

## 结核分枝杆菌外泌体的研究进展

王鑫洋 付英梅 赵雁林 张凤民

**【摘要】** 自 1983 年外泌体被发现,有关外泌体的研究在不断深入,其功能也不断被发现,如作为分子标记物诊断疾病的发生、影响机体免疫功能等。细菌中同样存在外泌体,其可以影响宿主的免疫,当细菌感染宿主后,宿主所产生的外泌体对宿主的免疫也起着十分重要的作用。作者对结核分枝杆菌外泌体功能的研究进行了综述,并以分枝杆菌为代表,对细菌的外泌体功能结合文献进行了阐述。

**【关键词】** 分枝杆菌; 结核; 分枝杆菌属; 外泌体; 生物学标记; 生物医学研究; 功能

**Research progress of *Mycobacterium tuberculosis* exosome** WANG Xin-yang\*, FU Ying-mei, ZHAO Yan-lin, ZHANG Feng-min. \* Department of Microbiology, School of Basic Medicine, Harbin Medical University, Harbin 150081, China

Corresponding author: ZHANG Feng-min, Email: fengminzhang@ems.hrbmu.edu.cn

**【Abstract】** Since exosomes have been discovered in 1983, research on exosomes has been deepening, and their functions have been discovered constantly, such as diagnosing the occurrence of diseases as molecular markers and affecting the body's immune function. Exosomes also exist in bacteria, which can affect the host immunity. When bacteria infect the host, the exosomes produced by the host also play a very important role in the host immunity. The function of exosomes of *Mycobacterium tuberculosis* is reviewed. In addition, the function of bacteria exosomes, represented by mycobacterium, is described.

**【Key words】** *Mycobacterium tuberculosis*; Mycobacterium; Exosomes; Biological markers; Biomedical research; Functions

自外泌体被发现,其包含的核苷酸和蛋白质可以作为分子标记物来诊断肿瘤的发生,同时也会对宿主免疫方面产生影响。当今,结核病是危害人类的重大疾病,是由结核分枝杆菌感染所引起的慢性传染性疾病。结核分枝杆菌产生的外泌体能够对宿主免疫产生影响,当结核分枝杆菌感染宿主后,宿主所产生的外泌体也能够造成宿主的免疫学改变。当然,在非结核分枝杆菌中也存在外泌体,也会反映宿主免疫方面的变化。因此,对结核分枝杆菌与非结核分枝杆菌外泌体的研究能够区分结核分枝杆菌与非结核分枝杆菌,并促进结核病的诊断与治疗的发展,为临床诊断与治疗提供新思路。

### 外泌体简介

#### 一、外泌体定义

1983 年,Harding 等<sup>[1]</sup>发现,非溶酶体的多泡内含体由于内吞作用富集了大量的标志性转运蛋白,随后与质膜融合

并且通过胞吐作用释放出内含于囊泡的结构。之后,Pan 和 Johnstone<sup>[2]</sup>用外泌体来命名多泡体释放出的囊泡状结构。

外泌体是由细胞分泌的直径在 30~100 nm 之间的微小囊泡状结构,内含来源于细胞相关的蛋白质与核苷酸等生物分子。外泌体可由几乎所有类型的细胞分泌,并且在组织细胞生理和病理情况下皆可持续分泌,存在于多种体液当中。

#### 二、外泌体提取与检测

##### (一)外泌体提取方法

外泌体的提取主要包括以下几种方式:(1)超速离心法。此种方法得到的外泌体量多,纯度不足,易聚集成块;同时此法提出的是微泡,不是外泌体。(2)过滤离心法。这种操作简单、省时,同样存在纯度不足的问题。(3)密度梯度离心法。此方法得到的外泌体纯度高,但是前期准备工作繁杂、耗时、量少。(4)免疫磁珠法。这种方法可以保证外泌体形态的完整,特异性高、操作简单、不需要昂贵的仪器设备,但外泌体生物活性可能受到影响,影响下一步的实验。(5)PS 亲和法。该方法与免疫磁珠法相似,获得的外泌体形态完整,纯度最高,且不影响外泌体的生物活性。(6)色谱法。这种方法分离到的外泌体在电镜下大小均一,但设备要求高,应用不广泛。

##### (二)外泌体检测

检测外泌体的主要方法为电子显微镜、流式细胞技术、蛋白质免疫印迹(western blot, WB)、动态光散射、酶联免疫

doi:10.3969/j.issn.1000-6621.2018.10.018

基金项目:“十三五”国家科技重大专项(2017ZX10201301003)

作者单位:150081 哈尔滨医科大学基础医学院微生物学教研室(王鑫洋、付英梅、张凤民);中国疾病预防控制中心结核病预防控制中心 国家结核病参比实验室(赵雁林)

通信作者:张凤民,Email: fengminzhang@ems.hrbmu.edu.cn

吸附试验(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)等<sup>[3]</sup>。

近年来出现很多新型的检测外泌体方法,如利用具有优良水溶性的单壁碳纳米管(s-SWCNTs)和核酸适体来检测外泌体<sup>[4]</sup>、表面等离子体共振成像(SPRi)技术<sup>[5]</sup>、通过表面增强拉曼散射光谱(surface-enhanced Raman scattering, SERS)信号快速检测外泌体<sup>[6]</sup>等。

三、外泌体功能

研究者首次发现外泌体后,认为是细胞利用其排泄废物的一种方式。随着研究的深入,发现外泌体具有多种多样的功能。

(一)作为诊断生物标记物

外泌体上的 CD81 蛋白在诊断丙型肝炎和针对丙型肝炎的治疗方面有一定的生物标记作用<sup>[7]</sup>;在卵巢癌患者的卵巢和来源于卵巢癌患者血清分离的外泌体中,作为诊断标记的几种 miRNA 在健康对照组中并没有被发现,这说明外泌体 miRNA 可以作为癌症病理诊断的生物标记物<sup>[8]</sup>。

(二)作为载体介导细胞间的信息传递<sup>[9]</sup>

外泌体在发挥信息传递作用时主要通过以下 4 种方式:(1)利用配体-受体介导的方式刺激受体细胞,进而传递信息;(2)在细胞间转移受体;(3)将功能蛋白或传染性颗粒转移到受体细胞内;(4)利用膜融合的方式向受体细胞传递遗传信息。

(三)促进肿瘤细胞凋亡

从胰腺肿瘤患者分离的肿瘤细胞外泌体可上调肿瘤细胞 Bcl-2 相关 X 蛋白基因(Bcl-2 associated X protein, Bax)的表达水平,进而促进肿瘤细胞凋亡<sup>[10]</sup>,而在晚期肿瘤患者分离的肿瘤细胞外泌体会促进肿瘤的发生发展<sup>[11]</sup>。

(四)参与机体的免疫应答

与对照外膜囊泡(OMVs)接种动物的脾细胞相比,小鼠接种寨卡病毒(ZIKV)-OMV 疫苗后脾细胞的白细胞介素(IL)-2、IL-4 和转化生长因子-β(TGF-β)的表达水平更高,说明 ZIKV-OMV 疫苗接种后产生了免疫应答<sup>[12]</sup>。

(五)对疾病的治疗作用

在糖尿病肾病大鼠模型中,连续尾静脉注射人尿液来源的外泌体,其尿白蛋白水平明显降低<sup>[13]</sup>。

细菌外泌体

外膜囊泡的特性使得其能够介导 DNA 片段(自溶素、细胞毒素、毒力因子和各种其他生物分子)的转移。OMVs 已被确认在获取营养物质、应激反应、毒素、黏附宿主、毒力因子传递中的作用,以逃避宿主防御系统的攻击(图 1)<sup>[14]</sup>。

一、OMVs 在细菌生理学及致病中的作用

OMVs 通过多种途径促进细菌存活,并且能够通过不同的机制增加细菌的致病性。例如,可以在应激条件下从细菌细胞去除有毒化合物(错误折叠的蛋白质等);应激条件也可以增加 OMVs 的产量;致病革兰阴性菌在感染期间利用 OMVs 与宿主细胞相互作用;OMVs 可以穿过肠道中的黏液屏障并到达肠上皮细胞,将细菌抗原递送至潜在的巨噬细胞,从而引发肠道炎症等<sup>[15]</sup>。

二、细菌外泌体对宿主免疫的影响

现已有证据证明,当细菌感染宿主后,细菌 OMVs 会影响宿主免疫。例如,使用产肠毒素性大肠埃希菌(ETEC)分泌的 OMVs 免疫小鼠与对照组相比,死亡时间延后,当用低浓度的 ETEC 对小鼠进行感染时,使用 ETEC 分泌 OMVs 免疫小鼠与对照组相比,存活率提高<sup>[16]</sup>;使用牙龈卟啉单胞菌的 OMVs 感染单核巨噬细胞(THP-1 细胞),THP-1 细胞中肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor-α, TNF-α),IL-8, IL-1β 的表达随着牙龈卟啉单胞菌 OMVs 的浓度增加而减少,IL-10 的表达随着牙龈卟啉单胞菌 OMVs 的浓度增加而增加<sup>[17]</sup>。综上,细菌 OMVs 能够通过不同的途径引起宿主免疫学的改变。

分枝杆菌与外泌体

分枝杆菌包括结核分枝杆菌与非结核分枝杆菌,均能够

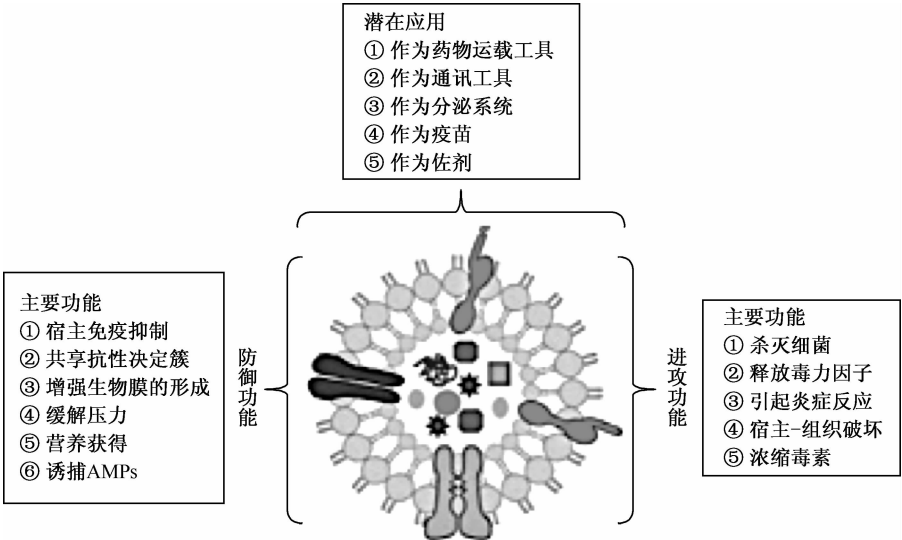


图 1 细菌 OMVs 的功能(原图见文献<sup>[14]</sup>)

分泌外泌体,并且能够诱导宿主免疫。分枝杆菌感染宿主后,宿主产生的外泌体包含有分枝杆菌的组分,同时也能够诱导未感染的细胞产生免疫应答<sup>[18]</sup>。

### 一、结核分枝杆菌与外泌体

结核分枝杆菌能够引起结核病的发生,其为细长带弯曲的杆菌,抗酸染色后,镜下观察下为红色,且无芽孢和鞭毛。结核分枝杆菌属于专性需氧菌,最适生长温度为 37℃,在一般培养基中每 18~24 h 分裂一代,但营养充足时 5 h 即可分裂一代。在实验室,采用结核菌素试验和  $\gamma$  干扰素释放试验等方法对结核分枝杆菌的感染进行检测。

结核分枝杆菌能够分泌外泌体,并能对宿主的免疫产生影响。分枝杆菌胞外囊泡(MEV)在 10 年前首次被观察到<sup>[19]</sup>,其释放是结核分枝杆菌调节宿主免疫反应的一个重要的机制<sup>[20]</sup>。当然,当结核分枝杆菌感染宿主后,宿主产生的外泌体同样能够产生免疫学影响。

#### (一) 结核分枝杆菌外泌体对宿主免疫的影响

结核分枝杆菌的微囊泡(microvesicles, MVs)能抑制巨噬细胞和 T 细胞的功能,但可促进树突状细胞的主要组织相容性复合体(MHC) II 类抗原呈递<sup>[21]</sup>;现也有研究表明,结核分枝杆菌的膜囊泡可以促进巨噬细胞中细胞因子 TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-1 $\beta$  的表达,但不影响 IL-10 的表达<sup>[22]</sup>;在 BCG 蛋白脂质体(PLBCG)和 BCG 免疫的小鼠中, IgG 的表达水平接近,但均高于未处理组,同时 PLBCG 免疫的小鼠相对于未处理组可显示更高的交叉免疫性,表明 PLBCG 中存在其他相关的 MTB 抗原,其可能参与诱导针对结核病的交叉保护性免疫<sup>[23]</sup>;结核分枝杆菌细胞外囊泡(EVs)能够诱导人巨噬细胞产生促炎症细胞因子及共刺激分子的表达,其诱导巨噬细胞产生的肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)- $\alpha$ , IL-6 和 IL-10 表达高, TGF- $\beta$  表达低,但无法诱导 IL-1 $\beta$  表达。结核分枝杆菌 EV 诱导巨噬细胞上共刺激分子 CD86 的表达最高,也会明显增加 CD80 的表达<sup>[24]</sup>;用 H37Rv 膜囊泡免疫小鼠引起辅助性 T 淋巴细胞 1(Th1) 应答强于并优于用 BCG 膜囊泡或 BCG 免疫引起的 Th1 应答<sup>[25]</sup>等,都显示出结核分枝杆菌的外泌体能够诱导宿主产生免疫功能改变。

#### (二) 结核分枝杆菌感染宿主后,宿主产生的外泌体对免疫功能的影响

用表达红色荧光蛋白(DsRed)或 Ag85A-DsRed 的牛分枝杆菌菌株鼻内感染 Rab27a 缺陷型小鼠, Rab27a 缺陷型小鼠中分离的外泌体中 Ag85A-DsRed 的丰度比野生型低 5 倍,且在 DsRed 刺激后产生 IFN- $\gamma$  的 T 淋巴细胞数量明显减少,可见宿主来源的外泌体可以在牛分枝杆菌感染期间促进抗原特异性 T 淋巴细胞应答<sup>[26]</sup>;将 BCG 感染或未感染的 J774 细胞的外泌体与从 BCG 感染的小鼠分离的脾细胞一起培养,来自感染细胞的外泌体能够诱导 CD8<sup>+</sup> 和 CD4<sup>+</sup> T 淋巴细胞中 IFN- $\gamma$  的表达,而未感染细胞的外泌体未能诱导 IFN- $\gamma$  表达<sup>[27]</sup>;用结核分枝杆菌感染的巨噬细胞的 EVs 刺激内皮细胞时,总共 37 个通路被发现显著上调<sup>[28]</sup>;相对分

子质量为 19 000 的脂蛋白存在于结核分枝杆菌感染的巨噬细胞外泌体上,并至少部分负责外泌体促炎的活性<sup>[29]</sup>;用 BCG 感染从人外周血中提取的单核细胞,诱导产生巨噬细胞,并提取外泌体,进行 RNA 测序,发现有与免疫相关的基因<sup>[30]</sup>。

#### (三) 结核分枝杆菌外泌体在疾病诊断方面的作用

在结核分枝杆菌外泌体中检测到 287 个囊泡蛋白,其中有几种与细菌的毒力有关<sup>[31]</sup>。目前,有研究表明在结核病患者的外泌体中,存在有可以作为区分活动性肺结核和潜伏感染的生物标志物的蛋白多肽<sup>[32]</sup>;通过对外泌体 RNA 进行测序,为潜伏性和活动性结核病的诊断提供了潜在的生物标志物<sup>[33]</sup>。

#### (四) 结核分枝杆菌外泌体在疾病治疗方面的作用

用 BCG-带有明矾佐剂的 BCG 蛋白脂质体(PLBCG-Al)和 BCG+PLBCG-Al 免疫小鼠,2 个月后进行感染刺激,发现 3 个组的细菌负荷均低于对照组,且 BCG+PLBCG-Al 组细菌负荷最低,同时肺表面积最小<sup>[34]</sup>;用结核分枝杆菌感染巨噬细胞 2 h,然后用 EV-聚甲基丙烯酸钠(PMA), EV-N-甲酰-L-甲硫氨酸-L-亮氨酸-L-苯丙氨酸三肽(fMLP)和结核分枝杆菌 EV 刺激 24 和 48 h,并进行菌落形成单位(CFU)测定,发现结核分枝杆菌 EV 刺激诱导后,细胞内结核分枝杆菌的数量明显减少<sup>[20]</sup>;也有研究证明 H37Rv 膜囊泡给予加强的 BCG 疫苗能够减少结核分枝杆菌感染小鼠脾及肺中的细菌数量<sup>[21]</sup>;

#### (五) 结核分枝杆菌外泌体其他功能

结核分枝杆菌外泌体不光与免疫有关,在其他方面也发挥着作用。例如,结核分枝杆菌外泌体能够释放分枝菌素,从而促进结核分枝杆菌对铁的吸收能力,促进结核分枝杆菌在宿主的扩散生长<sup>[35]</sup>;于肺炎、肺结核和肺癌的患者体内获得胸腔积液,并从中获取其外泌体的 miRNA 进行高通量序列,发现 3 个组患者体内的 miRNA 表达不同<sup>[36-39]</sup>;相对于未处理的内皮细胞,结核分枝杆菌感染巨噬细胞 EVs 刺激的内皮细胞中有 96 个基因表达超过 2 倍或更多倍,相对于结核分枝杆菌未感染巨噬细胞 EVs 者,结核分枝杆菌感染巨噬细胞 EVs 刺激的内皮细胞中有 75 个基因的表达水平超过 2 倍<sup>[21]</sup>。由此推断当结核分枝杆菌感染宿主后,宿主产生外泌体内 miRNA 的释放会对机体产生影响。

### 二、非结核分枝杆菌与外泌体

非结核分枝杆菌是指结核分枝杆菌复合群与麻风分枝杆菌以外的分枝杆菌,包括鸟分枝杆菌、耻垢分枝杆菌、海分枝杆菌、龟分枝杆菌,等等。此处以鸟分枝杆菌为例介绍其与外泌体的关系。

鸟分枝杆菌感染的巨噬细胞外泌体中,包含鸟分枝杆菌来源的蛋白质,并且这些外泌体中能够诱导巨噬细胞促炎症细胞因子的产生,即鸟分枝杆菌感染的巨噬细胞外泌体可以产生类似于鸟分枝杆菌感染的免疫应答,但不同于鸟分枝杆菌感染,鸟分枝杆菌感染的巨噬细胞外泌体对细胞凋亡和坏死没有明显影响<sup>[40]</sup>;分析鸟分枝杆菌感染与未感染的巨噬

表 1 MALDI-TOF/TOF MS 鉴定出的鸟分枝杆菌感染与未感染的巨噬细胞外泌体中差异表达蛋白质<sup>[41]</sup>

| 编号     | 蛋白名称                             | 理论 Mw/pI  | 观察 Mw/pI   | 序列覆盖 (%) | 相配多肽 (个) | 得分  | 倍数变化 |
|--------|----------------------------------|-----------|------------|----------|----------|-----|------|
| P60709 | 肌动蛋白,细胞质 1                       | 42.0/5.29 | 40.7/5.13  | 24       | 7        | 100 | 1.78 |
| P60709 | 肌动蛋白,细胞质 1                       | 42.0/5.29 | 40.6/5.10  | 22       | 8        | 100 | 2.31 |
| P62873 | 鸟嘌呤核苷酸结合蛋白 G (I)/G(S)/G(T)亚基 β-1 | 38.1/5.60 | 36.8/5.70  | 8        | 2        | 56  | 1.97 |
| P23528 | 钴纤维蛋白-1                          | 18.7/8.22 | 12.01/8.66 | 34       | 5        | 167 | 1.92 |
| P62937 | 肽基脯氨酰顺反异构酶 A                     | 18.2/7.68 | 11.53/8.31 | 50       | 10       | 136 | 2.13 |

注 Mw:蛋白质分子量;pI:蛋白质等电点

细胞外泌体中的蛋白质,得到 12 种差异表达的蛋白,其中 4 种在鸟分枝杆菌感染的巨噬细胞外泌体中表达升高,后通过 MALDI-TOF/TOF MS 鉴定出 5 种差异表达的蛋白(表 1)<sup>[41]</sup>。

小结与展望

现在对外泌体已经有了较为深入的研究,比如影响宿主免疫和作为诊断标记物来诊断疾病等。同时,结核分枝杆菌的外泌体功能也已经得到研究,例如作为疫苗预防疾病,改善宿主免疫等。有研究表明,结核分枝杆菌感染的巨噬细胞释放的 EVs 包含宿主外泌体的标志物和结核分枝杆菌所包含的分子,如脂多糖、脂蛋白等;但是,其对宿主的免疫学影响是由 EVs 中所包含的结核分枝杆菌细菌膜囊泡所引起,而不是细胞产生的外泌体<sup>[42]</sup>。结核分枝杆菌分泌的外泌体中能够引起宿主免疫学改变的组分现在仍然是未知的,需要做进一步深入的研究。现有研究表明外泌体既能够促进宿主免疫的产生,又能促进结核分枝杆菌在宿主体内的扩散生长,需进一步研究其不同的机制。

外泌体中还包含着 RNA、DNA、蛋白、脂质等组分,并存在差异表达,已有研究利用其作为诊断标记物。现有研究表明,在结核分枝杆菌感染宿主分泌的外泌体中,也存在差异表达的蛋白质与 RNA,也能作为结核病的诊断标记物。

随着研究的不断深入,利用外泌体对结核分枝杆菌进行鉴定及对结核病的发生进行诊断,能够为结核病的临床诊断与治疗提供新思路。非结核分枝杆菌的外泌体现在也得到了研究,通过对其的不断深入研究,可以利用外泌体组分的不同对结核分枝杆菌与非结核分枝杆菌进行鉴定,并可以用于区分结核分枝杆菌感染与非结核分枝杆菌感染,为临床诊断与区分结核分枝杆菌与非结核分枝杆菌感染提供新思路。

参 考 文 献

[1] Harding C, Heuser J, Stahl P. Receptor-mediated endocytosis of transferrin and recycling of the transferrin receptor in rat reticulocytes. *J Cell Biol*, 1983, 97(2):329-339.

[2] Pan BT, Johnstone RM. Fate of the transferrin receptor during maturation of sheep reticulocytes in vitro: selective externalization of the receptor. *Cell*, 1983, 33(3): 967-978.

[3] 杜雪, 郝梦哲, 王昶, 等. 骨髓间充质干细胞来源外泌体与血液病诊断. *临床医药文献电子杂志*, 2017, 4(22):4352-4353.

[4] Xia Y, Liu M, Wang L, et al. A visible and colorimetric apta-sensor based on DNA-capped single-walled carbon nanotubes for detection of exosomes. *Biosens Bioelectron*, 2017, 92: 8-15.

[5] Zhou YG, Mohamadi RM, Poudineh M, et al. Interrogating Circulating Microsomes and Exosomes Using Metal Nanoparticles. *Small*, 2016, 12(6):727-732.

[6] 东南大学. 一种通过 SERS 信号快速检测外泌体的方法: 中国, CN201510955007.3[P/OL]. (2016-06-01)[2018-08-16]. [http://www.wanfangdata.com.cn/details/detail.do?\\_type=patent&id=CN201510955007.3](http://www.wanfangdata.com.cn/details/detail.do?_type=patent&id=CN201510955007.3).

[7] Welker MW, Reichert D, Susser S, et al. Soluble serum CD81 is elevated in patients with chronic hepatitis C and correlates with alanine aminotransferase serum activity. *PLoS One*, 2012, 7(2): e30796.

[8] Taylor DD, Gercel-Taylor C. MicroRNA signatures of tumor-derived exosomes as diagnostic biomarkers of ovarian cancer. *Gynecol Oncol*, 2008, 110(1):13-21.

[9] 徐孝东, 刘志红. 外泌体的生物学功能及其研究方法. *肾脏病与透析肾移植杂志*, 2017, 26(2):159-163.

[10] Ristorcelli E, Beraud E, Mathieu S, et al. Essential role of Notch signaling in apoptosis of human pancreatic tumoral cells mediated by exosomal nanoparticles. *Int J Cancer*, 2009, 125(5): 1016-1026.

[11] Andreola G, Rivoltini L, Castelli C, et al. Induction of lymphocyte apoptosis by tumor cell secretion of FasL-bearing microvesicles. *J Exp Med*, 2002, 195(10): 1303-1316.

[12] Martins P, Machado D, Theizen TH, et al. Outer Membrane Vesicles from Neisseria Meningitidis (Proteosome) Used for Nanostructured Zika Virus Vaccine Production. *Sci Rep*, 2018, 8(1):8290.

[13] Burger D, Vinas JL, Akbari S, et al. Human endothelial colony-forming cells protect against acute kidney injury: role of exosomes. *Am J Pathol*, 2015, 185(8): 2309-2323.

[14] Jan AT. Outer Membrane Vesicles (OMVs) of Gram-negative Bacteria: A Perspective Update. *Front Microbiol*, 2017, 8:1053.

[15] Schwechheimer C, Kuehn MJ. Outer-membrane vesicles from Gram-negative bacteria: biogenesis and functions. *Nat Rev Microbiol*, 2015, 13(10):605-619.

[16] Beikzadeh B, Nikbakht Brujeni G. Protection against neonatal enteric colibacillosis employing E. Coli-derived outer membrane vesicles in formulation and without vitamin D3. *BMC Res Notes*, 2018, 11(1):302.

[17] Cecil JD, O'Brien-Simpson NM, Lenzo JC, et al. Outer Membrane Vesicles Prime and Activate Macrophage Inflammasomes and Cytokine Secretion *In Vitro* and *In Vivo*. *Front Immunol*, 2017, 8:1017.

[18] Schorey JS, Bhatnagar S. Exosome function: from tumor immunology to pathogen biology. *Traffic*, 2010, 9(6):871-881.

- [19] Marsollier L, Brodin P, Jackson M, et al. Impact of *Mycobacterium ulcerans* biofilm on transmissibility to ecological niches and buruli ulcer pathogenesis. *PLoS Pathog*, 2007, 3(5):e62.
- [20] Athman JJ, Sande OJ, Groft SG, et al. *Mycobacterium tuberculosis* Membrane Vesicles Inhibit T Cell Activation. *J Immunol*, 2017, 198(5):2028-2037.
- [21] Jurkoshek KS, Wang Y, Athman JJ, et al. Interspecies Communication between Pathogens and Immune Cells via Bacterial Membrane Vesicles. *Front Cell Dev Biol*, 2016, 4:125.
- [22] 吕翎娜, 贾红彦, 廖莎, 等. 结核分枝杆菌膜囊泡的分离及其对细胞因子释放的作用. *中国防痨杂志*, 2017, 39(8):799-804.
- [23] Reyes F, Tirado Y, Puig A, et al. Immunogenicity and cross-reactivity against *Mycobacterium tuberculosis* of proteoliposomes derived from *Mycobacterium bovis* BCG. *BMC Immunol*, 2013, 14 Suppl 1:S7.
- [24] Alvarez-Jiménez VD, Leyva-Paredes K, García-Martínez M, et al. Extracellular Vesicles Released from *Mycobacterium tuberculosis*-Infected Neutrophils Promote Macrophage Autophagy and Decrease Intracellular Mycobacterial Survival. *Front Immunol*, 2018, 9:272.
- [25] Prados-Rosales R, Carreño LJ, Batista-Gonzalez A, et al. Mycobacterial membrane vesicles administered systemically in mice induce a protective immune response to surface compartments of *Mycobacterium tuberculosis*. *MBio*, 2014, 5(5):e01921-14.
- [26] Smith VL, Cheng Y, Bryant BR, et al. Exosomes function in antigen presentation during an in vivo *Mycobacterium tuberculosis* infection. *Sci Rep*, 2017, 7:43578.
- [27] Giri PK, Schorey JS. Exosomes derived from *M. Bovis* BCG infected macrophages activate antigen-specific CD4<sup>+</sup> and CD8<sup>+</sup> T cells in vitro and in vivo. *PLoS One*, 2008, 3(6): e2461.
- [28] Li L, Cheng Y, Emrich S, et al. Activation of endothelial cells by extracellular vesicles derived from *Mycobacterium tuberculosis* infected macrophages or mice. *PLoS One*, 2018, 13(5):e0198337.
- [29] Schorey JS, Bhatnagar S. Exosome function: from tumor immunology to pathogen biology. *Traffic*, 2010, 9(6):871-881.
- [30] Mortaz E, Alipoor SD, Tabarsi P, et al. The analysis of exosomal micro-RNAs in peripheral blood mononuclear cell-derived macrophages after infection with bacillus Calmette-Guérin by RNA sequencing. *Int J Mycobacteriol*, 2016, 5 Suppl 1: S184-185.
- [31] Lee J, Kim SH, Choi DS, et al. Proteomic analysis of extracellular vesicles derived from *Mycobacterium tuberculosis*. *Proteomics*, 2015, 15(19):3331-3337.
- [32] Kruh-Garcia NA, Wolfe LM, Chaisson LH, et al. Detection of *Mycobacterium tuberculosis* peptides in the exosomes of patients with active and latent *M. tuberculosis* infection using MRM-MS. *PLoS One*, 2014, 9(7):e103811.
- [33] Lv L, Li C, Zhang X, et al. RNA Profiling Analysis of the Serum Exosomes Derived from Patients with Active and Latent *Mycobacterium tuberculosis* Infection. *Front Microbiol*, 2017, 8: 1051.
- [34] Tirado Y, Puig A, Alvarez N, et al. Protective capacity of proteoliposomes from *Mycobacterium bovis* BCG in a mouse model of tuberculosis. *Hum Vaccin Immunother*, 2015, 11(3):657-661.
- [35] Prados-Rosales R, Weinrick BC, Piqué DG, et al. Role for *Mycobacterium tuberculosis* membrane vesicles in iron acquisition. *J Bacteriol*, 2014, 196(6): 1250-1256.
- [36] Lin J, Wang Y, Zou YQ, et al. Differential miRNA expression in pleural effusions derived from extracellular vesicles of patients with lung cancer, pulmonary tuberculosis, or pneumonia. *Tumor Biol*, 2016. [Epub ahead of print].
- [37] Pellatt DF, Stevens JR, Wolff RK, et al. Expression Profiles of miRNA Subsets Distinguish Human Colorectal Carcinoma and Normal Colonic Mucosa. *Clin Transl Gastroenterol*, 2016, 7:e152.
- [38] Jang SJ, Choi IS, Park G, et al. MicroRNA-205-5p is upregulated in myelodysplastic syndromes and induces cell proliferation via PTEN suppression. *Leuk Res*, 2016, 47:172-177.
- [39] Sun G, Cao Y, Wang P, et al. miR-200b-3p in plasma is a potential diagnostic biomarker in oral squamous cell carcinoma. *Biomarkers*, 2018, 23(2): 137-141.
- [40] Wang J, Yao Y, Xiong J, et al. Evaluation of the inflammatory response in macrophages stimulated with exosomes secreted by *Mycobacterium avium*-infected macrophages. *Biomed Res Int*, 2015, 2015:658421.
- [41] Wang JJ, Chen C, Xie PF, et al. Proteomic analysis and immune properties of exosomes released by macrophages infected with *Mycobacterium avium*. *Microbes Infect*, 2014, 16(4): 283-291.
- [42] Athman JJ, Wang Y, McDonald DJ, et al. Bacterial Membrane Vesicles Mediate the Release of *Mycobacterium tuberculosis* Lipoglycans and Lipoproteins from Infected Macrophages. *J Immunol*, 2015, 195(3):1044-1053.

(收稿日期:2018-09-10)

(本文编辑:薛爱华)