil Steril*, 2016, 106: 16-24.
- [14] Jayasena CN, Franks S. The management of patients with polycystic ovary syndrome [J]. *Nat Rev Endocrinol*, 2014, 10: 624-636.
- [15] Simon C, Greening DW, Bolumar D, et al. Extracellular vesicles in human reproduction in health and disease [J]. *Endocr Rev*, 2018, 39: 292-332.
- [16] Beermann J, Piccoli MT, Viereck J, et al. Non-coding RNAs in development and disease: background, mechanisms, and therapeutic approaches [J]. *Physiol Rev*, 2016, 96: 1297-1325.
- [17] Quinn JJ, Chang HY. Unique features of long non-coding RNA biogenesis and function [J]. *Nat Rev Genet*, 2016, 17: 47-62.
- [18] Machtinger R, Laurent LC, Baccarelli AA. Extracellular vesicles: roles in gamete maturation, fertilization and embryo implantation [J]. *Hum Reprod Update*, 2016, 22: 182-193.
- [19] Kalluri R, LeBleu VS. The biology, function, and biomedical applications of exosomes [J]. *Science*, 2020, 367: eaau6977.
- [20] Yang XX, Sun C, Wang L, et al. New insight into isolation, identification techniques and medical applications of exosomes [J]. *J Control Release*, 2019, 308: 119-129.
- [21] Pegtel DM, Gould SJ. Exosomes [J]. *Annu Rev Biochem*, 2019, 88: 487-514.
- [22] Yuan D, Zhao Y, Banks WA, et al. Macrophage exosomes as natural nanocarriers for protein delivery to inflamed brain [J]. *Biomaterials*, 2017, 142: 1-12.
- [23] Zhang Y, Liu Y, Liu H, et al. Exosomes: biogenesis, biologic function and clinical potential [J]. *Cell Biosci*, 2019, 9: 19.
- [24] Sun W, Luo JD, Jiang H, et al. Tumor exosomes: a double-edged sword in cancer therapy [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2018, 39: 534-541.
- [25] Quek C, Hill AF. The role of extracellular vesicles in neurodegenerative diseases [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2017, 483: 1178-1186.
- [26] Jansen F, Nickenig G, Werner N. Extracellular vesicles in cardiovascular disease: potential applications in diagnosis, prognosis, and epidemiology [J]. *Circ Res*, 2017, 120: 1649-1657.
- [27] Akbar N, Azzimato V, Choudhury RP, et al. Extracellular vesicles in metabolic disease [J]. *Diabetologia*, 2019, 62: 2179-2187.
- [28] Zhang YY, Chen LQ, Liu X, et al. Advances in research on exosomes as drug delivery vehicles [J]. *Acta Pharm Sin (药理学报)*, 2019, 54: 1010-1016.
- [29] Haney MJ, Klyachko NL, Zhao Y, et al. Exosomes as drug delivery vehicles for Parkinson's disease therapy [J]. *J Control Release*, 2015, 207: 18-30.
- [30] Anastasiadou E, Jacob LS, Slack FJ. Non-coding RNA networks in cancer [J]. *Nat Rev Cancer*, 2018, 18: 5-18.
- [31] Esteller M. Non-coding RNAs in human disease [J]. *Nat Rev Genet*, 2011, 12: 861-874.
- [32] Fitzgerald JB, George J, Christenson LK. Non-coding RNA in ovarian development and disease [J]. *Adv Exp Med Biol*, 2016, 886: 79-93.
- [33] Sørensen AE, Wissing ML, Salö S, et al. MicroRNAs related to polycystic ovary syndrome (PCOS) [J]. *Genes (Basel)*, 2014, 5: 684-708.
- [34] Yang Q, Zhou CL, Pan JX, et al. Research advances in the roles of ncRNAs in polycystic ovary syndrome [J]. *J Shanghai Jiaotong Univ Med Sci (上海交通大学学报 (医学版))*, 2016, 36: 921-925.
- [35] Murri M, Insenser M, Fernández-Durán E, et al. Effects of polycystic ovary syndrome (PCOS), sex hormones, and obesity on circulating miRNA-21, miRNA-27b, miRNA-103, and miRNA-155 expression [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2013, 98: E1835-E1844.
- [36] Rashad NM, Ateya MA, Saraya YS, et al. Association of miRNA-320 expression level and its target gene endothelin-1 with the susceptibility and clinical features of polycystic ovary

- syndrome [J]. *J Ovarian Res*, 2019, 12: 39.
- [37] Xu B, Zhang YW, Tong XH, et al. Characterization of microRNA profile in human cumulus granulosa cells: identification of microRNAs that regulate Notch signaling and are associated with PCOS [J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2015, 404: 26-36.
- [38] Sang Q, Yao ZY, Wang H, et al. Identification of microRNAs in human follicular fluid: characterization of microRNAs that govern steroidogenesis *in vitro* and are associated with polycystic ovary syndrome *in vivo* [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2013, 98: 3068-3079.
- [39] Yin M, Wang X, Yao G, et al. Transactivation of microRNA-320 by microRNA-383 regulates granulosa cell functions by targeting E2F1 and SF-1 proteins [J]. *J Biol Chem*, 2014, 289: 18239-18257.
- [40] Yao L, Li M, Hu J, et al. MiRNA-335-5p negatively regulates granulosa cell proliferation *via* SGK3 in PCOS [J]. *Reproduction*, 2018, 156: 439-449.
- [41] Liu Z, Hao C, Song D, et al. Androgen receptor coregulator CTBP1-AS is associated with polycystic ovary syndrome in Chinese women [J]. *Reprod Sci*, 2015, 22: 829-837.
- [42] Liu Z, Hao C, Huang X, et al. Peripheral blood leukocyte expression level of lncRNA steroid receptor RNA activator (SRA) and its association with polycystic ovary syndrome: a case control study [J]. *Gynecol Endocrinol*, 2015, 31: 363-368.
- [43] Qin L, Huang CC, Yan XM, et al. Long non-coding RNA H19 is associated with polycystic ovary syndrome in Chinese women: a preliminary study [J]. *Endocr J*, 2019, 66: 587-595.
- [44] Wu G, Yang Z, Chen Y, et al. Downregulation of lnc-OC1 attenuates the pathogenesis of polycystic ovary syndrome [J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2020, 506: 110760.
- [45] Hussein MR. Apoptosis in the ovary: molecular mechanisms [J]. *Hum Reprod Update*, 2005, 11: 162-177.
- [46] Sen A, Prizant H, Light A, et al. Androgens regulate ovarian follicular development by increasing follicle stimulating hormone receptor and microRNA-125b expression [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2014, 111: 3008-3013.
- [47] Jiang L, Huang J, Li L, et al. MicroRNA-93 promotes ovarian granulosa cells proliferation through targeting CDKN1A in polycystic ovarian syndrome [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2015, 100: E729-E738.
- [48] Ding Y, He P, Li Z. MicroRNA-9119 regulates cell viability of granulosa cells in polycystic ovarian syndrome *via* mediating Dicer expression [J]. *Mol Cell Biochem*, 2020, 465: 187-197.
- [49] He T, Sun Y, Zhang Y, et al. MicroRNA-200b and microRNA-200c are up-regulated in PCOS granulosa cell and inhibit KGN cell proliferation *via* targeting PTEN [J]. *Reprod Biol Endocrinol*, 2019, 17: 68.
- [50] Liu YD, Li Y, Feng SX, et al. Long noncoding RNAs: potential regulators involved in the pathogenesis of polycystic ovary syndrome [J]. *Endocrinology*, 2017, 158: 3890-3899.
- [51] Zhao J, Xu J, Wang W, et al. Long non-coding RNA LINC-01572:28 inhibits granulosa cell growth *via* a decrease in p27 (Kip1) degradation in patients with polycystic ovary syndrome [J]. *Ebiomedicine*, 2018, 36: 526-538.
- [52] Yang R, Chen J, Wang L, et al. LncRNA BANCR participates in polycystic ovary syndrome by promoting cell apoptosis [J]. *Mol Med Rep*, 2019, 19: 1581-1586.
- [53] Ma Z, Zhao HS, Zhang Y, et al. Novel circular RNAs expression in cumulus granulosa cells of patients with polycystic ovary syndrome [J]. *J Reprod Med (生殖医学杂志)*, 2019, 28: 1219-1226.
- [54] Zhang C, Liu J, Lai M, et al. Circular RNA expression profiling of granulosa cells in women of reproductive age with polycystic ovary syndrome [J]. *Arch Gynecol Obstet*, 2019, 300: 431-440.
- [55] Roth LW, McCallie B, Alvero R, et al. Altered microRNA and gene expression in the follicular fluid of women with polycystic ovary syndrome [J]. *J Assist Reprod Genet*, 2014, 31: 355-362.
- [56] Jiao J, Shi B, Wang T, et al. Characterization of long non-coding RNA and messenger RNA profiles in follicular fluid from mature and immature ovarian follicles of healthy women and women with polycystic ovary syndrome [J]. *Hum Reprod*, 2018, 33: 1735-1748.
- [57] He X, Yu LH, Lv F, et al. Differential expression of circular RNA in follicular fluid of polycystic ovarian syndrome patients and normal control group [J]. *J Yangzhou Univ Agric Life Sci Ed (扬州大学学报 (农业与生命科学版))*, 2019, 40: 58-64.
- [58] Koiou E, Tziomalos K, Katsikis I, et al. Platelet-derived microparticles in overweight/obese women with the polycystic ovary syndrome [J]. *Gynecol Endocrinol*, 2013, 29: 250-253.
- [59] McAllister JM, Modi B, Miller BA, et al. Overexpression of a DENND1A isoform produces a polycystic ovary syndrome theca phenotype [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2014, 111: E1519-E1527.
- [60] Yang Q, Liu LX, Huang HF. Extraction and identification of exosomes in follicular fluid from patients with polycystic ovary syndrome and isolation and detection of miRNAs in exosomes [J]. *J Shanghai Jiaotong Univ Med Sci (上海交通大学学报 (医学版))*, 2017, 37: 1085-1089.
- [61] Liu KL, Hu MT, Cai LB, et al. Expressions of six miRNAs in follicular fluid of patients with polycystic ovary syndrome [J]. *J Int Reprod Health/Fam Plan (国际生殖健康/计划生育杂志)*, 2018, 37: 5-10.
- [62] Wang J, Wang Q, Cui CC, et al. Differentially expressed microRNAs in serum exosomes of PCOS patients and their functions [J]. *Shandong Med J (山东医药)*, 2019, 59: 35-38.
- [63] Wang LP, Peng XY, Lv XQ, et al. High throughput circRNAs sequencing profile of follicle fluid exosomes of polycystic ovary syndrome patients [J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234: 15537-15547.
- [64] Kourembanas S. Exosomes: vehicles of intercellular signaling, biomarkers, and vectors of cell therapy [J]. *Annu Rev Physiol*,

- 2015, 77: 13-27.
- [65] Cheng XD, Wang H, Li QW. Prospects for exosomes as diagnostic markers and drug carriers [J]. *Chin J Biochem Mol Biol* (中国生物化学与分子生物学报), 2018, 34: 1280-1285.
- [66] Katakowski M, Buller B, Zheng X, et al. Exosomes from marrow stromal cells expressing miR-146b inhibit glioma growth [J]. *Cancer Lett*, 2013, 335: 201-204.
- [67] Johnsen KB, Gudbergsson JM, Skov MN, et al. A comprehensive overview of exosomes as drug delivery vehicles - endogenous nanocarriers for targeted cancer therapy [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2014, 1846: 75-87.
- [68] Bihl J, Wang J, Ma X. Exosome and miRNA in stroke [M]. Cham: Springer International Publishing, 2018: 325-361.
- [69] Lu M, Xing H, Xun Z, et al. Exosome-based small RNA delivery: progress and prospects [J]. *Asian J Pharm Sci*, 2018, 13: 1-11.